

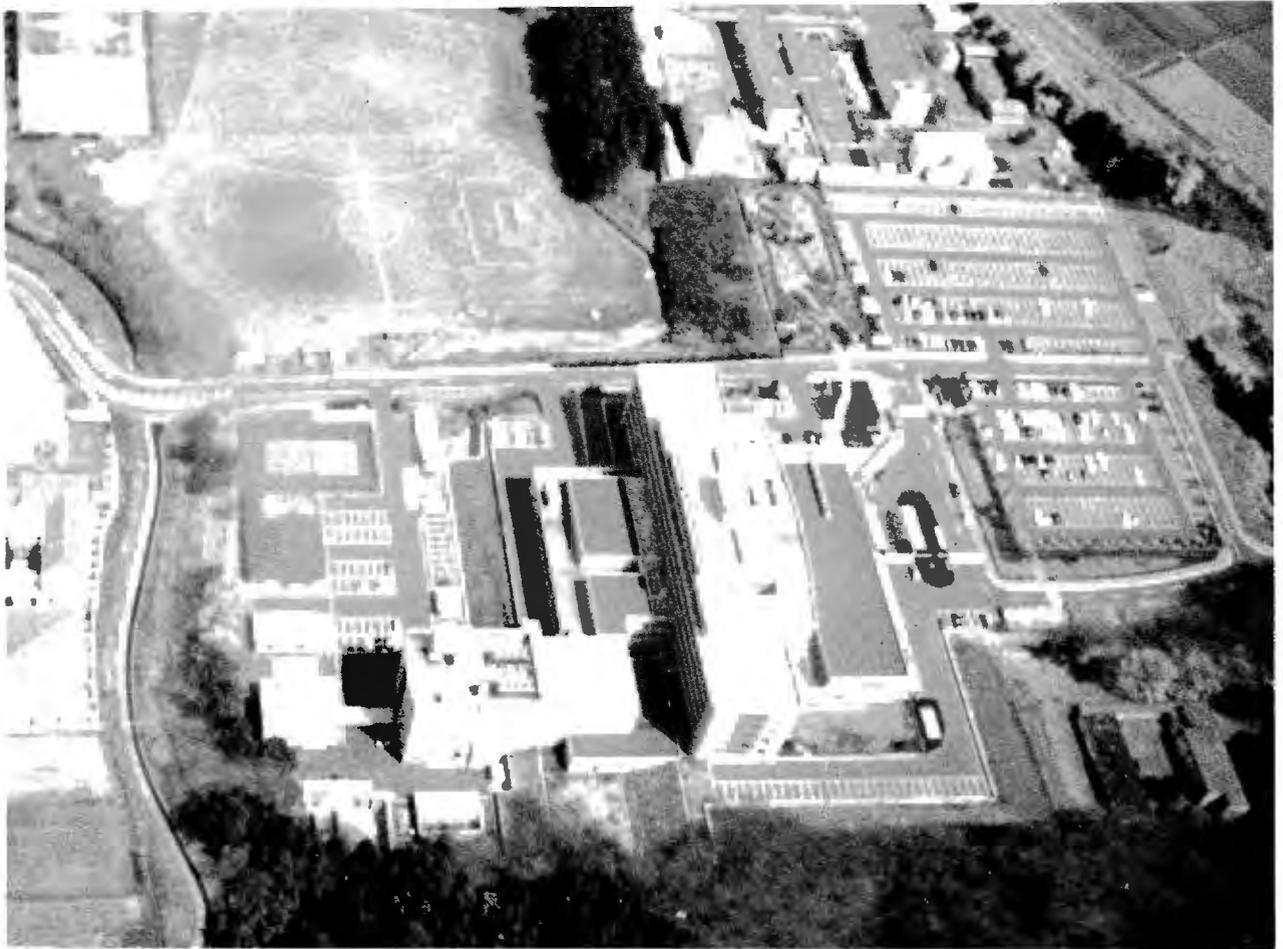
宮城県立がんセンター年報

第 4 号

(平成 8 年度)

宮城県立がんセンター





宮城県立がんセンター全景  
(海老名卓三郎 編集委員長 空撮)



## 序

宮城県立がんセンター年報第4号（平成8年度）をお届けいたします。

すでに前号までで当センターの総長が触れており、本文の「沿革」にも記されておりますが、当センターが全面的に改組・改築されて再出発したのは平成5年4月でありました。

前身の宮城県立成人病センターは開設されたのが昭和42年でしたので、約四半世紀にわたってがんを中心とした成人病の拠点病院として役割を担い、地方がんセンターとしての位置づけもなされてきたところでありました。

旧センターの老朽化が進む一方、疾病構造の変化——特に死因の第一位となった悪性新生物——などを考慮し、センターの全面改築することとし、この際がんの制圧拠点として、ソフト、ハード両面での一層の充実強化をはかることとしたものであります。

その基本的な考え方は、がんの専門的かつ高度な診療機能はもちろんですが、患者サービスの向上、QOLの尊重、研究機能の整備、教育・研修機能（特に大学、医療機関や関係団体との連携）などが挙げられました。

このような基本理念に沿っていくたびかの検討が重ねられ、前述のように現在の県立がんセンターとして再スタートしたのですが、以来4年目に入り、病院、研究所等ほとんどすべての面で解決すべき幾多の課題をかかえつつ何とか運営を続けております。

当センターの苦しみながらの運営につきましては、上に記した理念の実現に向けて忙しく立ち働くセンター職員の姿勢と努力に負うており、管理責任者として敢えて感謝の意を表したいと存じております。

病院、研究所の診療、研究に必要な人材の確保、レジデントへの開放、地域に開かれたホスピス事業の推進、地域がん登録との連携等々の課題は、県立施設として当然のこととして期待されることばかりです。行財政改革が声高に叫ばれる中ではありますが、一歩一歩ではあっても着実な歩みを続けて行かなければならないと強く感じているところです。

第4号をお届けするにあたり、各位におかれましてはなお一層のご指導、ご鞭撻の程をお願い申し上げます。

平成9年10月

宮城県立がんセンター

総長 西 郡 光 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	24
1.	研究所部長会議	24
2.	動物実験施設	24
3.	R I 研究施設	24
4.	がんセンターセミナー	25

### 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.	患者食数と食材料費	31
6.	栄養指導実施状況	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	34
1.	登録患者の市町村別分布状況	34
2.	登録患者数の状況	35
(1)	患者数	35
(2)	外来患者数	35
(3)	入院患者数	35
3.	登録患者の主要病類・性・住所地別状況	36
4.	登録患者の主要病類・性・年齢別状況	37
5.	新患者悪性新生物数	38
6.	癌登録患者部位別・男女別総数	40
7.	がん患者追跡調査年次別実測生存率表（全がん）	42
<b>研究編</b>		
第1章	学会発表	43
第2章	論文発表	53
第3章	著書	57
第4章	講演	58
第5章	論文別刷集	61
部・科	だより	271
	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9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	平成5年4月1日
病 床 数	358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、国民健康保険法による療養取扱機関、生活保護法による医療機関、結核予防法による医療機関
診療点数表	甲表採用
基準サービス	看護 新看護(2.5:1看護、10:1看護補助)、夜間勤務等加算(Ⅱ) 寝具 病衣貸与加算、療養環境加算 食事 入院時食事療養(Ⅰ)、特別管理加算
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2km、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70.6%、県北地区5.9%、県外8.9%)
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 326人 非常勤 5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
7. 6. 1	6階病棟診療開始（358床）

### 3. 施設・設備

#### (1) 土地・建物

敷地面積 69,289.72 $m^2$

建築延面積 29,413.87 $m^2$

(単位： $m^2$ )

区 分	面 積	区 分	面 積
地 下 1 階	2,921.69	3 階	2,387.42
栄養管理部門	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<sup>2</sup>)

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		
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	合 計	29,413.87

## (2) 主要備品 (取得価格1,000万円以上)

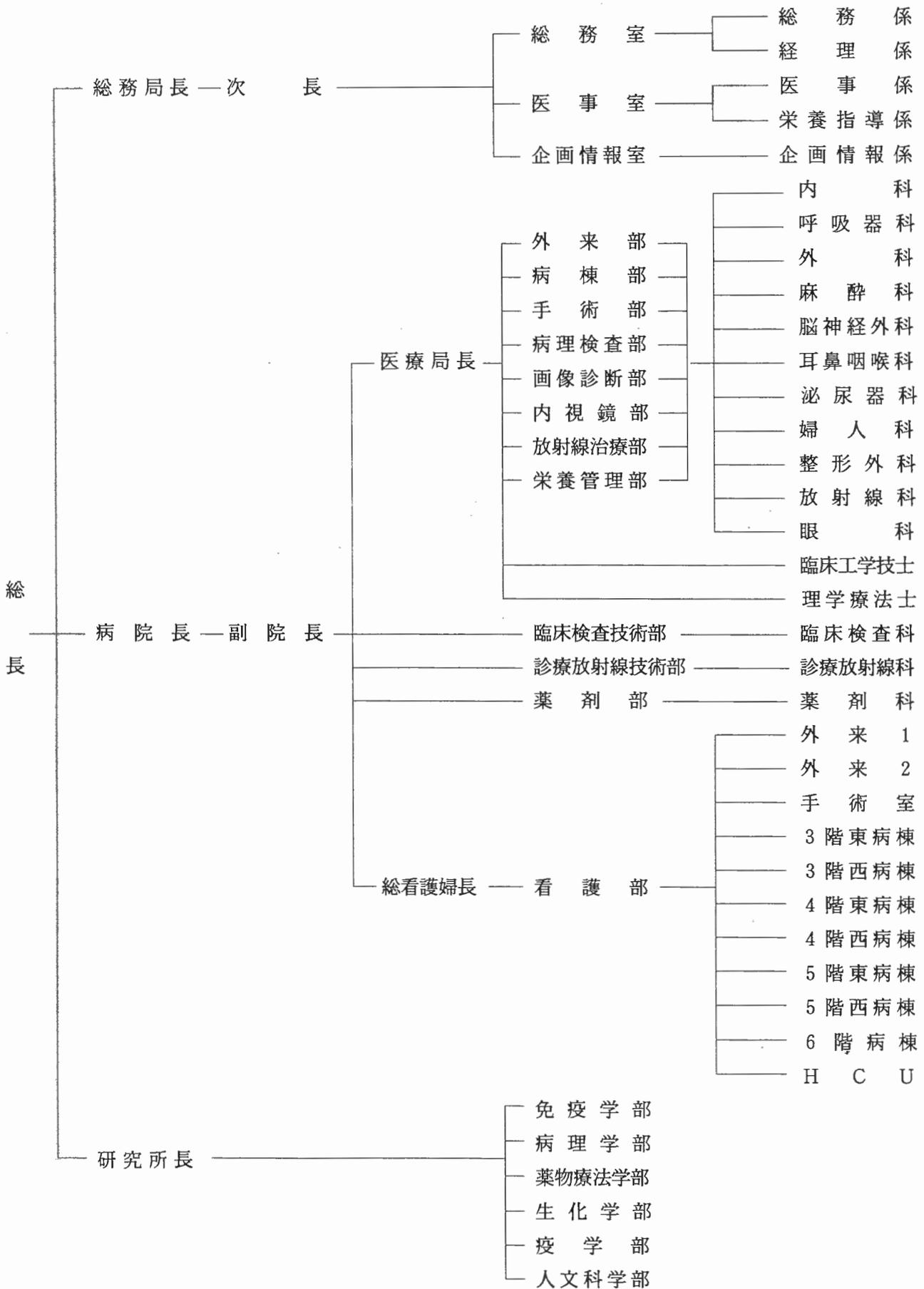
区 分	構 造	取得年月日	数量	メーカー	部 署
コンピューター断層撮影装置	SOMATOM DR-3	58. 3. 31	1	シーメンス社	診療放射線技術部
近接型 X 線 テレビ	GCS	59. 1. 31	1	東 芝	診療放射線技術部
島津胸部 X 線 装置	SHD 150G	59. 3. 21	1	島 津	診療放射線技術部
消化管検査用 X 線テレビ装置	ZS30	60. 3. 15	1	島 津	診療放射線技術部
腹部超音波診断装置	SSA-90A	60. 3. 15	1	東 芝	診療放射線技術部
患者監視装置	MG143	60. 3. 15	1	フクダ電子	病 棟
腹部血管撮影装置	KXO-2050	61. 3. 31	1	東 芝	診療放射線技術部
ジャイロ式万能 X 線テレビ装置	UG	61. 3. 31	1	東 芝	診療放射線技術部
血流イメージング超音波診断装置	SSH-65A	61. 3. 31	1	東 芝	臨床検査技術部
放射線画像処理装置	CR-201	62. 3. 31	1	東 芝	診療放射線技術部
総合呼吸機能解析システム	65	62. 3. 31	1	チェスタック	臨床検査技術部
自動血球計数器	S-PN	62. 3. 31	1	コールター	臨床検査技術部
日立血液像自動分類装置	8200型	63. 3. 25	1	日 立	臨床検査技術部
ガンマーカメラシステム	ZLCDIG TRAC型	1. 3. 7	1		診療放射線技術部
全自動免疫血清検査装置	COBASU MIRA型	1. 3. 8	1		臨床検査技術部
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		臨床検査技術部
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		臨床検査技術部
レーザープリンター	コダック	2. 3. 24	1		診療放射線技術部
医用画像ファイリングシステム	東芝	2. 3. 24	1	東 芝	診療放射線技術部
臨床検査システム	K-670	2. 3. 24	1		臨床検査技術部
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	診療放射線技術部
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	診療放射線技術部
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 II R-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	診療放射線技術部
腔内治療位置決定装置	CH50	5. 3. 10	1	島 津	診療放射線技術部
C T シ ュ ミ レ ー タ ー	GS20X SAT-20	5. 3. 10	1	島 津	診療放射線技術部
放射線治療計画装置	M2000	5. 3. 10	1	兼 松	診療放射線技術部
泌尿器X線TV装置	DHF-A-155H	5. 3. 10	1	日立メディコ	診療放射線技術部
リ ニ ア ッ ク	ML-20MDX型	5. 3. 10	1	三菱電機	診療放射線技術部
C T	ゾマトムPLUS	5. 3. 10	1	シーメンス社	診療放射線技術部
M R I	MRT-200FX/3	5. 3. 10	1	東 芝	診療放射線技術部
骨 部 撮 影 装 置	DC-50F	5. 3. 10	1	東 芝	診療放射線技術部
尿 検 査 分 類 装 置	UA-1000	5. 3. 10	1		臨床検査技術部
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		診療放射線技術部
自動化学分析装置	TBA-30FR	5. 3. 10	1	東 芝	臨床検査技術部
血清分注装置	PREP-A1	5. 3. 10	1		臨床検査技術部
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	病理検査技術室
透過型電子顕微鏡	JEM-1200EX2	5. 3. 25	1		病理検査技術室
走査型電子顕微鏡	JSM-5400LV	5. 3. 25	1		病理検査技術室
電子顕微鏡資料作成装置	ULTRACUT-S	5. 3. 25	1		病理検査技術室
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ート	5. 3. 25	1		研 究 所
画像処理装置	FCR-7000 FCR-7501	5. 3. 25	3		診療放射線技術部
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	診療放射線技術部
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	ポセイドンII	5. 3. 25	1	ア ロ カ	臨床検査技術部
ベータカウンタ	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		診療放射線技術部
二方向X線テレビ装置	DCW-15A	5. 3. 30	1		診療放射線技術部
超音波装置用ハードコピー	LI-10A	5. 3. 30	1	コ ニ カ	診療放射線技術部

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D1900-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		診療放射線技術部
放射線手術装置	KMM-1000A	5. 3. 30	1		診療放射線技術部
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		臨床検査技術部
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	臨床検査技術部
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 TV 装置	DT-UG-4	6. 3. 25	1	東芝メディカル	画像診断
術中 ICU 用超音波診断	HPSONOS1500	6. 3. 25	1	横河ヒューレット パッカーD	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	診療放射線技術部
ホルダー心電図解析装置	DMW-9000	7. 3. 27	1	フクダ電子	臨床検査技術部
画像読取装置	FCR-9501ES	7. 3. 27	1	富士写真 フィルム	診療放射線技術部
患者監視装置	DS-3500	8. 3. 25	1	フクダ電子	無 菌 室
高圧蒸留滅菌装置		8. 3. 25	1	サクラ精機	無 菌 室
がん診療施設情報ネットワークシステム		8. 3. 25	1	N E C	企画情報室
自動化学分析装置	TBA-80FR NEO	9. 3. 21	1	東芝メディカル	臨床検査技術部
血液成分分離装置	COBE SPECTRA	9. 1. 30	1	C O B E	臨床検査技術部

4. 組織・機構

(平成9年3月31日現在)





## 6. 経理状況

(1) 損益計算書 (平成8年4月1日～平成9年3月31日)

(単位：円)

科 目	金 額	科 目	金 額
医 業 費 用	7,046,787,437	医 業 収 益	4,619,101,641
給 与 費	2,891,418,503	入 院 収 益	3,390,815,763
材 料 費	1,675,126,990	外 来 収 益	1,154,470,957
経 費	1,105,110,305	そ の 他 医 業 収 益	73,814,921
減 価 償 却 費	1,287,654,464	医 業 外 収 益	2,126,829,012
資 産 減 耗 費	13,096,354	受 取 利 息 配 当	9,118,971
研 究 研 修 費	74,380,821	補 助 金	3,388,000
医 業 外 費 用	715,001,363	負 担 金 交 付 金	2,068,000,000
支 払 利 息 及 び 企 業 債 取 扱 諸 費	615,598,833	そ の 他 医 業 外 収 益	46,322,041
そ の 他 医 業 外 費 用	96,766,608	特 別 収 益	548,957
臨 床 研 修 費 用	2,635,922		
特 別 損 失	2,204,426		
特 別 損 失	2,204,426		
当 年 度 純 利 益	△ 1,017,513,616		
合 計	7,763,993,226	合 計	6,746,479,610

(2) 貸借対照表 (平成9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	17,403,457,212	固 定 負 債	550,000,000
有 形 固 定 資 産	17,403,205,712	企 業 債	0
土 地	344,566,607	他 会 計 借 入 金	550,000,000
建 物	13,031,208,899	流 動 負 債	670,306,920
構 築 物	534,435,995	一 時 借 入 金	0
器 械 備 品	3,492,833,011	未 払 金	668,399,310
車 両	161,200	そ の 他 の 流 動 負 債	1,907,610
放 射 性 同 位 元 素	0	(資本の部)	
建 設 仮 勘 定	0	資 本 金	14,304,238,594
無 形 固 定 資 産	251,500	自 己 資 本 金	601,760,021
電 話 加 入 権	251,500	借 入 資 本 金	13,702,478,573
流 動 資 産	2,673,056,800	剰 余 金	4,551,968,498
現 金 預 金	200,000	資 本 剰 余 金	10,293,079,000
未 収 金	703,386,812	国 庫 補 助 金	269,094,000
貯 蔵 品	89,050,449	他 会 計 補 助 金	762,532,000
前 払 金	0	他 会 計 負 担 金	9,261,289,000
そ の 他 の 流 動 資 産	1,880,419,539	受 贈 財 産 評 価 額	164,000
		利 益 剰 余 金	△ 5,741,110,502
資 産 合 計	20,076,514,012	負 債 ・ 資 本 合 計	20,076,514,012

## 第2章 がんセンター内活動状況

### 1. 会議及び各種委員会

平成9年3月31日現在

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	31名	〃
電 算 シ ス テ ム 管 理 委 員 会	15名	必要に応じて開催
医 学 資 料 管 理 ・ 癌 登 録 委 員 会	16名	〃
編 集 委 員 会	10名	〃
外 来 ・ 病 棟 委 員 会	25名	〃
手 術 委 員 会	11名	〃
画 像 診 断 委 員 会	10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	17名	〃
薬 事 委 員 会	13名	隔月開催
栄 養 委 員 会	16名	偶数月に1回開催
感 染 対 策 ・ 医 療 廃 棄 物 委 員 会	14名	毎月定例1回開催
防 災 対 策 委 員 会	23名	必要に応じて開催
受 託 研 究 審 査 委 員 会	10名	毎月定例1回開催
交 通 安 全 対 策 委 員 会	9名	必要に応じて開催
医 療 事 故 防 止 対 策 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	7名	〃
倫 理 審 査 委 員 会	11名	必要に応じて開催
医 療 ガ ス 安 全 対 策 委 員 会	18名	〃
組 換 え DNA 実 験 安 全 委 員 会	8名	〃
図 書 委 員 会	13名	〃
レ ジ デ ン ト 委 員 会	10名	〃

## 2. 各種委員会報告

### ◎ 電算システム管理委員会

平成5年に病院開院と同時にスタートしたオーダーリングシステムが、大きな支障もなく経過してきたが、平成8年10月23日朝始業時システムが稼動しないのに気づき、特に外来診療の場において混乱した。幸い午前9時10分に回復したが、同日緊急の委員会を開催した。原因は、ホストコンピューターのOSの不具合によるものであった。この委員会において検討した結果、システム障害時の緊急連絡法を確認すること、処方及び検体検査、画像検査、生理検査等の、障害時用の伝票を用意しておくこととした。40分間の障害であったが、かなりの混乱であった。障害時のための十分な用意があっても、混乱はあるであろうし、記載した伝票の内容を障害が回復した後で入力する手間も大変な時間と労力が必要である。大きな障害が起こらないことを祈るだけである。

国立がんセンターを中心とした多地点のカンファレンスは、毎週のメヂコンをはじめ、病理、放射線関連、看護部門など、活発に行われている。

また、院内ネットワークの構築については、小委員会が月1回開催されている。（松田 堯）

### ◎ 医学資料管理・癌登録委員会

この委員会で扱う医学資料の主なものとして、カルテとレントゲンフィルムがある。平成8年6月6日の委員会において、カルテを見やすくするために、以前に決めたカルテ綴じ込み順を守ること、医師指示用紙を黄緑系の色のついた用紙とすることを決めた。レントゲンフィルムの紛失が問題となり、その対策として借用は必ず病歴室を通して行うこと、退院時フィルムのチェックを病棟と病歴室で行うこととした。また、レントゲンフィルムの現在の保管場所がそろそろ限界に近くなり、今後の検討課題となった。

最近特に目立って気になっていることであるが、カルテに挿入される用紙の種類及び量は年々増え、外来カルテがどんどん厚くなってきている。そのため、カルテの自動管理システムのシングルピッカーに対応できないカルテが多くなってきており、近々その対策が必要に思われる。

癌登録は、病名登録システムを用いて漏れないようにしているが、まれに病名によって良悪性の区別が間違いやすいものがあり、このような病名には良悪性も付記すれば解決すると考えている。

（松田 堯）

### ◎ 編集委員会

今年度より医療局桑原正明委員長に代わって研究所の海老名が編集委員長を務めさせていただくことになり、以下の活動を行った。

#### 1. 第1回編集委員会を平成8年5月27日に開催し、以下の事を決定した。

##### 1) がんセンター年報第3号の発刊について

昨年度に準じて年報を発行する（刊行予定10月）。

##### 2) 副委員長の選出

本委員会副委員長として医療局大内清昭先生を選出した。

#### 2. 平成8年6月3日に原稿依頼状を各部門に配布

3. 第2回編集委員会を平成8年7月1日に開催し、編集進行状況について協議した。  
扉の写真についてはカラー印刷にすることを決定した。
4. 平成8年10月に年報第3号(平成7年度)300部の印刷終了した。
5. 第3回編集委員会を平成9年3月27日に開催し、以下の事を決定した。  
年報第4号の内容に関し、各部・科から「部・科だより」の形で自由に紹介記事を書いてもらうページを作ることにした。 (海老名 卓三郎)

## ◎ 外来・病棟委員会

はじめに

本がんセンターは成人病センターより移行した施設であり、外来・病棟の運営は癌診療のみを目的とした他施設と同じではない。また癌患者の内容も施設により地域的な特殊性があることも否定できない。さらには医療の内容も各診療科で日々変貌しており、旧来のシステムではいつの日か適応できなくなることが明らかである。こうしたことから、病院医療においては限られた人的、物的資源を有効に活用することに努めるとともに、診療体系そのものも時に応じて合理化が必要である。

委員会の目標

本センター設立より5年が経過し、新設5科(麻醉科、脳外科、婦人科、頭頸外科、泌尿器科)が人員不足を抱えているとはいえ、それぞれの診療実績をあげるとともに病院全体の診療体系にもいくつかの矛盾が生じてきた。そのなかの最たるものは各科ベッドの適正配分である。すなわち、本センターの総ベッド数は平成7年9月1日の時点で358床であり、これを内科120床、呼吸器科40床、外科60床、整形外科20床、脳神経外科10床、泌尿器科20床、婦人科20床、頭頸外科26床、放射線科20床、麻醉科4床、HCU6床(+2床; RI治療用)、各科共通4床、無菌室6床で配分している。この病床配分数については「各科の入院患者数とがん患者の占有率などを考慮し、平成8年3月に見直すこと」が平成7年度の本委員会での申し送り事項となっていた。しかし諸般の事情で平成8年3月での調整は行われなかったため、早急に各科ベッドの適正配分について協議することが本委員会に求められた。

結果

### 1. 平成8年度第1回委員会(7月8日開催)

各科長からの希望病床数によれば現行で可とするものは呼吸器科、放射線科、麻醉科、内科の4科で他科は病床増加希望であった。病床再配分には病棟移動が付随する可能性が指摘されたが、各科の病棟移動は現実的ではないことから病棟移動は行わないことを前提に再配分することとなった。この間、各病棟および各科の病床利用率のデータと各科長からの要望事項が示された。また、再配分については4試案(太田案、菊地案1、2、山室案)が提示され、これらを検討課題として次回委員会に持ち越しとなった。

### 2. 第2回委員会(7月30日開催)

前回提示された4試案に加えて追加提示の桑原案の5試案をもとに討議した。討議の結果、試案の採択には至らず、5試案並記で管理運営委員会に答申してその決定を待つことに決した。

本委員会の答申をもとに9月2日の管理運営委員会において、内科111床(-9床)、外科60床、呼

吸器科40床、脳外科15床（+5床）、整形外科20床、泌尿器科20床、放射線科20床、頭頸部外科26床、婦人科24床（+4床）、HCU+RI8床、特別室4床、無菌室6床、の計358床とする新配分数が決定され、10月1日に公示、施行された。

おわりに

関連部署の協力により、ともかくも当面の病床再配分の課題が達せられたが、根本的な解決には至っていない。すなわち、1) 婦人科と頭頸部外科が同一病棟で同一手術日となっているため支障が多いこと、2) 各科とも癌患者のベッド待ちが増加しているため病棟再配分だけでは根本的な解決とはならず、病院全体の病床増加が必要であること、3) 高度の癌治療を行うためには各部署とも人員不足であり、適正数の人員配置が急務であること、特に医師2人である科は早急に3人体勢としなければ十分な医療を施行できないこと、などの諸問題が解決すべき課題として残されている。（桑原正明）

## ◎ 診療報酬委員会

はじめに

企業経営は収入と支出のバランスであり、利益が出ればその一部を設備投資に回し、さらなる企業の発展を図ることが健全な企業活動というものであろう。当センターも公営企業体として支出の削減と収入増の努力が必要なことは当然のことである。

国民皆保険である本邦においては医療費は診療行為やそれに要した経費に対して厚生省が保険点数を定めており、これらの保険点数に従った請求がなされている。医療側が請求したそれらの保険点数は支払基金を通して保険者側に請求され、医療報酬として医療機関に支払われる仕組みになっている。この際、保険者は請求の妥当性について審査した上、支払うことになっているが、この審査は保険者が社会保険診療支払基金に委託した形になっている。近年、保険財政が悪化している企業の増加に伴い、支払基金の査定に対して保険者側からの異議申し立てが増えていることが指摘されている。

請求した保険点数が審査で不相当とされた場合（査定）はその分の医療費は支払われないので、査定は実質的には診療機関の収入減となる。どれほど査定されたかについての指標として査定率が利用される。これは請求した医療費の内、何%が査定されたかを示すものである。記載誤記や保険では認められていない点数請求などは、ある程度は避けられないものであるため査定0%というのは難しいが、一般には0.3%内外とされている。

委員会の目標

本センターの平成6年度の平均査定率は0.67%、平成7年度は0.64%であった。この数字は一般の査定率のおよそ2倍の数字であり、問題と言わなければならない。査定率が高いと診療内容そのものに妥当性を欠いていると誤解されかねないことから、ともかくも査定率の減少を図ることが急務と判断される。

結果

1. 平成8年度第1回委員会（6月24日開催）。査定率を当面0.5%とする努力目標を設定した。具体的な対策として1) 査定回数の多い検査に対して月ごとの努力目標を設定して改善する、2) 各科別の査定率を列記し、問題があれば院長から科長あてに注意を促すこと、が決定された。
2. 第2回委員会（9月26日）。4月～7月までの査定率平均が0.7%と高いことから、院長名で注意喚

起文書を出すことを答申し、了承された。また、査定率の高いクームス試験をコンピュータのセットメニューから削除することが答申された。また、引き続き次の努力目標を設定した。

3. 第3回委員会（11月29日）。査定においては臨床検査項目が多いことから、委員に検査部長を加えることが答申され、了承された。なお、4月～10月の平均査定率は0.69%であった。新たな努力目標（保険適応外使用薬剤のチェック）を設定した。

4. 第4回委員会（平成9年1月27日）。12月から内科検査セットメニューからクームス試験をはずした。検査依頼件数はこれまでの150件平均から60件に減少し、効果がみられたことが報告された。また、4月～12月の査定率は0.61%に改善した。

5. 第5回委員会（3月19日）。4月からの診療報酬の改訂（入院医学管理料、入院診療計画加算、手術後医学管理料、退院指導料、薬剤情報提供料、輸血料）について審議し、実行についての具体策について協議した。なお、2月の査定率は0.84%、3月は0.72%と増加したため平成8年度の平均査定率は0.66%に終わった。

おわりに

1年を通して査定率減少に努力したが、結果的には昨年同様の査定率に留まったことは、これまでご協力をいただいた関係諸兄に申し訳のない結果であり、痛恨の極みである。職員すべてが保健医療の仕組を理解し、さらなる努力をしてゆく他はないが、委員会としても査定の原因をこれまでとは別の角度から分析し、対処する必要があると思われた。次期委員会の活躍に期待したい。（桑原正明）

#### ◎ 委託業務委員会

業務の効率的な運用を期するため、病院内の業務については最大限に民間委託をしているが、その業務内容について検討するため、2回開催した。

##### 1. 平成9年1月17日

庁舎清掃等業務、入院時食事療養業務等（9業種）本庁執行分についての契約仕様について検討をした。

##### 2. 平成9年2月21日

当センター執行に係る設備保守、機械・機器保守業務の業務仕様について検討をした。

（伊東教夫）

#### ◎ 医療機器・診療材料整備委員会

平成8年度医療機器予算案作成に当たり、各診療科～部門に希望する医療機器の提出後、各診療科～部門責任者とヒヤリングを行い、機種選定を決定し、機種選定資料を作成し、医療機器選定委員会の議定を経て、発注を執行した。

宮城県立がんセンター開院当初の3年間の重点予算配分時期が終了し、年間総予算額が縮小傾向にあり、問題が大きく惹起されてきた。

従来、以前から問題であった使用期限の過ぎた高額医療機器の更新で、各部門より提出された更新を要する高額医療機器の一覧表を作成し、管理調整会議に提出して、本庁関係部署に連絡し、善処を依頼した。

特に10年以上が過ぎた医療機器も多く、早急に更新しないと現在の医療レベルの維持すらできなくなる事が懸念される。

診療材料整備—物品管理業務は前年度に検討して、コンピュータ利用のバーコード方式を採用する事が決定され、平成8年4月1日より従来の管理方式とバーコード方式を重複される施行期間を経て、平成8年8月1日からはバーコード方式の診療材料管理に移行し、適正在庫管理をする事にした。

(中野 昇)

## ◎ 薬事委員会

1. 平成8年度薬事委員会 4回(5月、8月、10月、2月)

2. 委員

委員長 中野 昇

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

- 申請医薬品の購入状況(包装変更等により切り替えた品目も含む)  
内服薬21品目、注射薬29品目、外用剤8品目、投薬外(薬価のないもの)3品目
- 削除薬品39品目(平成5年5月以来購入実績のない薬品)  
不動医薬品使用のお願いを各医師に配布(有効期限あり)
- 緊急安全性情報が出されました。(各医師に配布済)
  - \* トリルダン錠 採用品
  - \* -hMG製剤(下垂体性性腺刺激ホルモン)下記薬剤は以前にも情報が出されたものですが、使用量が多いのでご注意ください。
  - \* 高カロリー輸液投与中の重篤なアシドーシスの発現について
  - \* 小柴胡湯の投与による重篤な間質性肺炎の発現について医薬品副作用情報の発行が多くなっております。適正使用にご注意下さい。
- 麻薬関係立入り検査指導がありました。(厚生省麻薬取締官他)  
「使用量が多いので、麻薬担当者が必要である。」との指摘を受ける。
- 院外処方箋関係  
薬剤師会会営薬局は、平成8年8月1日より一時休業いたしました。  
会営薬局で取り扱っていた品目は、「なとり薬局」で扱うことになりました。  
他の応需薬局は今まで通り。
- エイズ(HIV)に関する非加熱血液製剤  
第8因子、第9因子購入なし。
- エイズ治療薬の購入は感染委員会にて決定する。
- 薬剤師法の改正(平成8年6月)に伴い、外来患者への薬剤情報提供が明文化された。  
提供用文書発行と加算の算定準備中。(オーダーリング)
- 多剤投与の自粛と倍量処方の禁止。

- ・常備医薬品集を作成し、各関係者に配布。
- ・麻薬処方箋の自動発行は予算の関係で見送られました。

入院患者に処方された薬品を返品する場合の方法等提案しましたが、今後の課題となっております。

( 莊 司 良 子 )

## ◎ 栄養委員会

### 1. 開催状況

本委員会は社会保険庁の通知により設置されなければならない委員会である。

偶数月、第3木曜日に定例的に開催された。

6回(4・6・8・10・12・2月)

### 2. 委員

委員長…中野 昇副院長

医療局…栄養管理部長、外科医、内科医、耳鼻咽喉科医

看護部…各病棟婦長(7名)、外来婦長(1名)

総務局…医事室長、管理栄養士(2名)

### 3. 主な協議事項

#### 1) 加算、非加算食の確認について

- ・医局の先生方に一覧表を渡して徹底を図る。

#### 2) 食事オーダーの入力について

- ・食事箋の病名、身長、体重の入力されていないものがあるので正確に入力をお願いしたい。特別食の加算のあるものについては特によくお願いしたい。
- ・入力時間の厳守と、時間外でも入力可能な入院、退院、外泊については時間外に入力した場合、栄養係に連絡しトラブルを少なくする。
- ・特別指示とフリーコメントの入力について

特別指示…3項目まで。項目確認をして入力する。

フリーコメント…17文字以内とし、追加等がある時は最初から入力しなおすよう徹底を図りトラブルを少なくする。

#### 3) 8年度の行事食について

- ・年間16回に季節料理4回を加え20回程度を予定している。
- お彼岸の主食おはぎは、デザート的に扱うなど反省を加えて改善していく。

#### 4) ティーサーバーのお茶について

- ・ティーサーバーにお茶の茎がつまるとの病棟からの申し出により、ティーサーバー専用のお茶に変更した。

#### 5) 病原性大腸菌等による食中毒の予防について(衛生管理の徹底)

- ・O-157による食中毒患者が仙台市内にも発生したので、更に衛生管理の徹底を図る。
- ・売店、外来患者食堂へも総務局を通して周知を図る。

- ・院内で使用している水の残留塩素の測定記録をする。
- ・「外泊なさる皆さんへ」のリーフレットを配布し、注意を促し、外からの食品の持ち込みに注意する。
- ・患者食が、日数を経て下膳されることが時々あるので、衛生管理の徹底を図る上からも次の食事が上膳された時に前の食事を下膳するように協力をお願いしたい。
- ・注射針、点滴のボトル、のう盆等が食事と一緒に下膳されることが時々あるので、十分な注意をお願いしたい。

#### 6) 集団栄養指導料の請求について

- ・平成8年4月から請求できるようになった。

入院患者対象の月2回実施している糖尿病教室受講者に対して、「入院栄養食事依頼表」に集団栄養指導のコメントを医師に記入してもらい、対応することになった。

#### 7) 無菌室開設に伴う対応について

- ・食事オーダーの入力方法について
- ・配膳車は専用とする。

(遊 佐 ひでよ)

### ◎ 感染対策・医療廃棄物委員会

はじめに

癌患者は一般に高齢者が多く、一般状態は不良なことが多い。また癌治療を積極的に施行する程、病気に対する抵抗力は低下し、感染、発症の危険性は高まる。こうしたことからがんセンターにおいては一般病院よりもさらに厳格な感染対策が必要であることは当然のことである。また医療にたずさわる職員自身も常に感染の危険にさらされており、職員を感染から守る対策も十分に実施されなければならない。とは言え、感染対策には多額の費用を要し、今日の経済原則からしても「安全のためにはいくら経費がかかっても仕方がない」という考えは成り立たない。感染対策においても費用－効率を念頭においた施策が必要である。

委員会の目標

本センターの「院内感染防止対策の手引」による院内感染対策の実施、職員に対するワクチン接種、厚生省や保健所からの各種感染症対策についての周知徹底、滅菌医療材料や院内清掃の適正化、医療廃棄物の適正処置などに加えて医療保険点数改正に伴う感染対策の対応や、院内に感染症が発生した場合の迅速、適正な処置をこうじることなど、本委員会の役割は多岐に渡る。

結果

#### 1. 第1回委員会（6月4日開催）

4月の診療報酬改正による院内感染防止対策加算について、本センターが院内感染対策の施行基準を満たす施設であることから、その規定に伴い本委員会を月1回の開催とすること、院内感染防止対策委員会規定の改正を要することが協議され、管理運営委員会に答申された。

#### 2. 第2回委員会（7月12日開催）

MRSA対策に伴い、薬剤部に第1世代、第2世代、第3世代セフェム系抗生物質、MRSA用抗生物

質使用状況の報告を依頼した。従来のMRSA発症届け用紙を赤紙とすることについて協議した。

3. 第3回委員会（9月27日開催）

「院内感染防止対策の手引」のAIDS対策に看護部門の項を加えること、本委員会に奥田先生に参加してもらったこととした。またオートクレーブの滅菌不完全事故の報告とその対処についての報告があった。

4. 第4回委員会（10月25日開催）

本センターが宮城県のエイズ拠点病院に指定されたことについて院長より経過説明。薬剤部から各病棟の第3世代セフェム系抗生物質の使用量とMRSA感染症の発生との密接な関連性が指摘された。

5. 第5回委員会（11月29日開催）

本センターにおけるエイズ診療マニュアルに基づいた実際の患者受け入れについて協議した。東北ブロック・エイズ拠点病院連絡会議の委員として桑原、奥田、山田（医事室）の3人が推薦された。

6. 第6回委員会（平成9年1月31日開催）

研究所海老名委員からクロイツフェルドヤコブ病についての説明があった。

7. 第7回委員会（2月28日開催）

院内感染防止対策の手引（1997年改訂版）が院内関係者に配布された。第3世代セフェム系抗生物質使用届けが義務づけられているが、報告書は総婦長が保管することが了承された。

おわりに

平成8年度においては問題となる院内感染症の発生や伝染はなく、また委員会が関係する事例での問題もなく無事経過したということが言える。まとめればO-157、HIV感染対策に翻奔された年度であった。委員の皆様へ深く感謝致します。最後に「院内感染防止対策の手引」の編集委員のうち、奥田先生、海老名先生の名前に誤植があったこととお詫び致します。（桑原正明）

## ◎ 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8年6月12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8年12月13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。当委員会は、その準備と評価反省を目的に3回開催し、訓練の実効をあげるため万全を期した。

（板宮 功）

## ◎ 受託研究審査委員会

受託研究審査申し込み件数は年々増加傾向にあり、今年度申し込み件数は95件で、第1相試験はなく、第2相試験又は相当試験は21件、第3相試験は10件、第4相試験は64件であった。

今年度の問題になった1つは第1相試験を審査・承認するための条件—特に患者さんへのインフォームド・コンセントの守るべき条件を委員会にて検討し、成文化し、管理調整会議にて議定された。勿論、受託研究審査委員会で審査され、委員会としての結論をセンター総長に答申して、当院倫理審査委員会にて審査される。そこでの結論に従うこととなる。

もう一つは、「治験に係わる診療の特定療養費制度」が平成8年4月1日より開始される事が決定し、第1、2、3相試験に適用される事になった。

治験薬投与期間の全ての臨床試験と画像診断、治験薬と同様の効能・効果を有する医薬品の投薬・注射の費用が企業負担とされており、それ以外は保険適用となる。

治験薬の投与期間は実際の投与開始日より投与終了日で、間歇投与にても、同じ原則である。委員会にて、その対応策を検討し、実行した。(中野 昇)

#### ◎ 交通安全対策委員会

職員の交通事故防止については、加害・被害事故を問わずその悲惨さに鑑み、機会を捕らえて注意を喚起しているが、平成8年度においても、8件の交通事故の発生を見た。

本年も昨年同様に、委員会を開催し、交通事故防止の周知徹底を図り、12月17日には、岩沼警察署の協力を得まして、交通安全の基本原則、安全運転の励行、岩沼警察署管内の交通事故の事例等を内容とする「安全運転講習会」を約60名の職員の参加を得て開催した。

今後とも、職員一人ひとりが交通ルールに対する意識高揚を図り、交通事故のない職場作りに努めて参りたいので御協力をお願いしたい。(伊東 教夫)

#### ◎ 放射線安全管理委員会

平成8年度放射線安全管理委員会(委員長・浅川院長)は平成9年3月27日に第1会議室において開催され、主な議決事項としては第1に平成10年度から特に血管造影及び透視検査に従事する職員にもう一つモニタを装着してもらうこととしたことである。現行のフィルバッジのみによる被ばく管理を見直し、プロテクターの着用でも放射線に曝される水晶体、甲状腺等の組織の被ばくについてもより正確に評価し、それに基づく実効線量、等価線量から職員の健康管理の充実を図ることを目的とする。

第2は臨床検査技術部長の白井さんが放射線安全管理委員会委員として任命されたことである。これはGVHD予防のために血液照射を直線加速装置により実施しているが放射線管理組織として血液部門も関わってくるためである。

最後に監督官庁の1つである科学技術庁の動向をつけ加えておくが、ICRP1990年勧告の法令への取入れを引き続き検討しているものと思われる。勧告を全面的に採用すれば実効線量限度が現在の50mSvから20mSvに引き下げられる可能性もありうるが、Interventional Radiologyのさらなる普及に伴い、限度超過を心配する声も一部の病院では聞かれるようである。しかし、根本的な問題は診療重視である厚生省の医療法と被ばく、環境重視である科学技術庁の放射性同位元素等による放射線障害の防止に関する法律との整合性が今現在も達成されていないことである。1日も早い一元管理化を期待したい。(小野 敦)

#### ◎ 安全衛生委員会

平成8年度定期職員健康診断、給食従事者健康診断、特殊業務従事者健康診断の結果について審議を行い、平成7年度との対比をした。

総じて言えば、昨年度に比して、受診率も6%高く98.4%となっているが、異常者(要精検)が若干多

くなっている傾向にあり、特に眼底検査の検査対象者が昨年度の約2.5倍の11名だった。

また、公務災害（針刺し事故）が、8件と昨年度より3件、交通事故が7件と昨年度より1件多くそれぞれ増加傾向にあることは由々しき事態であり、職員各自が謙虚に受け止め、明るく健康で楽しい職場を作る努力が必要と考えている。

（浅川 洋）

#### ◎ 倫理審査委員会

平成9年1月23日（木）午後1時30分から、外部委員（大学教授、弁護士）の出席を頂き当センター会議室で開催され、審議事項1件、報告事項2件について審議報告がなされた。（欠席委員1名）

最初に浅川委員長（病院長）の挨拶の後、浅川委員長が議長になり、審議事項の厚生省研究班から依頼されている「インフォームドコンセントに関する調査について」が審議され出席委員全員から実施することに異論がない旨了承を得た。

続いて、浅川議長から報告事項の「免疫療法」、「ラジオサージャリー」について報告があった。

審議・報告事項終了後、各委員の間で「インフォームドコンセント」に係る情報交換がなされ時宜にかなない大変有意義だった。

（伊東 教夫）

#### ◎ 組換えDNA実験安全委員会

平成8年度は新たな組換えDNA実験の申請がなく、継続実験のみであったので、委員を召集する会議は開催されなかった。但し、年度初め、内閣総理大臣が定める指針である「組換えDNA実験指針」の一部改訂の通知を受けたので、それに基づき、持ち回り会議の形式で、宮城県立がんセンター「組換えDNA実験安全管理規程」第一条の改訂を決定した。

（宮城 妙子）

#### ◎ 図書委員会

はじめに

「がんセンター」の名前を付している医療機関は調べた限りでは現在、9施設である（宮城、群馬、埼玉、千葉、国立、神奈川、新潟、愛知、四国）。このうち、研究所を併設しているのはおよそ半数（宮城、国立、神奈川、新潟、愛知）に過ぎない。がんセンターとして最新の医療、医学研究を行うためには書籍の充実が必要であるが、特に研究所をもつ本がんセンターにおいてはその必要度が大きい。

委員会の目標

病院における図書の充実を図るとともに限られた図書費を効率的に運用してゆくことが委員会の目標である。本センターの平成8年度予算は病院2,722,000円、研究所2,500,000円の総額5,222,000円で他がんセンターの図書予算に比べると1/5～1/2以下に過ぎず、極めて貧弱な予算であることは否定できない（平成7年度調べの本センター資料による）。本センターにおける図書費の運用以前の問題として、図書費そのものの増額を図ることが急務であろう。

結果

1. 平成9年度における病院各部門の図書要求についてのアンケート調査を10～11月に施行した。その結果をもとに平成8年12月24日に第1回図書委員会を開催した。平成9年度の図書予算として病院

5,564,000円、研究所5,435,000円の要求額（総額10,999,000円）であることが示され、これを元に第一次選定図書を決定した。

2. 上記予算要求に対しての県からの内示額が病院3,089,000円、研究所2,800,000円であった。この内示額（総額5,899,000円）は要求額の53.6%であった。この内示額内におさめるべく第二次図書選定を行い、9年度購入図書を決定した。

おわりに

本センター図書委員会の抱える問題は予算の小額であることにとどまらず、図書管理を適正に行う図書司書が配置されていないこともあげられる。調べた限りでは他がんセンターには常勤、非常勤、委託の差こそあれ、すべて図書司書が配置されている。本センターが東北の癌診療の拠点として創設されたことは記憶に新しいが、その役割を果たして行く上にも図書設備の充実は急務であり、本件に関して県の理解を求めて行く努力が必要である。（桑原正明）

### ◎ レジデント委員会

宮城県立がんセンターでは、開設以来当院レジデント制度の創設を要望していた所、平成8年度にレジデント制度の整備が検討され、管理調整会議、調整運営会議、レジデント委員会等で1) 宮城県立がんセンター研修医設置要綱、2) 同レジデント委員会設置要綱、3) レジデント募集要項が議定・決定された。

宮城県立がんセンターで、平成8年度レジデント制度が開始され、第1期生として1名を受け入れて、研修を受けている。

レジデント自身は当センターでの2年間の癌診断及び治療の研修を受けるだけでなく全国～地方の学会出席、他の病院での見学～研修も組み込まなければならない。

また、当センター自身にとっても、レジデント（若い医師～血）を入れる事で、がんセンター自身に活力を導入できる。更に、レジデントを教育するために、教える上司自身が勉強せねばならず、病院医師自身のレベルが向上する。レジデントから数少ない常勤医師の業務は補助を受け、病院運営～経営自身に大いに寄与している。

今後、レジデントの研修条件の改善－時間外勤務～日当直勤務の了解、宿舎の提供、学会及び研究会出席のできる条件作り等が必要になろう。（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

研究所部長会議は、原則として毎月2回開催され、研究所の管理・運営に関する事項について報告・審議が行われた。主に、研究費予算、セミナー、研究環境改善に関する事項が討議された。

会議はこれまで、所長（涌井）、免疫学（海老名）、病理学（立野）、薬物療法学（氏家）、生化学（宮城）の各部長で構成されていたが、7年度開設の疫学（南）、人文科学（長井）部門から各1名の部長代行が昨年12月から加わり、構成員は7名となった。また、部長会議及びがんセンターセミナーなどの年間世話役として、担当部長制を導入し、6部門の部長並びに部長代行が交代でその任に当たることになった。

会議は主に隔週水曜日の3時半から、以下の日程で開催された。

平成8年4月3日、17日、5月8日、22日、6月5日、19日、7月3日、17日、31日、9月11日、25日、10月16日、30日、11月20日、12月11日、平成9年1月8日、22日、2月12日、26日、3月19日。

（立野 絃雄）

### 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1,622匹、ラット8匹、ウサギ16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3名の方に委託してある。

平成9年3月5日(月)午後4時30分から、動物実験施設玄関前において、平成8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25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

前年度に引き続き、小野敦RI主任者の安全管理指導の下に安全に活発に施設利用がなされた。8年度の施設利用申請者は、研究所14名、医療局7名、臨床検査部1名の計22名であった。放射線障害予防規定に基づいて、5月に教育訓練および健康診断が実施され、個人利用カードの交付を行った。

教育訓練には、日本アイソトープ協会から環境整備課長 荻田忠美氏においでいただき、RI廃棄物処理に関する講義を受けた。平成7年度に発足したRI利用者会議が1回開かれた。RI利用上の安全性、円滑性の推進を目的として、利用者、管理者双方から意見や要望が提出され、活発な討議が行われた。

（宮城 妙子）

#### 4. がんセンターセミナー

宮城県立がんセンターセミナーは、がん制圧を目的とした研究を推進させる活動のひとつとして、平成5年以来、毎月約1回の割合で開催されている。このセミナーは、センター内外の講演者に、がん研究に関する最新情報を発表あるいは解説してもらい、それに関して、質問・討議を行う場であり、さらに、基礎研究の臨床応用への推進、円滑化を目的として、研究者、臨床医が一堂に会して討議する場でもある。

8年度は、以下の通り11回開催された。

1) 平成8年4月17日(水)

南 優子 県立がんセンター研究所 疫学部

『がん研究における疫学の役割』

2) 平成8年5月22日(水)

松田 堯 県立がんセンター病院 呼吸器科

『当院における肺癌診療の実態と問題点』

3) 平成8年6月19日(水)

名倉 宏 東北大医 第二病理学講座 教授

『消化管疾患の粘膜免疫機構による制御』

4) 平成8年7月17日(水)

佐藤 郁郎 県立がんセンター研究所 病理学部

『バイオサイエンスにおけるデータ解析；その200年の歩みを踏まえて』

5) 平成8年9月11日(水)

佐藤 靖史 東北大加齢医学研究所 腫瘍循環部門 教授

『血管新生の分子機構とその制御』

6) 平成8年10月30日(水)

入村 達郎 東京大学薬学部 生体異物免疫化学教室 教授

『糖鎖と癌細胞の振る舞い：ヒト癌の臨床病態を出発点にしたアプローチ』

7) 平成8年11月20日(水)

菅村 和夫 東北大医学部 細菌学 教授

『HTLV-Iによる細胞がん化の分子機構』

8) 平成8年12月18日(水)

村上 亨 県立がんセンター病院 整形外科

『転移性脊椎腫瘍の病態と治療』

9) 平成9年1月29日(水)

松本 恒 県立がんセンター病院 放射線科

『頭頸部悪性腫瘍に対する動注化学療法：我々の用いている二経路投与方法とその短期成績』

10) 平成9年2月26日(水)

海老原 敏 国立がんセンター東病院院長 耳鼻科

『頭頸部がんと機能温存外科』

11) 平成9年3月19日(水)

長 井 吉 清 宮城県立がんセンター研究所 人文科学部

『がん患者におけるインフォームド・コンセントに関する研究』

(立 野 紘 雄)

# 統 計 編



# 第1章 医療統計 (平8.4.1~9.3.31)

## 1. 内視鏡検査件数

種 別	件 数	種 別	件 数
上部消化管内視鏡検査	(1,724) 4,185	内視鏡的結石摘出術	10
上部ポリペクトミー	35	内視鏡的経鼻胆道ドレナージ	10
上部 E M R	51	内視鏡的逆行性胆道ドレナージ	9
上部レーザー照射	39	大腸内視鏡検査	(937) 1,755
上部内視鏡止血療法	20	大腸ポリペクトミー	167
上部消化管拡張術	40	大腸 E M R	76
食道静脈瘤硬化療法 (E V L 含む)	31	大腸内視鏡的止血術	17
上部緊急内視鏡	19	大腸クリッピング	154
上部色素散布による精密観察	144	大腸スネア留置術	14
異物除去他	12	大腸超音波内視鏡検査	30
胆膵超音波内視鏡検査	131	大腸緊急内視鏡	17
I D U S	42	下部色素散布による精密観察	89
E R C P	142	気管支内視鏡検査	(90) 161
パピロトミー	29	計	(2,751) 7,429

( ) 書きは生検数で内数

## 2. 部位別手術件数

部位別		月別												計	備考	
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
中 神 枢 系	脳・骨髄	7	10	4	3	2	1	2	1	6	5	5	4	50		
	その他															
頭  頸  部	喉頭	2	3	1	3	3	2	5	3	1	3	4	4	34		
	咽頭	(2) 3	(2) 3	1						(3) 4	(1) 2	(1) 3	(1) 2	(10) 18		
	口腔	(1) 1	(1) 1	(1) 1	(2) 2	(1) 1	(1) 4		(1) 2		(1) 3		1	(9) 18		
	鼻・副鼻腔		2	2	1	1	2	1			1	1		11		
	甲状腺	1	1	2					1	3		1	1		10	
	唾液腺		2	1	1			1		1			2		8	
	顔面・頸部	1	5	2	1	(1) 4	1	1			1	2	1	1	(1) 20	
	その他	1	2	3	3	1	2	2			1		1	1	17	
乳 腺	乳房（切除）	3	3	4	2	1	2	4		3	4	5	2	33		
	その他		3	1	1		2		3	1		1	3	15		
呼 吸 器 系	肺	2	5	5	6	3	4	4	6	6	7	8	6	62		
	縦隔			1		1				1			1	4		
	胸壁					1								1		
	その他		2		1	1			1	2		1		8		
消 化 器 系	食道	2	2			1	2	2	1	1				11		
	胃	11	8	6	8	18	11	13	11	10	6	9	14	125		
	小・大・直腸	5	8	10	10	6	8	7	10	14	9	14	8	109		
	肝・胆道・膵	6	5	2	5	3	5	12	8	4	7	3	5	65		
消 化 器	腹壁		1					1	1					3		
	その他				1						2	2		5		
泌 尿 生 殖 器 系	副腎			1	1									2		
	腎	2	1		1	2	1	2	5	2	1	1	3	21		
	尿管	1				1		1	4			1	1	9		
	膀胱	3		4	3	1	4	3	5	4	1	3	3	34		
	前立腺	5	1	2	5	1	1	1	2	1	3	2	2	26		
	尿道・陰茎			2					1				1	4		
	睾丸		2	1	2	2	1				1		2	11		
	子宮	7	4	5	2	3	2	3		5	4	3	4	42		
	子宮付属器	4	4	4	7	5	5	7	5	3	3	6	7	60		
その他	1					2	6	2	1	5		3	20			
運 動 器 系	脊椎			1		2			2	1	1	3		10		
	四肢	6	4	6	8	4	7	11	6	6	6	5	9	78		
	体幹	2	1	7	7	4	4	4	4	3	5	1	4	46		
リンパ・造血器		1						1	1					3		
そ の 他		4	3	4	1	1	4	2	7	9	3	3	4	45		
計		(3) 81	(3) 86	(1) 83	(2) 85	(2) 73	(1) 78	99	(1) 94	(3) 90	(2) 85	(1) 89	(1) 95	(20) 1,038		

※ 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		18,947	19,092	18,264	21,750	21,270	19,003	20,418	19,164	18,217	17,058	17,181	17,920	228,284
生化学検査		47,395	47,654	47,308	54,175	50,940	49,024	53,345	49,325	48,214	46,265	43,842	47,158	584,645
血液検査		22,280	22,088	22,240	25,361	23,641	22,475	24,921	22,629	21,732	21,058	19,950	21,593	269,968
血清検査		2,936	3,066	2,992	3,271	3,219	3,146	3,474	3,364	2,971	3,087	2,907	2,993	37,426
輸血検査		4,218	4,433	4,297	6,390	3,818	4,538	5,526	4,718	4,186	4,204	4,735	4,695	55,758
細菌検査		1,717	1,756	2,044	2,985	2,672	2,917	2,680	3,391	1,775	1,947	2,499	2,456	28,839
生理検査		1,228	1,149	1,124	1,254	1,238	1,140	1,324	1,305	962	1,167	1,110	1,052	14,053
病理検査		1,611	1,206	1,243	1,985	1,508	1,469	1,929	1,559	1,405	1,328	1,568	1,503	18,314
細胞診検査		858	956	876	911	1,015	953	1,146	1,200	1,145	954	1,048	1,053	12,115
合計		101,190	101,400	100,388	118,082	109,321	104,665	114,763	106,655	100,607	97,068	94,840	100,423	1,249,402
解剖		3	3	1	0	3	1	2	0	0	0	0	1	14
受託検査		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
委託検査		1,634	1,654	1,545	1,749	1,831	1,644	1,728	1,695	1,483	1,511	1,399	1,446	19,319
職員HBS-AG		0	0	0	279	0	0	0	0	0	0	0	0	279
職員HBS-AB		0	0	0	279	0	0	0	0	0	0	0	0	279
院内細菌検査		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60	11	71

#### 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			合計	
	単純撮影		造影検査		特殊検査				小計	リニ アック	治療 計画 等		小計
	一般 撮 影	断層 撮 影	消化器 撮 影	その他	C T	M R I	超音波	核医学					
8年4月	1,687	31	179	95	361	127	211	86	2,777	758	107	865	3,642
5月	1,793	26	204	101	399	141	273	101	3,038	1,073	140	1,213	4,251
6月	1,646	29	190	101	383	139	269	89	2,846	780	142	922	3,768
7月	1,840	32	252	113	417	161	319	95	3,229	1,134	161	1,295	4,524
8月	1,746	38	194	120	343	123	224	81	2,869	1,174	154	1,328	4,197
9月	1,597	32	199	127	374	140	262	90	2,821	734	138	872	3,693
10月	1,950	53	252	115	425	150	324	104	3,373	766	114	880	4,253
11月	2,004	50	194	200	414	119	250	88	3,319	743	146	889	4,208
12月	1,626	32	179	201	366	140	320	78	2,942	798	109	907	3,849
9年1月	1,893	29	169	164	412	140	253	93	3,153	851	172	1,023	4,176
2月	1,896	26	177	214	425	136	295	100	3,269	710	124	834	4,103
3月	1,927	26	173	195	408	122	271	82	3,204	863	133	996	4,200
計	21,605	404	2,362	1,746	4,727	1,638	3,271	1,087	36,840	10,384	1,640	12,024	48,864

## 5. 患者食数と食材料費

区分 月別	患者食数			検 保 存 食	食 数 の 合 計(食)	食 材 料 費	
	一般治療食		特別治療食 (加算)			購 入 費 (千円)	1 人 1 日 当り(円)
	常 食	特別食(非加算)					
8年4月	13,139	4,624	4,205	360	22,328	4,787	619
5月	13,011	4,798	4,628	372	22,809	5,277	662
6月	12,710	4,122	5,621	360	22,813	5,078	637
7月	13,689	4,982	5,102	372	24,145	5,497	652
8月	13,578	3,766	4,708	372	22,424	5,071	642
9月	13,310	3,028	4,273	360	20,971	4,743	643
10月	14,969	3,200	4,642	372	23,183	4,986	615
11月	13,890	3,604	3,720	360	21,574	4,438	581
12月	13,830	3,944	4,543	372	22,689	4,845	611
9年1月	13,515	3,994	3,588	372	21,469	4,999	668
2月	13,195	3,870	3,515	336	20,916	4,995	687
3月	13,944	3,912	4,653	372	22,881	5,738	722
合 計	162,780	47,844	53,199	4,380	268,202	60,453	7,739
月平均	13,565	3,987	4,433	365	23,319	5,038	645
平成7年度	156,311	50,202	51,470	4,392	262,375	58,296	667
平成6年度	138,874	48,962	44,187	4,380	236,403	60,328	766

## 6. 栄養指導実施状況

病 態 別 年 度	個 別 指 導															集 団 指 導		合 計 (人)
	外 来							入 院							合 計 (人)	延 延 回 人 数 数		
	糖 尿 病	高 血 圧 症	高 脂 血 症	肝 臓 病	心 臓 病	そ の 他	小 計 (人)	糖 尿 病	高 血 圧 症	心 臓 病	腎 臓 病	そ の 他	小 計 (人)	病 棟 訪 問 (人)				
6	685	31	10	4	8	3	741	94	5	3	1	6	109	22	872	22回	78人	950
7	547	23	23	4	3	3	603	50	3	—	1	8	62	17	682	21回	72人	754
8	436	70	53	1	7	7	574	33	1	—	1	3	38	79	691	22回	131人	822

## 7. 血液使用状況

(1単位 200ml)

製 剤 名	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
保存血液	4	0	0	10	0	0	0	6	0	0	0	3	23
濃厚赤血球	372	438	302	658	363	520	439	351	327	411	338	473	4,992
洗浄赤血球	34	24	18	10	24	4	2	8	6	2	8	0	140
白血球除去赤血球	0	12	30	28	46	44	18	24	34	22	24	16	298
新鮮凍結血漿	519	211	266	655	196	495	430	320	268	120	339	405	4,224
濃厚血小板	822	730	820	965	775	587	450	505	1,085	660	455	515	8,369
自己血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
新鮮血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合 計	1,751	1,415	1,436	2,326	1,404	1,650	1,339	1,214	1,720	1,215	1,164	1,412	18,046

## 8. 医薬品購入状況（薬効別）

（単位；購入額：千円、構成比：％）

薬物分類	平成5年度		平成6年度		平成7年度		平成8年度	
	購入額	構成比	購入額	構成比	購入額	構成比	購入額	構成比
中枢神経系薬	14,911	2.49	22,086	2.45	22,942	2.54	21,297	1.96
末梢神経系薬	5,179	0.87	8,031	0.89	8,444	0.94	8,528	0.78
感覚器官用薬	920	0.15	1,547	0.17	1,760	0.19	2,697	0.25
循環器官用薬	84,016	14.04	107,243	11.88	106,449	11.79	109,766	10.09
呼吸器官用薬	6,584	1.10	8,871	0.98	9,184	1.02	10,077	0.93
消化器官用薬	45,889	7.67	76,810	8.51	88,054	9.75	100,073	9.20
ホルモン剤（抗ホ剤含む）	24,815	4.15	39,576	4.38	53,711	5.95	61,343	5.64
泌尿生殖器官及び肛門用薬	2,981	0.50	5,109	0.57	6,548	0.73	7,352	0.68
外皮用剤	10,806	1.81	16,803	1.86	15,951	1.77	17,196	1.58
その他個々の 器官系用医薬品		0.00	57	0.01	309	0.03	559	0.05
ビタミン剤	3,698	0.62	4,836	0.54	4,880	0.54	5,674	0.52
滋養強壮変質剤	27,892	4.66	49,206	5.45	51,761	5.73	54,308	4.99
血液及び体液用剤	39,903	6.67	70,239	7.78	94,248	10.44	131,974	12.13
人工灌流用剤	6	0.00		0.00		0.00	0	0.00
その他の代謝性医薬品	24,163	4.04	43,927	4.87	44,926	4.98	44,519	4.09
細胞賦活用薬							11	0.00
腫瘍用剤	105,072	17.56	158,961	17.61	180,246	19.96	187,285	17.21
アレルギー用薬	2,101	0.35	3,485	0.39	4,054	0.45	5,217	0.48
漢方製剤	7,910	1.32	9,264	1.03	9,687	1.07	8,628	0.79
抗生物質製剤	35,643	5.96	70,506	7.81	67,740	7.50	79,973	7.35
化学療法剤	7,346	1.23	11,716	1.30	13,537	1.50	17,973	1.65
生物学的製剤	89,605	14.97	86,873	9.62	71,689	7.49	65,949	6.06
寄生動物に対する薬		0.00	62	0.01	16	0.00	31	0.00
調剤用薬	2,011	0.34	3,323	0.37	3,476	0.38	3,699	0.34
診断用薬	32,920	5.50	70,028	7.76	81,010	8.97	91,408	8.40
その他治療を目的としない医薬品	11,528	1.93	14,899	1.65	12,544	1.39	14,775	1.36
アルカロイド系製剤（天然麻薬）	7,224	1.21	11,964	1.33	30,018	3.32	28,825	2.65
非アルカロイド系麻薬	169	0.03	526	0.06	1,400	0.16	2,513	0.23
その他	5,107	0.85	6,915	0.77	6,659	0.74	6,565	0.60
合計	598,399	100.00	902,863	100.00	991,243	100.00	1,088,215	100.00

（注）この表においては、保存血液関係は除外している。

麻薬（アルカロイド系製剤、非アルカロイド系製剤）の購入額激増が注目される。

## 9. 処方箋統計

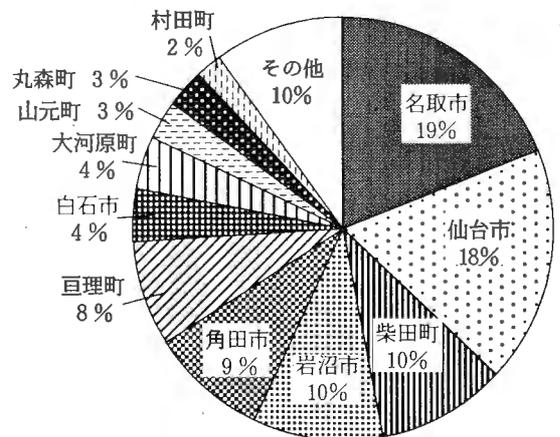
月別 処方箋		平成8年									平成9年			当年度 計	平成 7年度	増減
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
枚数 (枚)	入院	2,838	2,971	2,828	3,100	2,915	2,402	3,051	2,236	2,816	2,606	2,529	2,617	32,909	31,797	1,112
	外来	3,824	3,994	3,701	4,263	4,032	3,834	4,407	3,951	3,997	3,828	3,787	4,004	47,622	43,636	3,986
	計	6,662	6,965	6,529	7,363	6,947	6,236	7,458	6,187	6,813	6,434	6,316	6,621	80,531	75,433	5,098
剤数 (剤)	入院	5,276	5,549	5,229	5,976	5,604	4,696	5,644	4,592	5,188	4,853	4,776	4,821	62,204	60,884	1,320
	外来	11,031	11,536	10,483	12,116	11,416	10,773	12,676	11,446	11,460	11,036	10,759	11,379	136,111	126,855	9,256
	計	16,307	17,085	15,712	18,092	17,020	15,469	18,320	16,038	16,648	15,889	15,535	16,200	198,315	187,739	10,576
延剤数 (日)	入院	37,706	38,919	35,946	41,831	40,003	33,642	38,691	35,798	39,138	34,128	34,088	33,716	443,606	593,799	△ 150,193
	外来	192,105	199,799	180,690	211,098	202,072	191,405	222,518	203,523	204,666	195,988	192,142	200,685	2,396,691	2,037,088	359,603
	計	229,811	238,718	216,636	252,929	242,075	225,047	261,209	239,321	243,804	230,116	226,230	234,401	2,840,297	2,630,887	209,410
院外処方箋枚数		319	309	293	286	258	223	272	232	245	239	226	261	3,163	3,401	△238

## 第2章 患者統計(平8.4.1~9.3.31)

### 1. 登録患者の市町村別分布状況

順位	市町村名	3ヵ年 平均患者数	構成比 (%)	累 計	累計構成 (%)
1	名取市	538.7	18.8	538.7	18.8
2	仙台市	511.3	17.8	1,050.0	36.7
3	柴田町	283.0	9.9	1,333.0	46.5
4	岩沼市	280.7	9.8	1,613.7	56.3
5	角田市	254.0	8.9	1,867.7	65.2
6	亘理町	243.3	8.5	2,111.0	73.7
7	白石市	111.3	3.9	2,222.3	77.6
8	大河原町	107.7	3.8	2,330.0	81.3
9	山元町	100.0	3.5	2,430.0	84.8
10	丸森町	97.0	3.4	2,527.0	88.2
11	村田町	65.0	2.3	2,592.0	90.5
12	蔵王町	48.7	1.7	2,640.7	92.2
13	川崎町	30.7	1.1	2,671.3	93.3
14	石巻市	20.0	0.7	2,691.3	93.9
15	古川市	17.3	0.6	2,708.7	94.6
16	塩竈市	14.3	0.5	2,723.0	95.1
17	多賀城市	9.7	0.3	2,732.7	95.4
18	気仙沼市	7.7	0.3	2,740.3	95.7
19	大和町	6.3	0.2	2,746.7	95.9
20	松島町	6.0	0.2	2,752.7	96.1
21	小牛田町	5.7	0.2	2,758.3	96.3
22	富谷町	5.3	0.2	2,763.7	96.5
23	涌谷町	5.0	0.2	2,768.7	96.6
24	中田町	5.0	0.2	2,773.7	96.8
25	矢本町	5.0	0.2	2,778.7	97.0
26	利府町	4.7	0.2	2,783.3	97.2
27	迫 町	4.3	0.2	2,787.7	97.3
28	七ヶ浜町	3.7	0.1	2,791.3	97.4
29	築館町	3.7	0.1	2,795.0	97.6
30	本吉町	3.7	0.1	2,798.7	97.7
31	鳴子町	3.3	0.1	2,802.0	97.8
32	河南町	3.3	0.1	2,805.3	97.9
33	中新田町	3.0	0.1	2,808.3	98.0
34	志波姫町	3.0	0.1	2,811.3	98.1
35	河北町	3.0	0.1	2,814.3	98.2
36	田尻町	2.7	0.1	2,817.0	98.3
37	鳴瀬町	2.7	0.1	2,819.7	98.4
38	栗駒町	2.3	0.1	2,822.0	98.5
39	石越町	2.3	0.1	2,824.3	98.6
40	南方町	2.3	0.1	2,826.7	98.7
41	桃生町	2.3	0.1	2,829.0	98.8
42	三本木町	2.0	0.1	2,831.0	98.8
43	鹿島台町	2.0	0.1	2,833.0	98.9
44	若柳町	2.0	0.1	2,835.0	99.0
45	志津川町	2.0	0.1	2,837.0	99.0

順位	市町村名	3ヵ年 平均患者数	構成比 (%)	累 計	累計構成 (%)
46	金成町	1.7	0.1	2,838.7	99.1
47	東和町	1.7	0.1	2,840.3	99.2
48	米山町	1.7	0.1	2,842.0	99.2
49	大郷町	1.3	0.0	2,843.3	99.3
50	大衡村	1.3	0.0	2,844.7	99.3
51	小野田町	1.3	0.0	2,846.0	99.3
52	色麻町	1.3	0.0	2,847.3	99.4
53	松山町	1.3	0.0	2,848.7	99.4
54	岩出山町	1.3	0.0	2,850.0	99.5
55	豊里町	1.3	0.0	2,851.3	99.5
56	牡鹿町	1.3	0.0	2,852.7	99.6
57	津山町	1.3	0.0	2,854.0	99.6
58	七ヶ宿町	1.0	0.0	2,855.0	99.7
59	宮崎町	1.0	0.0	2,856.0	99.7
60	高清水町	1.0	0.0	2,857.0	99.7
61	一迫町	1.0	0.0	2,858.0	99.8
62	瀬峰町	1.0	0.0	2,859.0	99.8
63	鷲沢町	1.0	0.0	2,860.0	99.8
64	登米町	1.0	0.0	2,861.0	99.9
65	女川町	1.0	0.0	2,862.0	99.9
66	雄勝町	0.7	0.0	2,862.7	99.9
67	唐桑町	0.7	0.0	2,863.3	100.0
68	歌津町	0.7	0.0	2,864.0	100.0
69	花山村	0.3	0.0	2,864.3	100.0
70	北上町	0.3	0.0	2,864.7	100.0
71	南郷町	0.0	0.0	2,864.7	100.0
		2,864.7	100.0		



## 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	3,173	81,973	85,146	348	2,531	(259) 2,533	114,050	313	45.0	87.3	199,196	661

(注) ( ) 書は死亡退院で内書

### (2) 外来患者数

(単位：人)

区 分	年 度 月 別	7年度	8年度	8年			9年								
		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	3,098	3,173	244	238	263	326	323	246	295	268	238	235	227	270
	再来初診患者	2,887	2,933	180	224	277	359	294	228	262	235	222	219	212	221
再 来 患 者		64,528	79,040	6,062	6,418	6,028	7,217	6,819	6,427	7,446	6,625	6,624	6,276	6,414	6,684
(外来患者延数)		70,513	85,146	6,486	6,880	6,568	7,902	7,436	6,901	8,003	7,128	7,084	6,730	6,853	7,175
1日平均患者数		287	348	309	328	328	344	338	363	364	356	373	354	361	359

### (3) 入院患者数

(単位：人)

区 分	年 度 月 別	7年度	8年度	8年			9年								
		総数	総数	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
入 院 患 者		2,409	2,531	200	221	201	216	205	198	214	226	191	235	210	214
退 院 患 者		2,389	2,533	187	218	198	215	215	201	206	233	240	168	220	232
(同上中死亡)		275	259	21	24	18	16	28	23	21	24	23	23	18	20
入院患者延数		109,797	114,050	9,170	9,689	9,644	10,071	9,760	9,269	9,912	9,429	9,620	9,145	8,834	9,507
1日平均患者数		300	313	306	313	322	325	315	309	320	314	310	295	316	307
病床利用率(%)		85.8	87.3	85.4	87.3	89.8	90.7	87.9	86.3	89.3	87.8	86.7	82.4	88.1	85.7
平均在院日数(日)		45.8	45.0	47.4	44.1	48.3	46.7	46.5	46.5	47.2	41.1	44.6	45.4	41.1	42.6

### 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	主要病類																		
				I	Ⅰ <sub>1</sub>	Ⅱ <sub>2</sub>	Ⅲ <sub>1</sub>	Ⅲ <sub>2</sub>	Ⅳ	V	Ⅵ	Ⅶ	Ⅷ	Ⅸ	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII
県	仙	男	266	9	79	23	11	8	5	1	4	5	20	51	15		2	5	1		23	4
		女	254	2	70	46	6	3	4		6	4	11	32	38		5	7	1		15	4
	市	計	520	11	149	69	17	11	9	1	10	9	31	83	53	0	7	12	2	0	38	8
	仙	男	1,169	39	316	147	25	30	8		6	32	80	269	65		11	30	4		95	12
内	台	女	1,251	29	212	232	31	25	28	1	11	36	84	186	220	2	8	42	5		90	9
		計	2,420	68	528	379	56	55	36	1	17	68	164	455	285	2	19	72	9	0	185	21
	合	計	2,940	79	677	448	73	66	45	2	27	77	195	538	338	2	26	84	11	0	223	29
外	男	男	114		47	19	1	3	2		2	1	8	19	2		2	1	7			
		女	119	1	47	25					1		3	6	11	19		2				3
	計	233	1	94	44	1	3	2	1	2	4	14	30	21	0	4	1	7	0	3	1	
総	男	男	1,549	48	442	189	37	41	15	1	12	38	108	339	82	0	15	36	12	0	118	16
		女	1,624	32	329	303	37	28	32	2	17	43	101	229	277	2	15	49	6	0	108	14
	計	3,173	80	771	492	74	69	47	3	29	81	209	568	359	2	30	85	18	0	226	30	

(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         |
| Ⅰ <sub>1</sub> . 悪性新生物          | X . 泌尿器系の疾患          |
| Ⅱ <sub>2</sub> . 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 <sub>1</sub> . 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 <sub>2</sub> . 糖尿病            | XIII . 筋骨格系および結合織の疾患 |
| 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	主要病類																				
			I	II <sub>1</sub>	II <sub>2</sub>	III <sub>1</sub>	III <sub>2</sub>	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII		
男	10才未満	47		3	7			1			1	6	7	7		2	5	3		3	2		
	10～19才	12			5			1				2	1				1	1			1		
	20～29才	101	8	4	6	2	1	3		2	2	9	32	8		1	6				13	4	
	30～39才	184	8	11	22	10	5	2		1	5	13	67	8		3	7				18	4	
	40～49才	275	7	34	36	8	14	5	1	2	7	15	95	12		4	4				29	2	
	50～59才	283	8	71	44	8	11	3		5	5	16	76	12		2	3					19	
	60～69才	357	10	164	44	6	6			2	9	24	35	18			8	1			27	3	
	70才以上	290	7	155	25	3	4				9	23	26	17		3	2					16	
	計	1,549	48	442	189	37	41	15	1	12	38	108	339	82	0	15	36	5	0		125	16	
女	10才未満	56	2	1	7	3		3				8	12	6	1	2	6	1			2	2	
	10～19才	11			4							1		1		1	2				1	1	
	20～29才	193	8	10	30	5	1	14	1	8	4	11	34	37		3	5	1			16	5	
	30～39才	199	2	19	50	7	4			1	2	13	28	54		2	5				10	2	
	40～49才	395	3	70	85	11	7	8		3	7	10	43	99		2	8	1			38		
	50～59才	268	6	63	49	8	8	2		1	8	17	42	40	1	1	5	1			15	1	
	60～69才	271	4	80	46	1	6	1	1	3	11	18	47	27		1	11	1			13		
	70才以上	231	7	86	32	2	2	4		1	11	23	23	13		1	9	1			13	3	
	計	1,624	32	329	303	37	28	32	2	17	43	101	229	277	2	13	51	6	0		108	14	
合 計	10才未満	103	2	4	14	3	0	4	0	0	1	14	19	13	1	4	11	4	0		5	4	
	10～19才	23	0	0	9	0	0	1	0	0	0	3	1	1	0	1	3	1	0		1	2	
	20～29才	294	16	14	36	7	2	17	1	10	6	20	66	45	0	4	11	1	0		29	9	
	30～39才	383	10	30	72	17	9	2	0	2	7	26	95	62	0	5	12	0	0		28	6	
	40～49才	670	10	104	121	19	21	13	1	5	14	25	138	111	0	6	12	1	0		67	2	
	50～59才	551	14	134	93	16	19	5	0	6	13	33	118	52	1	3	8	1	0		34	1	
	60～69才	628	14	244	90	7	12	1	1	5	20	42	82	45	0	1	19	2	0		40	3	
	70才以上	521	14	241	57	5	6	4	0	1	20	46	49	30	0	4	11	1	0		29	3	
	総計	3,173	80	771	492	74	69	47	3	29	81	209	568	359	2	28	87	11	0		233	30	

5. 新患者悪性新生物数 平成8年度

病 名	件 数		
	男 性	女 性	合 計
141 舌の悪性新生物	8	1	9
142 大唾液腺の悪性新生物	2	1	3
143 歯肉の悪性新生物	3	1	4
144 口腔床の悪性新生物	1	0	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	6
146 中咽頭の悪性新生物	6	1	7
147 鼻<上>咽頭の悪性新生物	0	2	2
148 下咽頭の悪性新生物	8	2	10
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	0	2
150 食道の悪性新生物	27	3	30
151 胃の悪性新生物	91	35	126
153 結腸の悪性新生物	27	29	56
154 直腸、直腸S状結腸移行部及び肛門の悪性新生物	14	12	26
155 肝及び肝内胆管の悪性新生物	17	7	24
156 胆のう<嚢>及び肝外胆管の悪性新生物	7	5	12
157 膵の悪性新生物	6	8	14
158 後腹膜及び腹膜の悪性新生物	0	1	1
160 鼻腔、中耳及び副鼻腔の悪性新生物	3	2	5
161 喉頭の悪性新生物	18	1	19
162 気管、気管支及び肺の悪性新生物	76	21	97
164 胸腺、心及び縦隔の悪性新生物	1	2	3
170 骨及び関節軟骨の悪性新生物	6	4	10
171 結合組織及びその他の軟部組織の悪性新生物	2	2	4
173 皮膚のその他の悪性新生物	2	0	2
174 女性乳房の悪性新生物	0	48	48
179 子宮の悪性新生物、部位不明	0	1	1
180 子宮頸の悪性新生物	0	30	30
182 子宮体の悪性新生物	0	12	12

病 名	件 数		
	男 性	女 性	合 計
183 卵巣及びその他の子宮付属器の悪性新生物	0	25	25
184 その他及び部位不明の女性生殖器の悪性新生物	0	2	2
185 前立腺の悪性新生物	25	0	25
186 睾丸<精巣>の悪性新生物	1	0	1
187 陰茎及びその他の男性生殖器の悪性新生物	3	0	3
188 膀胱の悪性新生物	18	4	22
189 腎並びにその他及び部位不明の泌尿器の悪性新生物	12	6	18
191 脳の悪性新生物	9	7	16
192 その他の部位及び部位不明の神経系の悪性新生物	0	1	1
193 甲状腺の悪性新生物	3	5	8
194 その他の内分泌腺及び関連組織の悪性新生物	1	0	1
195 その他の部位及び不明確な部位の悪性新生物	1	0	1
196 リンパ節の続発性及び詳細不明の悪性新生物	2	0	2
197 呼吸系及び消化系の続発性悪性新生物	3	2	5
198 その他の明示された部位の続発性悪性新生物	11	3	14
199 部位の明示されない悪性新生物	5	3	8
202 リンパ(球)様及び組織球組織のその他の悪性新生物	10	13	23
203 多発性骨髄腫及び免疫増殖性新生物	2	2	4
204 リンパ性白血病	2	2	4
205 骨髄性白血病	2	2	4
207 その他の明示された白血病	2	1	3
233 乳房及び泌尿生殖系の上皮内癌	0	17	17
合 計	442	329	771

## 6. 癌登録患者部位別・男女別総数

平成9年3月31日現在

病 名	件 数		
	男 性	女 性	合 計
140 口唇の悪性新生物	8	6	14
141 舌の悪性新生物	26	15	41
142 大唾液腺の悪性新生物	13	8	21
143 歯肉の悪性新生物	6	5	11
144 口腔床の悪性新生物	9	0	9
145 その他の部位及び部位不明の口腔の悪性新生物	8	3	11
146 中咽頭の悪性新生物	18	3	21
147 鼻<上>咽頭の悪性新生物	9	3	12
148 下咽頭の悪性新生物	32	3	35
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	13	1	14
150 食道の悪性新生物	380	80	460
151 胃の悪性新生物	1,693	750	2,443
152 小腸の悪性新生物、十二指腸を含む	18	12	30
153 結腸の悪性新生物	363	279	642
154 直腸、直腸S状結腸移行部及び肛門の悪性新生物	284	184	468
155 肝及び肝内胆管の悪性新生物	219	90	309
156 胆のう<嚢>及び肝外胆管の悪性新生物	91	91	182
157 膵の悪性新生物	150	84	234
158 後腹膜及び腹膜の悪性新生物	3	9	12
160 鼻腔、中耳及び副鼻腔の悪性新生物	20	13	33
161 喉頭の悪性新生物	85	6	91
162 気管、気管支及び肺の悪性新生物	810	282	1,092
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	8	9	17
170 骨及び関節軟骨の悪性新生物	8	5	13
171 結合組織及びその他の軟部組織の悪性新生物	19	12	31
172 皮膚の悪性黒色腫	7	3	10
173 皮膚のその他の悪性新生物	10	5	15

病 名	件 数		
	男 性	女 性	合 計
174 女性乳房の悪性新生物	0	771	771
175 男性乳房の悪性新生物	4	0	4
179 子宮の悪性新生物、部位不明	0	17	17
180 子宮頸の悪性新生物	0	317	317
181 胎盤の悪性新生物	0	2	2
182 子宮体の悪性新生物	0	65	65
183 卵巣及びその他の子宮付属器の悪性新生物	0	79	79
184 その他及び部位不明の女性生殖器の悪性新生物	0	15	15
185 前立腺の悪性新生物	126	0	126
186 睾丸<精巣>の悪性新生物	4	0	4
187 陰茎及びその他の男性生殖器の悪性新生物	14	0	14
188 膀胱の悪性新生物	74	24	98
189 腎並びにその他及び部位不明の泌尿器の悪性新生物	74	34	108
191 脳の悪性新生物	33	24	57
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	2
193 甲状腺の悪性新生物	19	36	55
194 その他の内分泌腺及び関連組織の悪性新生物	2	4	6
195 その他の部位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	41	32	73
200 リンパ肉腫及び細網肉腫	27	20	47
201 ホジキン<HODGKIN>病	4	5	9
202 リンパ(球)様及び組織球組織のその他の悪性新生物	54	51	105
203 多発性骨髄腫及び免疫増殖性新生物	20	17	37
204 リンパ性白血病	11	9	20
205 骨髄性白血病	26	19	45
206 単球性白血病	1	1	2
207 その他の明示された白血病	0	1	1
208 細胞形態不明の白血病	2	1	3
233 乳房及び泌尿生殖系の上皮内癌	0	61	61
合 計	4,866	3,578	8,444

## 7. がん患者追跡調査年次別実測生存率表（全がん）

平成9年7月1日現在

登録年	57	58	59	60	61	62	63	元年	2	3	4	5	6	7	8	9	
登録数	379	394	416	469	397	410	408	452	474	455	497	343	824	833	919	350	
1年生存	生存数	221	213	251	284	230	252	245	284	305	297	337	226	501	548		
	%	58.3	54.1	60.3	60.6	57.9	61.5	60.0	62.8	64.3	65.3	67.8	65.9	60.8	65.8		
2年生存	生存数	191	188	209	235	205	218	218	248	262	265	286	197	449			
	%	50.4	47.7	50.2	50.1	51.6	53.2	53.4	54.9	55.3	58.2	57.5	57.4	54.5			
3年生存	生存数	178	165	195	225	192	204	200	231	239	245	263	178				
	%	47.0	41.9	46.9	48.0	48.4	49.8	49.0	51.1	50.4	53.8	52.9	51.9				
4年生存	生存数	168	154	179	207	180	195	190	214	219	235	249					
	%	44.3	39.1	43.0	44.1	45.3	47.6	46.6	47.3	46.2	51.6	50.1					
5年生存	生存数	160	146	167	201	165	184	182	205	209	220						
	%	42.2	37.1	40.1	42.9	41.6	44.9	44.6	45.4	44.1	48.4						
6年生存	生存数	150	141	163	191	162	178	172	195	203							
	%	39.6	35.8	39.2	40.7	40.8	43.4	42.2	43.1	42.8							
7年生存	生存数	142	135	159	187	156	171	166	190								
	%	37.5	34.3	38.2	39.9	39.3	41.7	40.7	42.0								
8年生存	生存数	140	124	152	175	151	165	160									
	%	36.9	31.5	36.5	37.3	38.0	40.2	39.2									
9年生存	生存数	137	120	145	166	146	161										
	%	36.1	30.5	34.9	35.4	36.8	39.3										
10年生存	生存数	132	117	143	154	143											
	%	34.8	29.7	34.4	32.8	36.0											

注 平成5年以降外来患者登録は除く

# 研 究 編



# 第1章 学会発表

平成8年度(平成8年4月～9年3月)

## a. 国際学会発表

### ◦ 研究所・免疫学部門

- 1) Ebina, T. : BRM-Activated Killer (BAK) adoptive immunotherapy using peripheral blood T and NK Cells. 13th Asia Pacific Cancer Conference. Penang, Malaysia, 1996. 11.
- 2) Ebina, T. : Recent advances in Coliolum versicolor (Polysaccharide K) research as an immunomodulator. Symposium on Biological Response Modifiers. Seoul, Korea, 1996. 12.

### ◦ 研究所・生化学部門

- 1) Miyagi, T : Structure and function of ganglioside-hydrolyzing sialidase. Gordon-Naito Research Conference on "Structure and Function of Glycolipids and Sphingolipids". Gifu, Japan, 1996. 9.

### ◦ 医療局・呼吸器科

- 1) K. Koike : Phosphodiesterase inhibitor reduced the hypoxic pulmonary vasoconstriction in human after thoracotomy. The IHTH Asia Pacific Congress on Diseases of the Chest. Bali, Indonesia, 1996. 6.
- 2) Y. Ashino, K. Koike : Hydraulic conductivity of the visceral mesothelium under permeability pulmonary edema. The IHTH Asia Pacific Congress on Diseases of the Chest. Bali, Indonesia, 1996. 6.
- 3) S. Ueda, K. Koike : PMN adhesion contributes to the hypoxia induced. Acute lung injury. The IHTH Asia Pacific Congress on Diseases of the Chest. Bali, Indonesia, 1996. 6.
- 4) T. Tanita, K. Koike : Increase in the pulmonary vascular permeability caused by mechanically activated. Polymorphonuclear cells is blocked by superoxide dismutase. The IHTH Asia Pacific Congress on Diseases of the Chest. Bali, Indonesia, 1996. 6.

### ◦ 医療局・泌尿器科

- 1) Kuwahara, M., Tochigi, T and Tateno, H. : Growth hormone and its related substances in prostatic carcinoma patients. 91st Annual Meeting, American Urological Association, Orland, Florida, May, 1996.
- 2) 桑原正明、栃木達夫 : 前立腺癌検診について、白求恩医科大学基礎医学院－第一汽車工人病院講演会、長春、中国、1996. 9.

### ◦ 医療局・外科

- 1) Ouchi, K., Sugawara, T., Ono, h., Fujiya, T., Kamiyama, Y., Kakugawa, Y., Mikuni, J and Tateno, H : Histologic features and clinical significance of venous invasion in colorectal hepatic metastasis. 10th Asian-Pacific Congress of Gastroenterology. Yokohama, 1996. 9.

- 2) Y. Kakugawa, K. Endo, J. Mikuni, Y. Kamiyama, K. Fujiya, H. Ono, T. Sugawara and K. Ouchi : A case of stage IV cancer of the pancreatic body with long-term survival after resection. 10th Asian-Pacific Congress of Gastroenterology, Yokohama, 1996. 9.
- 3) Fujiya, T. : Prognostic factors in surgical treatment of gastric cancer (Results of 1993 patients with curative resection). Asian-Pacific congress of gastroenterology, Yokohama, 1996. 9.

○医療局・内科

- 1) A. Sasaki et al. : The impact of a change of obesity on diabetic microangiopathy in noninsulin dependent diabetes (NIDDM). 3rd international diabetes congress, Hong Kong, 25th-28th September 1996.

b. 国内学会発表

○研究所・免疫学部門

- 1) 海老名卓三郎、磯野法子、村田和子、横山純吉、三國潤一、大内清昭：活性化リンパ球による局所療法、第18回癌局所療法研究会、広島、1996. 6.
- 2) 海老名卓三郎、村田和子：セファランチンの抗腫瘍効果－癌細胞浸潤阻害、第22回アルカロイド研究会、東京、1996. 6.
- 3) 海老名卓三郎：MHC非拘束性 $\gamma$  $\delta$ T細胞誘導の有無と養子免疫療法の予後、第7回日本生体防御学会、名古屋、1996. 7.
- 4) 海老名卓三郎、山口智宏、小鎌直子、田子悟史、村上 享、宇野賀津子、岸田綱太郎：サイトカイン活性化白血球による養子免疫療法の試み、第61回インターフェロン・サイトカイン研究会、東京、1996. 7.
- 5) 海老名卓三郎、藤宮芳章、田村啓二：MHC非拘束性 $\gamma$  $\delta$ T細胞による自己癌細胞に対する殺細胞効果（第3報）、第55回日本癌学会総会、横浜、1996. 8.
- 6) 山口智宏、藤宮芳章、鈴木洋一、片倉隆一、海老名卓三郎：Interleukin-15 (IL-15) はTCR- $\gamma$  $\delta$ 陽性T細胞を活性化する、第55回日本癌学会総会、横浜、1996. 8.
- 7) 鈴木洋一、横山純吉、片倉隆一、吉本隆志、藤宮芳章、海老名卓三郎：IL-2およびIL-12刺激による $\gamma$  $\delta$ T cellsにおけるTNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ の誘導、第55回日本癌学会総会、横浜、1996. 8.
- 8) 小鎌直子、村田和子、海老名卓三郎：マウスIL-12の抗腫瘍効果、Double Grafted Tumor Systemによる解析、第50回日本細菌学会東北支部総会、盛岡、1996. 8.
- 9) 海老名卓三郎：免疫初乳抗体の有効利用、第1回畜産生物学シンポジウム、つくば市、1996. 9.
- 10) 海老名卓三郎：末梢血由来 $\gamma$  $\delta$ T細胞とNK細胞を使ったBRM活性化キラー（BAK）養子免疫療法、第9回JBRM学会学術集会総会、札幌、1996. 9.
- 11) 海老名卓三郎：牛ロタウイルス感染浸淫状況と妊娠牛免疫による下痢症予防、第44回日本ウイルス学会総会、静岡、1996. 10.
- 12) 海老名卓三郎：養子免疫療法における $\gamma$  $\delta$ T細胞の役割、第34回日本癌治療学会総会、東京、1996. 11.

- 13) 鈴木洋一、藤宮芳章、山口智宏、横山純吉、片倉隆一、海老名卓三郎：IL-2 およびIL-12刺激によるglioblastoma患者末梢血由来 $\gamma$   $\delta$ T cellsの自己腫瘍に対する殺細胞効果の増強、第26回日本免疫学会総会、横浜、1996. 11.
- 14) 山口智宏、藤宮芳章、横山純吉、海老名卓三郎：IL-12によるIL-2 刺激CD8<sup>+</sup>T細胞の自己リンパ球障害活性の誘導、第26回日本免疫学会総会、横浜、1996. 11.
- 15) 海老名卓三郎、村田和子：グラム陽性嫌気性桿菌由来ペプチドグリカンの抗腫瘍活性、第70回日本細菌学会総会、宇都宮、1997. 3.
- 16) 海老名卓三郎：新しい養子免疫療法—活性化リンパ球による細胞障害活性、第14回日本応用細胞生物学研究会、仙台、1997. 3.
- 17) 海老名卓三郎：QOL向上を目指した新養子免疫（BAK, CAL）療法、第17回東北免疫研究会、仙台、1997. 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：血清Se値と癌の疫学的検討、日本微量元素学会、京都、1996.6.
- 2) 氏家重紀、菊池寛昭、涌井 昭：血清Se値と癌の関連、日本癌学会、横浜、1996. 10.
- 3) 氏家重紀、伊藤友美、菊池寛昭、涌井 昭：がん患者の血清Se値、白布がんシンポジウム、白布、1996. 7.
- 4) 菊池寛昭、氏家重紀、涌井 昭、金丸龍之介：ヌードマウス可移植性ヒト癌株における抗腫瘍効果とDNA障害との関係、第34回日本癌治療学会、東京、1996. 11.
- 5) 菊池寛昭、氏家重紀、涌井 昭：抗癌剤感受性とDNA障害の様相、第30回制癌剤適応研究会、東京、1997. 3.

○ 研究所・病理学部門

- 1) 立野紘雄、佐藤郁郎：扁平上皮癌（頬粘膜癌）の組織亜型の一例、第26回東北新潟病理検討会、仙台、1997. 2.

○ 研究所・生化学部門

- 1) 宮城妙子、徳山 聡、森谷節子、安井 明、谷口俊一郎：シアリダーゼ遺伝子導入によるB16メラノーマ細胞の癌転移抑制、第5回がん転移研究会、東京、1996. 4.
- 2) 徳山 聡、森谷節子、宮城妙子：シアリダーゼ遺伝子導入によるB16メラノーマ細胞の癌転移抑制、日本生化学会東北支部例会、弘前、1996. 5.
- 3) 宮城妙子、和田 正、秦 敬子：シアリダーゼ欠損マウスに合併するシアル酸尿症の解析、第18回糖質シンポジウム、東京、1996. 8.
- 4) 秦 敬子、森谷節子、和田 正、長谷川明、宮城妙子：ガングリオシド・シアリダーゼの基質特異性、第69回日本生化学会、札幌、1996. 8.
- 5) 吉川裕子、太田奈緒、澤田正志、徳山 聡、宮城妙子：ヒト類上皮癌KB細胞の細胞増殖時におけるガングリオシド・シアリダーゼ、第69回日本生化学会、札幌、1996. 8.
- 6) 和田 正、秦 敬子、宮城妙子：シアリダーゼ欠損SM/Jマウスにみられたシアル酸尿症の検索、

第69回日本生化学会、札幌、1996. 8.

7) 徳山 聡、和田 正、安井 明、谷口俊一郎、涌井 昭、宮城妙子：シアリダーゼ遺伝子導入によるB16メラノーマの肺転移抑制とその機構解析、第55回日本癌学会総会、横浜、1996. 10.

8) 澤田正志、吉川裕子、矢守隆夫、鶴尾 隆、涌井 昭、宮城妙子：マウス結腸癌colon26細胞の転移能に関わるシアリダーゼとシアリルトランスフェラーゼの検索、第55回日本癌学会総会、横浜、1996. 10.

○研究所・疫学部門

1) 南 優子、大内憲明、田枝督教、深尾 彰、久道 茂：集検発見良性乳腺疾患の乳がんのリスク、第55回日本癌学会、横浜、1996. 10.

○研究所・人文科学部門

1) 長井吉清、涌井 昭、山室 誠：インフォームド・コンセントに関する研究、第19回日本プライマリケア学会、広島市、1996. 6.

2) 長井吉清、涌井 昭：病状説明の在り方とQOLとの関係の一考察、第34回日本癌治療学会、東京、1996. 11.

3) 長井吉清：インフォームド・コンセントに関する研究（第2報）、合同大会、第10回日本サイコロジ学会、第2回日本緩和医療学会、柏市、1997. 3.

○医療局・呼吸器科

1) 佐藤譲治、小池加保児：SCIDマウスにおける肺癌組織移植成績と臨床背景の解析、日本肺癌学会総会、神戸、1996. 10.

2) 西條康夫、小池加保児：ヒト自己肺腺癌に対する細胞障害性Tリンパ球（CTL）の誘導と解析、日本肺癌学会総会、神戸、1996. 10.

3) 西條康夫、小池加保児：ヒト自己肺腺癌に対する高活性細胞傷害性Tリンパ球（CTL）の誘導、日本癌学会総会、京都、1996. 10.

4) 小池加保児：ARDSの診断、パネルディスカッション“ARDSの病態と治療”、日本気管食道科学会認定医大会、仙台、1996. 4.

○医療局・外科

1) 大内清昭、三国潤一、立野紘雄：大腸癌肝転移例における静脈侵襲像、厚生省1996年度班会議、東京、1996. 6.

2) 大内清昭、菅原 暢：大腸癌肝転移例における静脈侵襲像について、第34回日本癌治療学会総会、東京、1996. 11.

3) 角川陽一郎、大越崇彦、三国潤一、藤谷恒明、神山泰彦、小野日出麿、菅原 暢、大内清昭：我々が行っている膵管空腸粘膜端側吻合、第21回日本外科系連合学会、東京、1996. 6.

4) 角川陽一郎、遠藤公人、三国潤一、藤谷恒明、神山泰彦、小野日出麿、菅原 暢、大内清昭：胃癌を合併したStageIV膵体部癌長期生存の1例、第9回東北・膵・胆道癌研究会、仙台、1996. 10.

5) 藤谷恒明、大越崇彦、三国潤一、角川陽一郎、神山泰彦、小野日出麿、菅原 暢、大内清昭：Coxの比例バザードモデルによる胃癌切除術後成績の解析、第96回日本外科学会、千葉、1996. 4.

- 6) 藤谷恒明、三国潤一、角川陽一郎、神山泰彦、小野日出麿、菅原 暢、大内清昭：上部胃癌に対する噴門側胃切除術の検討、第67回胃癌研究会、富山、1996. 7.
- 7) 藤谷恒明、遠藤公人、大内清昭、他：StageIV胃癌長期生存例の検討、第68回胃癌研究会、千葉、1997. 1.
- 8) 菅原 暢、大内清昭、小野日出麿、神山泰彦、藤谷恒明、角川陽一郎、三国潤一、遠藤公人：当院における非触知乳癌例の検討、第5回乳癌懇話会、千葉、1996. 4.
- 9) 菅原 暢、大内清昭、小野日出麿、神山泰彦、藤谷恒明、角川陽一郎、三国潤一、遠藤公人：非触知乳癌例の検討、第4回日本乳癌学会、東京、1996. 6.
- 10) 菅原 暢、大内清昭：末期癌に対する在宅ケアの問題点、第34回日本癌治療学会、東京、1996. 11.
- 11) 菅原 暢：末期癌患者に対する在宅緩和医療の問題点、第2回日本緩和医療学会、千葉、1997. 3.
- 12) 小野日出麿、遠藤公人、三国潤一、角川陽一郎、神山泰彦、藤谷恒明、菅原 暢、大内清昭：大腸癌及び転移巣におけるカドヘリン、カテニンの発現についての検討、東北大腸癌研究会、仙台、1997. 2.
- 13) 神山泰彦、大内清昭、菅原 暢、小野日出麿、藤谷恒明、角川陽一郎、三国潤一、大越崇彦：大腸sm癌手術症例からみた治療方針、第45回大腸癌研究会、東京、1996. 7.
- 14) 神山泰彦、大内清昭、菅原 暢、小野日出麿、藤谷恒明、角川陽一郎、三国潤一、遠藤公人：早期直腸癌手術症例からみた外科治療方針—特に下部直腸早期癌の手術方針について、第48回日本消化器外科学会総会、東京、1996. 7.
- 15) 神山泰彦、菅原 暢、小野日出麿、藤谷恒明、角川陽一郎、三国潤一、遠藤公人、大内清昭：D1経仙骨的直腸管状切除術の工夫、第47回手術手技研究会、仙台、1996. 11.
- 16) 神山泰彦、大内清昭、菅原 暢、小野日出麿、藤谷恒明、角川陽一郎、三国潤一、遠藤公人：直腸癌局所再発からみた低位前方切除術の問題点、第49回日本消化器外科学会総会、福岡、1997. 2.
- 17) 三国潤一、遠藤公人、角川陽一郎、神山泰彦、藤谷恒明、小野日出麿、菅原 暢、大内清昭：胆嚢管を占居する胆嚢癌の予後について、第49回日本消化器外科学会総会、福岡、1997. 2.
- 18) 三国潤一、大内清昭：大腸癌肝転移切除例の原発巣・転移巣病理組織MIB-1染色、平成8年度厚生省がん研究、第1回班会議、東京、1996. 6.

○医療局・内科

- 1) 大方俊樹、本島 正、高橋 功、中野 昇、鈴木 裕、小野寺博義、桑島一郎、鶴飼克明、萱場佳郎、佐々木明德：各種胃疾患に合併した胃炎における胃粘膜ヘキソサミン量とテプレノンの効果、第52回日本消化器内視鏡学会総会、横浜市、1996. 9.
- 2) 大方俊樹：若年者胃癌の1症例、第14回仙台消化器内視鏡懇話会、仙台市、1996. 10.
- 3) 小野寺博義、鶴飼克明：インターフェロンによる肝癌の1.5次予防の可能性、DDW-JAPAN 1996、第32回日本肝臓学会総会、神戸、1996. 4.
- 4) 小野寺博義、他：ワークショップ2 腹部超音波集検の拡大をめぐって、超音波スクリーニングの今後のあり方、第34回日本消化器集団検診学会秋季大会、松江、1996. 10.
- 5) 小野寺博義、他：ミニシンポジウム「超音波集検の事後管理について」、超音波集検の事後管理、第

8 回超音波集検研究会、松江、1996. 10.

- 6) 桑島一郎、萱場佳郎、佐々木明德、本島 正、高橋 功、大方俊樹、鈴木 裕、中野 昇：名取市における大腸がん集検（第6報）、第34回日本消化器集団検診学会東北支部例会、秋田、1996. 7.
- 7) 鶴飼克明、小野寺博義、山田豊子、野池道子、岡本優子、石川和浩、白井克彦：慢性肝疾患における血中総分岐鎖アミノ酸／チロシンモル比（BTR）測定意義についての検討、第32回日本肝臓学会総会（1996年日本消化器関連学会集会）、神戸市、1996. 4.
- 8) 鶴飼克明：C型慢性肝炎に対するインターフェロン療法後の原発性肝癌の発生率、第3回山形県インターフェロン治療研究会、山形市、1996. 9.
- 9) 鶴飼克明、小野寺博義、鈴木雅貴：腹部超音波検査が発見の契機となった小腸原発悪性リンパ腫の1症例、第13回日本超音波医学会東北地方会、仙台市、1997. 3.
- 10) 鈴木雅貴、小野寺博義、高橋 功、佐々木明德、萱場佳郎、鶴飼克明、桑島一郎、本島 正、大方俊樹、鈴木 裕、中野 昇：診断に苦慮した乳頭機能栓の1例、東北腹部画像診断研究会、仙台、1996. 12.
- 11) 鈴木雅貴、小野寺博義、高橋 功、佐々木明德、萱場佳郎、鶴飼克明、桑島一郎、本島 正、大方俊樹、鈴木 裕、中野 昇：当院における胆管癌に対するIDUSの成績、第113回日本消化器内視鏡学会東北支部例会、仙台、1997. 2.
- 12) 鈴木雅貴、小野寺博義、高橋 功、佐々木明德、萱場佳郎、鶴飼克明、桑島一郎、本島 正、大方俊樹、鈴木 裕、中野 昇：胆管内隆起性病変で鑑別が困難であったpapillary foldsの2例とIDUSを用いた鑑別法、第113回日本消化器内視鏡学会東北支部例会、仙台、1997. 2.

○医療局・整形外科

- 1) 田子悟史、羽鳥正仁、他：ヒト骨外性ユーイング肉腫クローン株の樹立と性状、日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会、札幌市、1996. 7.
- 2) 田子悟史、羽鳥正仁、他：ヒト骨外性ユーイング肉腫細胞株樹立とその電顕的観察、日本整形外科学会基礎学術集会、鹿児島市、1996. 10.
- 3) 村上 享、田子悟史：ISOLA iliac screwを用いた転移性脊椎腫瘍に対する腰仙椎固定術の検討、東北整形災害外科学会、弘前市、1996. 4.
- 4) 村上 享、田子悟史：胸郭発生の原発性骨軟部悪性腫瘍の切除と再建、東北整形災害外科学会、盛岡市、1996. 10.

○医療局・脳神経外科

- 1) 鈴木洋一、片倉隆一、藤宮芳章、山口智宏、海老名卓三郎、吉本高志：glioblastomaに対する患者末梢血由来固相化CD3活性化リンパ球投与による治療、東北脳腫瘍研究会
- 2) 鈴木洋一、片倉隆一、藤宮芳章、海老名卓三郎、吉本高志：脳腫瘍患者末梢血由来TCR  $\gamma\delta$  T cellのIL-12刺激によるIL-2 receptorの誘導、日本脳腫瘍病理研究会、東京都北区
- 3) 鈴木洋一、片倉隆一、立野紘雄、吉本高志：臨床病理検討会—小児小脳虫部腫瘍の一例、日本脳腫瘍病理研究会、東京都北区
- 4) 片倉隆一、鈴木洋一、吉本高志：悪性リンパ腫に対するACNU動注療法、北日本脳神経外科学会

- 5) 鈴木洋一、片倉隆一、藤宮芳章、吉本高志：脳腫瘍患者末梢血由来 $\gamma\delta$  T cellのIL-2刺激によるInterferon- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ の産生能、第9回「脳と免疫」研究会、佐賀
- 6) 鈴木洋一、片倉隆一、藤宮芳章、山口智宏、横山純吉、海老名卓三郎、吉本高志：IL-2及びIL-12刺激による $\gamma\delta$  T cellにおけるInterferon- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ の誘導、第55回日本癌学会総会、横浜
- 7) 鈴木洋一、片倉隆一、藤宮芳章、山口智宏、海老名卓三郎、吉本高志：IL-2及びIL-12刺激によるglioblastoma患者由来 $\gamma\delta$  T cellにおけるInterferon- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ の誘導および自己腫瘍に対する殺細胞効果の検討、第55回日本脳神経外科学会総会、富山
- 8) 片倉隆一、鈴木洋一、吉本高志：中枢性悪性リンパ腫の治療と問題、第55回日本脳神経外科学会総会、富山
- 9) 鈴木洋一、片倉隆一、藤宮芳章、山口智宏、海老名卓三郎、吉本高志：IL-2及びIL-12刺激によるglioblastoma患者由来 $\gamma\delta$  T cellにおける自己腫瘍に対する殺細胞効果の増強、第26回日本免疫学会総会、横浜

○医療局・耳鼻咽喉科

- 1) 西條 茂、横山純吉、志賀清人：当科における舌癌治療について、第2回北日本頭頸部癌治療研究会、札幌、1996. 10. 12.
- 2) 志賀清人：頭頸部癌における遺伝子座9 P21領域の欠失の検討、第20回日本頭頸部腫瘍学会、福井、1996. 7. 13.
- 3) 志賀清人：PCR法を用いた頭頸部局平上皮癌患者血液中の癌細胞の検出—診断および治療への応用、第34回日本癌治療学会総会、東京、1996. 11. 1.
- 4) 志賀清人：頭頸部腫瘍患者血液中の腫瘍細胞の検出—診断および治療への応用、宮城県地方部会第86回例会、仙台、1996. 12. 7.
- 5) 志賀清人：頭頸部扁平上皮癌におけるRER (replucatrenor) の検討、宮城県地方部会第87回例会、仙台、1997. 3. 30.
- 6) 横山純吉、志賀清人、西條 茂、他：頭頸部癌における癌抑制遺伝子p53, APCの変異、日本頭頸部腫瘍学会、福井市、1996. 7.
- 7) 横山純吉、志賀清人、西條 茂、他：頭頸部癌における腫瘍抑制遺伝子p53, APC, Rbの変異、日本癌学会、横浜市、1996. 10.
- 8) 横山純吉、志賀清人、西條 茂：当科における悪性リンパ腫の臨床統計、日本耳鼻咽喉科宮城地方会、仙台市、1996. 9.
- 9) 横山純吉、志賀清人、西條 茂、松本 恒：シスプラチンの各種投与方法と体内動態、日本耳鼻咽喉科宮城地方会、仙台市、1996. 12.
- 10) 横山純吉、志賀清人、西條 茂、海老名卓三郎：頭頸部癌における自己血輸血の有用性の検討(2)、日本耳鼻咽喉科宮城地方会、仙台市、1997. 3.
- 11) 横山純吉、志賀清人、西條 茂、海老名卓三郎：悪性リンパ腫の培養法と細胞株の性状、日本口腔咽頭学会、沖縄市、1996. 9.
- 12) 横山純吉、志賀清人、西條 茂、海老名卓三郎：頭頸部癌における自己血輸血の有用性の検討(3)、

日本自己血輸血学会、神戸市、1997. 2.

○医療局・泌尿器科

- 1) 桑原正明、栃木達夫、今井克忠、大山 力：前立腺癌患者における成長ホルモン周辺物質の検討－未治療患者における治療後の変動について－、第84回日本泌尿器科学会総会、岡山、1996. 4.
- 2) 西村洋介、沼田 功、菅原圭一、今井克忠、桑原正明、栃木達夫：低浸透圧造影剤の高齢者腎機能に与える影響、第84回日本泌尿器科学会総会、岡山、1996. 4.
- 3) 白井修一、庵谷尚正、田口勝行、折笠精一、相田 聡、桑原正明：収束強力超音波局所加熱による担癌動物の治療、第84回日本泌尿器科学会総会、岡山、1996. 4.
- 4) 庵谷尚正、白井修一、神部真理子、折笠精一、金丸龍之介、桑原正明：体外衝撃波を用いたプレオマイシン細胞内導入による抗癌効果増強、第84回日本泌尿器科学会総会、岡山、1996. 4.
- 5) 栃木達夫、桑原正明、洞口龍夫、佐藤滋彰：地域医師会との協力による平成7年度前立腺がん検診結果、第214回日本泌尿器科学会東北地方会、盛岡、1996. 5.
- 6) 徳山 聡、栃木達夫、桑原正明、松本 恒、中川晴夫、今井克忠：前立腺がん全摘症例における画像診断と病理所見の比較、第215回日本泌尿器科学会東北地方会、秋田、1996. 9.
- 7) 栃木達夫、桑原正明、立野紘雄、大山 力、今井克忠：膀胱癌における集学的治療の効果について、第61回日本泌尿器科学会東部総会、東京、1996. 9.
- 8) 栃木達夫、桑原正明、立野紘雄、大山 力、今井克忠：集学的治療をした浸潤性膀胱癌における膀胱温存の試み、第34回日本癌治療学会総会、東京、1996. 11.
- 9) 桑原正明：体外衝撃波結石破碎術の過去、現在、未来、第37回高圧討論会、仙台、1996. 11.
- 10) 桑原正明、栃木達夫：PSA gray-zone症例におけるsystematic biopsy結果とPSA、病理所見の検討、平成8年度厚生省がん研究補助金、第2回班会議、東京、1996. 11.
- 11) 栃木達夫、徳山 聡、桑原正明：再燃前立腺癌と内分泌療法非奏効例に対する化学療法と放射線療法の治療成績、第1回東北泌尿器悪性腫瘍研究会、青森、1996. 11.
- 12) 栃木達夫、徳山 聡、桑原正明、立野紘雄（病理）：浸潤性膀胱癌における集学的治療の効果と膀胱温存の試み、第4回腫瘍循環病態研究会、仙台、1997. 1.
- 13) 桑原正明、栃木達夫：PSA gray-zone症例におけるバイオプシーの適応について、岩手腎癌研究会、盛岡、1997. 3.

○医療局・放射線科

- 1) 菱沼民生、星 章彦、松本 恒、小田和浩一、浅川 洋：Stereotactic radiosurgeryによる転移性脳腫瘍の治療成績、第55回日本医学放射線学会総会、横浜市、1996. 4. 3.
- 2) 菱沼民生、星 章彦、松本 恒、小田和浩一、浅川 洋：当院における乳癌術後予防照射症例の検討、第4回日本乳癌学会総会、東京都、1996. 6. 28.
- 3) 菱沼民生、星 章彦、松本 恒、小田和浩一、浅川 洋：乳癌術後照射後に房室ブロックをきたした1症例、第19回福島、宮城乳腺疾患研究会、福島市、1996. 9. 21.
- 4) 菱沼民生、星 章彦、浅川 洋：他臓器転移を有する4期食道癌症例に対する放射線治療、第34回日本癌治療学会総会、東京都、1996. 11. 2

- 5) 小川芳弘ら：子宮体癌の放射線治療成績、日本医学放射線学会総会、1996. 4.
- 6) 小川芳弘ら：子宮頸部腺癌の放射線治療、日本医学放射線学会北日本地方会、1996. 6.
- 7) 小川芳弘ら：子宮頸癌の放射線治療－SCC抗原が予後に及ぼす影響－、日本医学放射線学会北日本地方会、1996. 11.
- 8) 星 章彦、菱沼民生、松本 恒、小田和浩一、山本理佳、浅川 洋：子宮頸癌の放射線治療におけるSCC抗原の意義、日本医学放射線学会北日本地方会、1996. 11.
- 9) 松本 恒、小田和浩一、山本理佳、菱沼民生、星 章彦、浅川 洋：原発性肺癌における脳転移の検討－病期、組織型別による転移頻度の検討－、日本医学放射線学会北日本地方会、1996. 6.

○臨床検査技術部

- 1) 石川和浩、野池道子、岡本優子、山田豊子、白井克彦、和田 正、秦 敬子、宮城妙子：癌患者血清におけるシアリルトランスフェラーゼ活性レベルの検討、第45回日本臨床衛生検査学会、幕張メッセ国際会議場、1996. 5.
- 2) 小室邦子、佐藤郁郎、武田鐵太郎、大沼眞喜子、植木美幸、阿部美和、桑原正明、中村克宏、立野紘雄、川村紀子：尿細胞診標本作製法の検討、第37回日本臨床細胞学会総会、盛岡、1996. 6.
- 3) 小室邦子、佐藤郁郎、大沼眞喜子、植木美幸、阿部美和、田勢 亨、地子久美子、桑原正明、中村克宏、立野紘雄、武田鐵太郎：膀胱病変における圧挫細胞像について、第33回日本臨床細胞学会東北支部連合会、秋田、1996. 7.
- 4) 小室邦子、佐藤郁郎、大沼眞喜子、植木美幸、阿部美和、田勢 亨、地子久美子、桑原正明、立野紘雄、武田鐵太郎：尿細胞診における標本作製法の検討－2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定法を中心にして－、第11回日本臨床細胞学会宮城県支部、仙台、1997. 2.
- 5) 小室邦子、佐藤郁郎、大沼眞喜子、植木美幸、阿部美和、田勢 亨、地子久美子、横山純吉、立野紘雄、武田鐵太郎：顎下腺原発成人T細胞性リンパ腫の1例、第11回日本臨床細胞学会宮城県支部、仙台、1997. 2.

○診療放射線技術部

- 1) 渡邊信二：がんセンターにおける核医学の現状、みちのく核医学研究会、仙台、1996. 8.
- 2) 菅 尚明、荒ふみ子、金子美和子、千葉俊雄、早川博文：リニアックによるラジオサージェリーの照射条件に伴う線量分布の変化、日本放射線技師会総合学術大会、千葉、1996. 11.

○看護部

- 1) 大友美佐子、布田基子、平岡玲子、桜井能里子：局所管理困難なストーマケア－長期使用の非粘着性装具による皮膚障害－、第13回宮城ストーマケア研究会、東北大学医学部臨床講堂、1996. 11.
- 2) 稲村佳代子、後藤けい子、村上則子、星 明恵、千葉颯子、木戸浦由美、笹原祐子、山内宗子、佐々木恵美子：ストーマ造設患者への精神的アプローチ、第13回宮城ストーマケア研究会、東北大学医学部臨床講堂、1996. 11.
- 3) 横山和子、鈴木かよ、菊地寛子、佐藤由美子、門脇由佳、渋谷幸江、佐藤寛子、岡崎節子、船迫好子、菊池かづ子：ストーマ装具の選定と指導について－83歳高齢者の事例より－、第13回宮城ストーマケア研究会、東北大学医学部臨床講堂、1996. 11.

- 4) 亀井理歩、榊田香代子、浅野洋子：人工股関節全置換術術野の消毒効果の検討ーイソジンブラッシング法を通してー、平成8年度県立病院看護部「看護研究発表会」、宮城県庁行政庁舎会議室、1997. 1.
- 5) 大和理恵子：食道癌患者の看護を通しての学びー患者の訴えを聴くということー、平成8年度県立病院看護部「看護研究発表会」、宮城県庁行政庁舎会議室、1997. 1.
- 6) 二階堂せい子、鈴木ミツ子：注腸X線検査におけるディスポパンツの有用性について、平成8年度県立病院看護部「看護研究発表会」、宮城県庁行政庁舎会議室、1997. 1.
- 7) 菅野小百合：上部消化管内視鏡検査における生検についてーコ・メディカルの役割と現状ー、第15回東北地区内視鏡技師研究会、東北大学医学部臨床講堂、1996. 12.

## 第2章 論文発表

### a. 英文誌

#### ◦ 研究所・免疫学部門

- 1) Ebina, T. : Prophylaxia of rotavirus gastroenteritis using immunoglobulin. Arch. Virol. 12, 217-223, 1996.
- 2) Ebina, T. : Recent advances in *Coriolus versicolor* (Polysaccharide K) research as an immunomodulator. Korean J. B. R. M. 6, 295-298, 1996.

#### ◦ 研究所・薬物療法学部門

- 1) Hiroaki Kikuchi, Shigeki Ujiie, Akira Wakui, Akiko Yokoyama and Ryunosuke Kanamaru : Features of DNA oligonucleosomal fragmentation in human tumor cell lines and its detection by flow cytometry : utility and limitations. Jpn. J. Cancer Res. 88, 56-63, 1997.

#### ◦ 研究所・生化学部門

- 1) Uehara K., Ohba N., Sameshima M., Yanagita T., Iwakiri N., Ozawa M. and Miyagi T. : Immunohistochemical localization of cytosolic sialidase in photoreceptor cells. Jpn J. Ophthalmol. 40, 187-191, 1996.
- 2) Akita H., Miyagi T., Hata K. and Kagayama M. : An immuno-histochemical evidence of the existence of rat cytosolic sialidase in rat skeletal muscle. Histochem. Cell Biol. 107, 495-503. 1997.

#### ◦ 研究所・疫学部門

- 1) Fukao A., Tsubono Y., Kawamura M., Ido T., Akazawa N., Tsuji I., Komatsu S., Minami Y., and Hisamichi S. : The independent association of smoking and drinking with serum  $\beta$ -carotene levels among males in Miyagi, Japan. Int J Epidemiol. 25, 300-316, 1996.

#### ◦ 医療局・呼吸器科

- 1) S. Iwabuchi, K. Koike : Vasoactive intestinal peptide causes nitric oxide-dependent pulmonary vasodilation in isolated rat lung. Respiration 64:54-58, 1997.

#### ◦ 医療局・外科

- 1) Ouchi K, Sugawara T, Ono H, Fujiya T, Kamiyama Y, Kakugawa Y, Miki J and Tateno H : Histologic features and clinical significance of venous invasion in colorectal carcinoma with hepatic metastasis. Cancer. 78, 2313-2317, 1996.

#### ◦ 医療局・内科

- 1) Hiroyoshi Onodera, Katsuaki Ukai, Masaki Suzuki and Yuko Minami : Incidence of hepatocellular carcinoma after interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. Tohoku J. Exp. Med. 181:275-283, 1997.

○医療局・耳鼻咽喉科

- 1) Junkichi Yokoyama, Kiyoto Shiga and Hironobu Sasano, et al: Abnormalities and the implication of retinoblastoma locus and its protein product in head and neck cancers. *Anticancer Reserch* 16:641-644. 1996.

b. 邦文誌

○研究所・免疫学部門

- 1) 海老名卓三郎、藤宮芳章、小鎌直子、佐々木裕子、阿部美和、立野紘雄、横山純吉、鈴木洋一、片倉隆一、丹野兼夫: MHC非拘束性末梢血由来  $\gamma\delta$ T細胞による自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果、*医学のあゆみ* 177、333-334、1996.
- 2) 海老名卓三郎、小鎌直子、村田和子、佐々木隆志: グラム陽性嫌気性桿菌由来Peptideglycanの抗腫瘍活性、*Biotherapy* 10、867-872、1996.
- 3) 海老名卓三郎: 大腸癌に対するBRM局所療法の抗腫瘍免疫増強機構解析、*臨床成人病* 26、1254-1256、1996.
- 4) 海老名卓三郎、磯野法子、村田和子、横山純吉、三国潤一、大内清昭: 活性化リンパ球による局所療法、*癌と化学療法* 23、1549-1552、1996.
- 5) 海老名卓三郎: 新しい免疫療法—がんと共生する、*きょうの健康* 104、134-137、1996.
- 6) 海老名卓三郎:  $\gamma\delta$ T細胞による腫瘍細胞傷害、*臨床免疫* 29、274-280、1997.
- 7) 海老名卓三郎: 養子免疫療法における  $\gamma\delta$ T細胞の役割、*Biotherapy* 11、181-186、1997.
- 8) 海老名卓三郎: 末梢血由来  $\gamma\delta$ T細胞とNK細胞を使ったBRM活性化キラー (BAK) 養子免疫療法、*Biotherapy* 11、347-349、1997.

○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: 血情Se値と癌の疫学的検討、*Biomedical Research on Trace Elements* Vol.7、No.3、205-206、1996.
- 2) 氏家重紀、伊藤友美、菊池寛昭、涌井 昭: 血情Se値と癌の疫学的検討、*癌と化学療法*、Vol. 24、No.4、401-405、1997.

○研究所・生化学部門

- 1) 宮城妙子: シアリダーゼとがん転移、*細胞工学*、15、745-751、1996.
- 2) 宮城妙子: シアリダーゼ遺伝子、*グリコバイオロジー実験プロトコール* (谷口直之、鈴木明身、古川清、菅原一幸 監修) 秀潤社、東京、118-123、1996.
- 3) 宮城妙子: シアル酸とがん転移、*名取岩沼医師会報*、51、2-6、1996.
- 2) 宮城妙子: シアリダーゼ発現によるシアル酸糖鎖の改変、*医学のあゆみ*、180、653-657、1997.

○研究所・疫学部門

- 1) 小松正子、南 優子、佐藤洋三、土屋 晃、森あさひ、久道 茂: わが国の低体重児および早期産の発生・増加の要因に関する考察—人口動態統計資料等による統計分析—、*厚生省特* 43(8)、14-20、1996.
- 2) 南 優子、深尾 彰、久道 茂、高野 昭、西郡光昭、山本玲子: 難病患者の追跡調査、*厚生省特*

定疾患難病の疫学調査研究班平成7年度研究業績集、300-303、1996.

◦ 研究所・人文科学部門

1) 長井吉清、濃沼信夫：加重平均入院自足率による医学圏の評価、病院管理、33(4)、57-62、1996.

◦ 医療局・呼吸器科

1) 鈴木 聡、小池加保児：放射線照射後急性期における肺胞上皮を介した $\text{Na}^+$ と水分輸送能の変化、日胸疾会誌、35(2)：167-171、1997.

2) 鈴木 聡、小池加保児：ラット培養肺胞Ⅱ型上皮細胞 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ の活性調節における培養時間の影響、日胸疾会誌、34(5)：506-510、1996.

3) 芦野有悟、小池加保児：透過性肺水腫における胸水動態の解明—胸膜透過係数からみた胸膜中皮の役割—、呼吸、15(4)：436-441、1996.

4) 鈴木 聡、小池加保児：培養血清がラット肺胞Ⅱ型上皮細胞 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ の活性調節に及ぼす影響、呼吸、15(9)：1040-1045、1996.

◦ 医療局・外科

1) 三国潤一、大内清昭、松野正紀：肝切除と脂肪投与—その現状と将来の展望、JJPEN. Vol. 18. No. 7, 1996.

◦ 医療局・内科

1) 小野寺博義、鶴飼克明、松本 恒、小田和浩一、他：UFT経口投与で壊死に陥った肝細胞癌の1例、癌と化学療法、23(7)：911-913、1996.

2) 鶴飼克明、小野寺博義、山田豊子、野池道子、岡本優子、石川和浩、白井克彦：慢性肝疾患における血中総分岐鎖アミノ酸/チロシンモル比(BTR)測定意義、現代医療、28、123-128、1996.

3) 鶴飼克明、小野寺博義：肝障害の見方—肝機能検査の解釈を中心に—、宮医報、605、382-387、6.

4) 鶴飼克明、小野寺博義：肝硬変の臨床、名取岩沼医師会報、54、2-5、1997.

5) 佐々木明德、他：インスリン非依存糖尿病(NIDDM)患者における尿中トランスフェリン、アルブミン排泄と糖尿病性網膜症との関係、臨床と研究、74(1)、231-235、1997.

◦ 医療局・麻酔科

1) 山室 誠：がん患者の痛みの治療の基本、臨床看護22：1865-1873、1996.

2) 山室 誠：終末期医療に携わる医師の在り方—ペインクリニック医の立場から—、治療79：45-48、1997.

◦ 医療局・耳鼻咽喉科

1) 志賀清人、横山純吉、西條 茂、宮城妙子、松浦一登、高坂知節：頭頸部癌における遺伝子座9p21領域の欠失の検討、頭頸部腫瘍 23(1)、165-172、1997.

2) 横山純吉、志賀清人、西條 茂、海老名卓三郎：頭頸部癌における自己血輸血の有用性の検討、自己血輸血 9：190-197、1997.

◦ 医療局・放射線科

1) 菱沼民生：食道癌根治放射線治療成績—新しい群分類の臨床的有用性の検討—、日本医学放射線学

会雑誌、57(4)：31-38、1997.

- 2) 菱沼民生、星 章彦、浅川 洋：乳癌骨転移症例における予後因子の検討－予後予測と治療方針、日本癌治療学会誌、32(2)：179-185、1997.

○医療局・脳神経外科

- 1) 片倉隆一、鈴木洋一：転移性脳腫瘍の治療、名取岩沼医師会報、No.52.
- 2) 片倉隆一、鈴木洋一、星しげ子：補助療法の全身管理と看護、BRAIN NURSING Vol. 12、No.11：30-34、1996.

○臨床検査技術部

- 1) 小室邦子、佐藤郁郎、武田鐵太郎、小野寺博義、大沼眞喜子、植木美幸、阿部美和、中村克宏、立野紘雄：擦過細胞診による胆嚢癌診断の有用性と適用限界について、日本臨床細胞学会誌、35：401-408、1996.
- 2) 小室邦子、加藤浩之、植木美幸、阿部美和、佐藤裕美子、白井克彦：尿細胞診における標本作製法の検討－2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定法を中心として－、医学検査、46：48-51、1997.
- 3) 阿部美和、佐藤郁郎、小室邦子、大沼眞喜子、植木美幸、立野紘雄、村田孝次、武田鐵太郎：奇怪な細胞像を呈し良悪性の鑑別が問題となった髄膜腫の2例、日本臨床細胞学会雑誌、第35巻第3号、262-269、1996.

○看護部

- 1) 鈴木ミツ子、曾我ふく子：下血時の内視鏡室での対応と病棟との連携、「上部消化管出血（タール便）を症状とした患者の事例を通して」、総合消化器CARE Vol. 1、No.6、31-40、1996.

## 第3章 著 書

### ○ 研究所・人文科学部門

- 1) 長井吉清：地域医療計画からみた地域がん診療施設の整備拡充に関する研究、厚生省班会議報告書、1997.

### ○ 医療局・呼吸器科

- 1) 小池加保児：肺・縦隔手術、外科病棟医のための術前・術後管理、小澤和恵、杉町圭蔵、松野正紀、金原出版、221-225、1996.

### ○ 医療局・外科

- 1) 大内清昭：胆嚢癌、消化器外科学レビュー'97、総合医学社、197-200、1997.

### ○ 医療局・麻酔科

- 1) 山室 誠：釘宮豊城、高橋成輔、土肥修司 編集：図説最新麻酔科学シリーズ4：痛みの臨床：癌性疼痛、メジカルビュー社、東京、1996、pp101-116.
- 2) 山室 誠：高齢者在宅療養普及・啓発委員会マニュアル作成分科会、編集；在宅ホスピス・ケアマニュアル（患者・介護者用）：症状を和らげるための治療法について、法規出版、1997、pp99-130.

## 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：病原性大腸菌O-157による食中毒について、名取市医談会、仙台、1996. 7. 12.
- 2) 海老名卓三郎：新しい養子免疫療法（BAK, CAL）、第46回福島免疫懇談会、福島、1996. 10. 1.
- 3) 海老名卓三郎：新しい免疫療法ーがんと共生する、NHKテレビ「きょうの健康」、1996. 11. 28.
- 4) 海老名卓三郎：がん免疫療法の現況、第38回泉外科勉強会、仙台、1997. 1. 21.
- 5) 海老名卓三郎：癌免疫療法とQOL、東京文化放送「家庭医学」、1997. 3. 9.

### ○ 研究所・生化学部門

- 1) 宮城妙子：シアリダーゼと癌転移、中国長春市白求恩医科大学、1996. 9.
- 2) 宮城妙子：シアリダーゼの構造と機能、宮城県農業センター、1996. 9.
- 3) 宮城妙子：ガングリオシドを水解するシアリダーゼの構造と機能、東北大・神経内科セミナー、1996. 11.
- 4) 宮城妙子：細胞の増殖・分化に関わるシアリダーゼ、東北大・加齢研セミナー、1996. 12.

### ○ 医療局・内科

- 1) 大方俊樹：Helicobacter Pylori除菌の意義、宮城県女子薬剤師会総会、仙台市（宮城県婦人会館）、1996. 6.
- 2) 小野寺博義：肝臓癌の超音波診断とその治療、第5回太白区内科勉強会、仙台、1996. 10.
- 3) 小野寺博義：肝臓癌の治療の選択と実際、第5回肝疾患治療研究会、岩沼、1996. 11.
- 4) 小野寺博義：肝臓外来における肝臓癌の拾い上げ、第112回宮城腹部エコー同好会、仙台、1996. 11.
- 5) 桑島一郎：大腸がん診療の現況ー内視鏡治療を中心にー、亶理郡医師会、平成8年度宮城県成人病検診従事者指導講習会（第3回）、亶理、1996. 12.
- 6) 桑島一郎：大腸がんの予防、名取が丘公民館雑学セミナー、名取が丘公民館、1997. 3.
- 7) 小野日出麿、神山泰彦、萱場佳郎、佐々木明德、桑島一郎：大腸がん診療の実際、仙南消化器研究会、がんセンター、1996. 6.
- 8) 鶴飼克明：C型慢性肝炎に対するIFN療法の現状、白石市医師会学術講演会、白石市、1996. 4.
- 9) 鶴飼克明：肝硬変の臨床、名取岩沼医師会学術講演会、岩沼市、1996. 12.
- 10) 佐々木明德：糖尿病について、私的病院栄養士会研修会、仙台青年文化センター、1996. 10. 3.

### ○ 医療局・呼吸器科

- 1) 小池加保児：急性呼吸促進症候群の現状、仙南呼吸器懇話会、柴田町、1996. 8.

### ○ 医療局・耳鼻咽喉科

- 1) 西條 茂：頭頸部癌治療のトピックス、長崎県耳鼻咽喉科専門医講座、長崎市、1996. 5. 16.
- 2) 横山純吉：頭頸部癌における自己血輸血、麒麟社外研修、仙台、1996. 5.

### ○ 医療局・整形外科

- 1) 村上 享：転移性脊椎腫瘍に対する手術療法、東北大学脊椎外科セミナー、仙台市、1996. 10.

○医療局・麻酔科

- 1) 山室 誠：がん患者の訴える痛みの治療（シンポジスト）、第35回全国自治体病院学会、総合シンポジウム「末期医療の推進に向けて」、大宮ソニックシティ、1996. 10. 23、
- 2) 山室 誠：在宅医療－がん患者の疼痛治療を中心に－（シンポジウム司会）、第30回ペインクリニック学会総会、東京、1996. 7. 18.
- 3) 佐藤 智：在宅医療－がんセンター麻酔科医の立場から－（シンポジスト）、第30回日本ペインクリニック学会総会、シンポジウム、東京、1996. 7. 19.



## 第5章 論文別刷集



## Prophylaxis of rotavirus gastroenteritis using immunoglobulin

T. Ebina

Division of Immunology, Research Institute Miyagi Cancer Center,  
Natori, Miyagi, Japan

**Summary.** Oral inoculation of the human group A rotavirus MO strain (G serotype 3) into 5-day-old BALB/c mice causes gastroenteritis characterized by diarrhea. Using this small animal model, passive protection of suckling mice against human rotavirus infection was achieved with the use of immunoglobulin (IgY) from the yolks of eggs of rotavirus-immunized hens. When IgY against the rotavirus strain homotypic with the challenge virus (MO strain) was administered to mice, complete protection was achieved. After immunizing 8-month old pregnant Holstein cows with human rotavirus MO strain, colostrum containing neutralizing antibody to four different G serotypes of human rotavirus, designated Rota colostrum, was obtained. Rota colostrum completely protected suckling mice against rotavirus infection, and purified IgG obtained from Rota colostrum protected against infection with the homologous virus. After randomly grouping 20 infants from a baby care center, 10 infants received 20 ml of Rota colostrum for 2 weeks and 10 control infants received none. Rotavirus-associated diarrhea developed in 7 of the 10 infants in the control group. None of the three infants in the group daily receiving the Rota colostrum had such symptoms, and one of three infants in the group receiving treatment, every other day developed rotavirus-induced diarrhea. Oral administration of Rota colostrum seems to be an effective and safe means of preventing diarrhea caused by human rotavirus infection. Recently, the immunized cows were boosted by reinjection of 4 serotypes of human rotavirus into a superficial cervical lymph node two weeks after delivery, resulting in mass production of cow's milk containing a high-titered antibody to human rotavirus. Therefore, the hyperimmune cow's milk is a candidate for a "physiologically functional food" in Japan.

### Introduction

Group A rotaviruses were first recognized in 1973 as causes of infectious gastroenteritis in infants and are now known to be the leading cause of severe diarrhea in infants and young children throughout the world. Vaccine development is in progress, but difficulty has emerged in obtaining sufficiently broad protection against disease caused by the several human rotavirus VP7 (G)

serotypes. The principal failure of vaccine candidates in field trials has been due to the limited immune response elicited in mucosal regions where rotavirus infections occur. The most important protection factor against the development of rotavirus diarrhea is the presence of specific antibody in the lumen of the small intestine. In order to analyze the precise mechanism by which rotavirus-induced gastroenteritis can be prevented with immunoglobulins, we needed a small animal model of experimental infection initiated by a human rotavirus. We have succeeded in inducing typical gastroenteritis in suckling BALB/c mice infected with a human rotavirus (MO strain). The MO strain was isolated and adapted to cell culture growth in our laboratory in 1982 [8].

Five day old suckling BALB/c mice were orally inoculated with a single dose of  $10^6$  fluorescent cell focus forming units, hereafter abbreviated FCFU, of group A human rotavirus serotype 3, MO strain, in 50  $\mu$ l of minimum essential medium (MEM). Infant mice were inspected daily for past diarrhea as revealed by anal smears and for existing diarrhea after gentle palpation of the abdomen. Successful rotavirus infections in suckling mice were characterized by the development of diarrhea 24 hrs postinoculation. Forty eight hrs after infection, 66/74 (about 90%) of animals inoculated with MO virus developed diarrhea. The infections usually resolved by the 4th to 5th day postinoculation without mortality. Viral shedding in fecal samples was detected by analysis of samples using electron microscopy at 24 and 48 hours after infection. Mice inoculated with the MO virus and MEM-inoculated control mice were sacrificed 24 hrs after inoculation. A loss of microvilli of enterocytes, degenerated enterocytes with intracytoplasmic vacuoles and an interstitial edema of villi were evident in the small intestines of MO-infected mice. Indirect immunofluorescent staining with antirotavirus guinea pig serum and FITC-conjugated anti-guinea pig IgG of the jejunum from a suckling BALB/c mouse was performed. In a rotavirus-infected intestine, 24 hrs after oral administration of the MO strain, the loss of microvilli and intracytoplasmic staining of rotavirus antigens in epithelial cells were noted [3, 4].

### Results and discussion

This paper describes use of this animal model to evaluate passive protection of suckling mice using immunoglobulin Y (IgY) from egg yolk and milk from hyperimmune cows. A study in infants also is described.

#### *Passive protection of suckling mice against human rotavirus infection using IgY*

Passive protection of suckling mice against human rotavirus infection was achieved with the use of IgY from the yolks of eggs of rotavirus-immunized hens. Five-month-old Diya Cross B34 strain of specific-pathogen-free white leghorn hens were immunized intramuscularly four times with  $10^7$  FCFU of the Wa (serotype G1) or MO (serotype G3) strain of human rotavirus with complete Freund's adjuvant at intervals of one or two weeks. The water-soluble protein

fraction from egg yolk collected every week was passed through filter paper, and assayed for neutralizing antibody titer against human rotavirus. After three immunizations with the Wa strain, neutralizing antibody (NT) titers in water-soluble protein from egg yolks rose to more than 11 000. After a booster injection, NT titers rose to a maximum of 450 000. We also isolated IgY from water-soluble protein fractions. Purified IgY fractions from water-soluble protein were finally filtered through a membrane filter and freeze-dried in powder form. The molecular weight of IgY is slightly larger than that of serum IgG; except for this, IgY is comparable to serum IgG.

The effect of egg-derived anti-MO IgY was tested in MO rotavirus-infected mice. Three hours before they were infected with  $10^6$  FCFU of the MO strain, 50  $\mu$ l of anti-MO IgY solution was orally administered to 5-day-old BALB/c mice. Anti-MO IgY completely prevented diarrhea in mice infected with the MO strain. On the other hand, immunoglobulins isolated from egg yolks of unimmunized hens failed to prevent diarrhea. Anti-MO IgY prevented rotavirus gastroenteritis in this mouse model in a dose-dependent manner. Anti-Wa IgY isolated from the yolks of eggs from hens immunized with the heterotypic Wa strain of human rotavirus was capable of preventing MO-induced gastroenteritis; however, anti-Wa IgY solution diluted 10-fold did not prevent gastroenteritis. To determine the relative contribution of homotypic and heterotypic neutralizing activity in protecting suckling mice against MO virus challenge, we titrated the *in vivo* protective activity of a homotypic (MO) and heterotypic (Wa) IgY in suckling mice. Anti-Wa IgY protected mice against MO-induced gastroenteritis at a dilution of 1:5, whereas anti-MO IgY protected against MO-induced gastroenteritis at a dilution of 1:1 000. That is, protection against disease was closely correlated with the *in vitro* neutralizing activity of IgY against the MO virus [3, 7].

#### *Passive protection of suckling mice using hyperimmune cow's milk*

Eight-month pregnant Holstein cows were immunized subcutaneously with  $10^7$  FCFU of the Wa, KUN (serotype G2) or MO strain three times with complete Freund's adjuvant at 10 day intervals [1, 2, 5]. Colostrum collected on the first three days (5 L each) was immediately cooled and stored. Butter fat was removed by a cream separator, and bacteria and red blood cells were removed by three centrifugations at 10 000 g for 30 min. each. Colostral nonfat milk was tested for bacterial count and the absence of *E. coli* before being approved for drinking; approved milk was lyophilized in 20-ml units and stored until administration. MO-immune colostrum (lot 3-16) contained the highest NT titers and unimmunized colostrum contained no NT antibody against any of four human rotaviruses. The effect of Rota colostrum in MO rotavirus-infected mice was observed. One hour before being infected with  $10^6$  FCFU of the MO strain, 50  $\mu$ l of colostrum was orally administered to 5-day-old BALB/c mice. Rota colostrum completely prevented diarrhea in mice infected with the MO strain. On the other hand, normal colostrum failed to prevent diarrhea [5].

*Passive protection of infants given hyperimmune cow's milk*

The effect of Rota colostrum on human rotavirus infections was next investigated. Six infants in a baby care center were orally given 20 ml of Rota colostrum (lot 3-16), (group A) every morning [3] or (group B) every other morning [3]. Four other infants (group C) were given the colostrum when they first showed signs of gastrointestinal upset. Ten control infants did not receive Rota colostrum. Sporadic cases of acute gastroenteritis were observed in the baby care center. No other viruses except rotaviruses in stool samples were detected by electron microscopy. Eventually, rotavirus associated diarrhea developed in 7/10 infants in the control group. All four infants group C who received Rota colostrum after symptoms of gastrointestinal upset appeared developed diarrhea. One of three infants in group B and none of the three infants in group A developed rotavirus induced diarrhea. These results suggest that Rota colostrum prevented the outbreak of diarrhea. Our present work confirms the efficacy of a 2-week course of oral administration of Rota colostrum before an outbreak of rotavirus infection in a baby care center. We also isolated immunoglobulins from Rota colostrum. After casein had been removed by acid precipitation, colostrum whey was applied to a protein G-Sepharose affinity column. The IgG fraction prevented rotavirus-induced gastroenteritis in our mouse model in a dose-dependent manner. Moreover, the main fraction of immunoglobulin of colostrum, IgG<sub>1</sub>, also prevented rotavirus-induced gastroenteritis in a dose-dependent manner. Therefore, oral administration of Rota colostrum seems to be an effective and safe means of preventing diarrhea caused by human rotavirus infection.

*Development of a method to produce large quantities of hyperimmune cow's milk*

In order to produce a large quantity of antibodies for immunization, previously immunized cows were re-immunized after they delivered, resulting in a high titer of neutralizing antibody in normal milk [6]. Table 1 shows an immunization and sampling procedure. Two months prior to delivery, Holstein cows received three intramuscular doses each of four serotypes of human rotaviruses. Immediately after delivery, colostrum was collected. Two weeks after delivery, the Holsteins were re-immunized with the four human rotaviruses in the superficial cervical lymph node, and on day 33 after delivery, 20 liters of normal milk was collected. A large quantity of nonfat milk was collected aseptically, without heating, by continuous centrifugation at  $20\,000 \times g$  on day 33 after delivery using a newly developed continuous centrifuge CC-17 manufactured by Hitachi Koki, Co., Ltd., Hitachinaka, Japan. The flow rate of the sample was 10 L/hour. The nonfat milk was then placed in vials (each vial contained 20 ml of milk) and was freeze dried. The titers of neutralizing antibody against the human rotavirus-MO strain in CC-3 (colostrum collected on day 3 after delivery), CC-5 (colostrum collected on day 5 after delivery), and CC-33 (milk collected on day 33 after delivery), were 5 393, 5 132, and 2 652, respectively (Table 2). Even the milk from these immuniz-

**Table 1.** Immunization and sampling procedure

Date of procedure		Route of injection
July 14:	complete Freund's adjuvant (2 ml) + Wa, KUN, MO and ST-3 (serotype G4) strains of human group A rotavirus (0.5 ml each)	i.m.
Aug. 11:	incomplete Freund's adjuvant (2 ml) + 4 strains of human rotavirus (2 ml)	i.m.
Sept. 8:	IFA (2 ml) + 4 strains of HRV (2 ml)	i.m.
Sept. 25:	delivery	
(day 0)		
Sept. 28:	colostrum (CC-3) sampling	
Sept. 30:	colostrum (CC-5) sampling	
Oct. 8:	IFA (2 ml) + 4 strains of HRV (2 ml)	intra lymph node booster
Oct. 26:	milk (CC-33) sampling	

**Table 2.** Neutralizing antibody titers against human rotavirus MO strain in cow colostrum and milk

Sample	NT titer*
Colostrum CC-3	5393
Colostrum CC-5	5132
Milk CC-33	2652

\*Titers are expressed as the reciprocal of sample dilution showing a 50% reduction in FCFU per visual field

ed animals contained a high titer of neutralizing antibody. When 50 µl of each sample was administered orally to mice one hour prior to infection, the onset of diarrhea was completely prevented (Table 3). In other words, when previously immunized cows were re-immunized in the lymph node after delivery, a high titer of neutralizing antibody was obtained in subsequent milkings. Approximately 20 L/day of high-titer milk can be collected for 100 days after delivery from each re-immunized cow. Consequently, because large scale production of the antibody is possible, the antibody can be developed for use as a "physiologically functional food" in Japan rather than as a passive vaccine. The definition of a "physiologically functional food" is: 1) the manufacturing process is clearly defined, 2) the functional food contains a "functional agent" that possesses a special property, and the chemical structure of the agent is known, 3) its configuration and quantity in the food are known, 4) the mechanism of action of

**Table 3.** Preventive effect of cow colostrum and milk against MO-induced diarrhea

Sample	Litter	No. of mice	No. with diarrhea (days after infection)				Diarrhea (affected/total)	% with diarrhea
			1	2	3	4		
Control MEM	A	7	4	1	3	0	10/15	66.7
	B	8	4	5	6	0		
Colostrum CC-3	C	5	0	0	0	0	0/13	0
	D	8	0	0	0	0		
Colostrum CC-5	E	7	0	0	1	0	1/12	8.3
	F	5	0	0	0	0		
Milk CC-33	G	4	0	0	0	0	0/11	0
	H	7	0	0	0	0		

One hour before being challenged with  $10^6$  FCFU of the human rotavirus MO strain, 6-day-old BALB/c suckling mice were orally inoculated with 50  $\mu$ l of sample

the agent is known, 5) the agent is stable in the food product, and 6) the product is accepted as a food. Therefore, both colostrum and milk from human rotavirus-immunized cows contain a functional agent, immunoglobulin, and are thus suitable for use as "physiologically functional food" that can prevent the onset of human rotavirus-induced diarrhea. Future applications of this product appear promising.

### Acknowledgements

I express my thanks to Dr. Minoru Ohta, Kawatabi Farm, Faculty of Agriculture, Tohoku University, and to Dr. Yoshihiro Kanamaru of the Department of Food Science, Gifu University, for their generous collaboration and to Ms. Eiko Ohkubo for her editorial assistance. This work was supported in part by a grant from the Sendai Institute of Microbiology and from the Ministry of Education, Science, and Culture of Japan.

### References

1. Ebina T, Sato A, Umezu K, Ishida N, Ohyama S, Oizumi A, Aikawa K, Katagiri S, Katsushima N, Imai A, Kitaoka S, Suzuki H, Konno T (1983) Prevention of rotavirus infection by cow colostrum containing antibody against human rotavirus. *Lancet* 2: 1029-1030
2. Ebina T, Sato A, Umezu K, Ishida N, Ohyama S, Oizumi A, Aikawa K, Katagiri S, Katsushima N, Imai A, Kitaoka S, Suzuki H, Konno T (1985) Prevention of rotavirus infection by oral administration of cow colostrum containing antihuman rotavirus antibody. *Med Microbiol Immunol* 174: 177-185
3. Ebina T, Tsukada K, Umezu K, Nose M, Tsuda K, Hatta H, Kim M, Yamamoto T (1990) 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

4. Ebina T, Tsukada K (1991) Protease inhibitors prevent the development of human rotavirus-induced diarrhea in suckling mice. *Microbiol Immunol* 35: 583–588
5. Ebina T, Ohta M, Kanamaru Y, Osumi YY, Baba K (1992) Passive immunizations of suckling mice and infants with bovine colostrum containing antibodies to human rotavirus. *J Med Virol* 38: 117–123
6. Ebina T, Ohta M, Uchiwa H, Murakami U (1994) Production of anti-hair keratin antibody and its characteristics: Utilization of cow colostrum and milk. *Anim Sci Technol* 65: 580–590
7. Hatta H, Tsuda K, Akachi S, Kim M, Yamamoto T, Ebina T (1993) Oral passive immunization effect of anti-human rotavirus IgY and its behavior against proteolytic enzymes. *Biosci Biotech Biochem* 57: 1077–1081
8. Kutsuzawa T, Konno T, Suzuki H, Kapikian AZ, Ebina T, Ishida N (1982) Isolation of human rotavirus subgroups 1 and 2 in cell culture. *J Clin Microbiol* 16: 727–730

Author's address: Dr. T. Ebina, Division of Immunology, Research Institute Miyagi Cancer Center, 47-1 Nodayama, Medeshima-shiode, Natori Miyagi 981-12, Japan

## Recent Advances in *Coriolus versicolor* (Polysaccharice K) Research as an Immunomodulator

Takusaburo Ebina, M.D.

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

Metastasis is one of the most serious problems in cancer, and its prevention is obviously of great importance for improving the prognosis of cancer patients. Therefore, it is a very important to clarify the mechanism of the antimetastatic effect of treatment with biological response modifiers (BRM). We devised the "double grafted tumor system" in which mice received simultaneous, intradermal inoculations of Meth-A tumor cells in both the right flank ( $10^6$  cells), hereafter referred to simply as primary region and the left flank ( $2 \times 10^5$  cells), metastatic region. BRM was injected into the right, large tumor on day 3, and the left, non-treated small tumor was observed for 18 days. For excluding the possibility that BRMs in the right tumor may directly affect the left tumor via the blood stream, we devised as a control the "single tumor system" in which mice received intradermal inoculations of  $2 \times 10^5$  Meth-A tumor cells only in the left flank, and then were injected subcutaneously with BRMs into the right flank on day 3 and observed for 18 days.

PSK isolated from *Coriolus versicolor*, a mushroom belonging to the Basidiomycetes class, is a protein-bound polysaccharide preparation and an immunopotentiator receiving much attention in Japan owing to its antitumor effect, not only in experimental animals but also in clinical trials. Its precise mechanisms for tumor regression, however,

still remain unclear.

PSK significantly inhibited the growth of not only the right but also the left, non-treated tumor. That is, 5 out of 8 right tumor and 4 out of 8 left tumor in the double grafted tumor system disappeared. However PSK had no inhibitory effect at all in the "single tumor system". These results show that PSK itself does not directly affect the opposite flank and the intratumoral PSK immunotherapy in the primary region does affect tumor growth in the metastatic region.

Summarizing the antitumor effect of various BRMs in the double grafted tumor system and the single tumor system, PSK (a protein-bound polysaccharide preparation), IL-1, IFN and Cepharanthin, a plant alkaloid preparation, cured not only the right, but also the left, non-treated tumor in a double grafted tumor system. OK-432 (a *Streptococcus* preparation) and BCG and TNF cured the right tumor and inhibited the growth of the left tumor. Lentinan (a polysaccharide preparation) < IL-2 and IL-6 inhibited neither the right nor the left tumor. Therefore, antitumor effector mechanism of PSK and IL-1 was especially analyzed.

Histochemical analysis shows that the intratumoral administration of PSK first induces polymorphonuclear leukocytes in the right tumor. Immunohistochemical analyses of the right and left tumors in the double grafted tumor system were

carried out with PAP staining. On day 7 (2 days after PSK intratal injection into the right tumor), massive infiltration tumor, an infiltration of macrophages was also seen.

The next step was to analyze the mechanisms by which the cytotoxic effect observed in the left, non-treated tumor of the double grafted tumor system depended upon PSK treatment of the right tumor. Immunized spleen cells were obtained from BALB/c mice which had been administered PSK intratumorally.  $2 \times 10^7$  PSK immunized spleen cells were injected into the tumor on day 3. This procedure resulted in the inhibition of the growth of the tumor, and the occurrence of many tumor-free mice.

Antitumor activity was abolished by Lyt-1 and L3T4 monoclonal antibody treatment. This suggests that the antitumor activity in PSK-immunized spleen might be due to Lyt-1, L3T4 positive T cells. Flow cytometric analysis shows that the number of Lyt-1-positive lymphocytes increased in the right regional lymph nodes after intratumoral injection of PSK.

Recently, human neutrophil chemotactic factor (IL-8) and monocyte chemotactic and activating factor (MCAF) were cloned and sequenced. The next purpose of this work was to examine the induction of neutrophil chemotactic factor (NCF, supposed to be murine IL-8) and macrophage chemotactic factor (MCF, supposed to be murine MCAF) in tumor tissue in response to the intratumoral injection of PSK. The culture supernatants of the 6-day tumor tissue were assayed for NCF activity. Significant NCF activity was detected when the tumor was treated with PSK. No significant NCF activity was produced by untreated tumor tissue. PSK-induced NCF activity was neutralized by a rabbit IgG against human IL-8 but was not neutralized by a preimmune rabbit IgG.

These results suggest that PSK-induced NCF in mice was cross-reactive with human IL-8 and might be an IL-8-like factor. The culture supernatants of the 6-day tumor tissue were assayed for MCF activity. Significant MCF activity was detected when the tumor was treated with PSK. Spleen cells prepared from normal, non-treated Meth-A bearing, PSK-treated normal and PSK-treated tumor bearing mice were examined for induction of macrophage chemotactic factor. Only spleen cells from the PSK-treated tumor bearing mice produced MCF after 48 hrs of cultivation in the presence of Meth-A cells or Concanavalin A. MCF activity was lost after treatment with anti Lyt-1 or anti L3T4 monoclonal antibody in the presence of complement. It seems, therefore, that the MCF producing cells are L3T4 positive helper/inducer T cells, PMN activated by PSK treatment produced MCF in the culture supernatant.

Here, we would like to summarize the antitumor effector mechanism of PSK.

The intratumoral administration of PSK first induces neutrophils in the right tumor via an IL-8 and then macrophages are induced by an MCAF which was produced from tumor cells and neutrophils. Then L3T4-positive cells are induced in the right regional lymph nodes and in the spleen, probably via IL-1, which might be produced from macrophages in contact with tumor cells. Subsequently, L3T4 positive cells in the spleen reach the left tumor through the blood stream, come into contact with Meth-A cells and then produce MCAF. Intratumoral administration of PSK in the right tumor thus induces activated macrophages in the left, non-treated tumor, thereby bringing about the regression of the distant tumor.

Immunosuppressive acidic protein (I-AP), type of  $\alpha$  1-acid glycoprotein, is produced by neutrophils and activated macrophages. Therefore IAP in serum

of BRM-treated mice was measured as a marker protein of activated macrophages and neutrophils.

The serum concentration of IAP was determined with a single radial immunodiffusion method using rabbit anti-mouse IAP serum. IAP in serum increased dramatically soon after intradermal injection of 5mg of PSK. An inflammatory drug, carrageenan, also induced in serum after intradermal injection.

Various immobilized lectins can be successfully used for fractionation and for structural studies of asparagine-linked sugar chains of glycoprotein. The biochemical heterogeneity between PSK-induced IAP and Meth-A-induced IAP was investigated by crossed affinity immunoelectrophoresis (CAIE) with Con A. CAIE reveals at least four subfractions (Peaks 1-4) in IAP molecules: a Con A non-reactive fraction, the most anodic (P1), a Con A weakly reactive (P2), a Con A-reactive fraction (P3) and a strongly reactive fraction (P4). Areas under each peak give a semiquantitative measurement of the proportion of each population of IAP molecules. Agneray has summarized the P1 is the glycopeptide with biantennary complex-type sugar chain. P3 is the glycopeptide with high-mannose type sugar chain and P4 is the one with hybrid-type sugar chain.

IAP in normal mouse retained no P4 (hybrid type). The Con A strongly reactive P4 appeared in PSK injected mouse and Meth-A-bearing mouse. The proportion of P3 (high-mannose type) decreased progressively in PSK-injected mouse and tumor-bearing mouse. In PSK-injected mouse undergoing an acute inflammatory process, P2 (biantennary complex type) of IAP is predominant. On the other hand, in Meth-A bearing mouse the Con-A non reactive P1 (tri- and tetra-antennary complex type) is predominant. Results above mentioned clearly showed that sugar chains of IAP molecule are different among normal, inflammatory

and tumor-bearing mice.

The antitumor effect of several Basidiomycetes preparations in the double grafted tumor system was compared. Clinically used antitumor Basidiomycetes preparations in Japan are as follows: PSK, *Coriolus versicolor* preparation; Carbocrin, *Coriolus versicolor* preparation; Lentinan, *Lentinus edodes* preparation; Sonifilan, *Schizophyllum commune* preparation. PSK inhibited the growth of not only the right but also the left, non-treated tumor. However, same *Coriolus versicolor* preparation, Carbocrin inhibited the growth of the right tumor but not that of the left tumor. A polysaccharide preparation, Lentinan was effective on neither the right nor the left tumor in this system. Same polysaccharide preparation, Sonifilan, was also effective on neither the right nor the left tumor in this system.

The inducing activity of IAP in serum by intradermal injection of Basidiomycetes preparations was investigated. PSK induces inflammatory IAP in serum. Carbocrin induces high-dose of IAP. Neither Lentinan nor Sonifilan induces inflammatory IAP. The biochemical properties of Basidiomycetes preparations was compared. These data suggest that the differences of antitumor effect of Carbocrin was caused by the over-induction of inflammatory IAP stimulated by water insoluble fragments and endotoxins contained in Carbocrin. Polysaccharide preparations without protein, Lentinan and Sonifilan did not induce inflammatory IAP and did not show any antitumor effect in the double grafted tumor system.

The immune system, psychoneuro system, and endocrine system interact to form a triangle in the body, suggesting that biological response modifiers (BRMs) have a favorable effect on all of them, while stress is thought to effect them all in an adverse fashion, and I would like to describe some experiments that Dr. Yoko Ishihara of Tokyo

Women's Medical College has been conducting in mice in this regard. Seven-week old C57BL mice were used as the subjects, and a rotation box was used as the stressor. The animals were stressed in cycles by rotating their cages at 45rpm for 15 minutes followed by a 45 minute rest. Lewis lung cancer (LLC),  $1 \times 10^6$  Cells, was inoculated subcutaneously, and immediately after inoculation the mice were exposed to rotational stress for 14 days. A group of mice was injected with PSK, 50mg/kg, intraperitoneally three times a week beginning the day after inoculation. The results showed that tumor weight had increased on day 17 in the mice subjected to stress, but that recovery occurred in response to PSK. Moreover, when NK activity was investigated in spleen cells, it was found to be reduced in the cancer-bearing mice, but was significantly increased by administration of PSK. Thus, rotational stress caused a reduction in immune competence, that is, a reduction in NK activity, but the reduction in NK activity was suppressed by administration of PSK, indicating that it had a

favorable effect on the triangle I just described. Next, mice were divided into four combinations according to whether they were exposed to stress beginning 7 days before tumor inoculation (+) or not (-) and whether they were given PSK (+) or not (-). The tumor was inoculated on day 0, and when splenic lymphocyte NK activity was checked on day 7, the same as in the previous experiment, it was found to have been decreased by exposure to stress and improved by administration of PSK. Thus, PSK has a favorable effect on the neuropsychological endocrine-immune triangle, suggesting a favorable effect on patient's quality of life (QOL), that is, how they feel. When QOL scores were then compared in a group of patients with adenocarcinoma of the lung treated with a combination of PSK and chemotherapy and a group treated with chemotherapy alone, while PSK did not have any survival-prolonging effect, good QOL was found to be better maintained in the PSK-treated immunochemotherapy group than in the group treated with chemotherapy alone.

## ORIGINAL PAPER

Hirotohi Akita · Taeko Miyagi · Keiko Hata  
Manabu Kagayama

## Immunohistochemical evidence for the existence of rat cytosolic sialidase in rat skeletal muscles

Accepted: 29 January 1997

**Abstract** Histochemical evidence is required to demonstrate the presence of biochemically defined cytosolic sialidase. To meet this requirement, we examined the immunohistochemical localization of the enzyme in rat skeletal muscles. Sections of chemically fixed tissues were incubated with a polyclonal antibody raised against a synthetic peptide which corresponded to a part of the enzyme protein. After incubation with the primary antibody, cryosections for fluorescence microscopy and resin sections for electron microscopy were incubated with a fluorochrome- and colloidal gold-labeled secondary antibody, respectively. Immunofluorescence was diffusely distributed in the muscle fibers and was also found in the perimysium and blood vessels. Many immunogold particles were scattered over the sarcoplasm, myofibrils, nucleoplasm, and matrix of mitochondria. The immunogold particles were also found in the equivalent compartments of axons, Schwann cells, and cells of endomysium and blood vessels. The specificity of the primary antibody was elucidated by immunoblotting and an immunoprecipitation test. These findings clearly indicate that this type of sialidase is essentially located in the cytosolic compartment. Consequently, the name, cytosolic sialidase, will be appropriate for this enzyme. Additionally it is indicated that this enzyme is also present in cells other than skeletal muscle fibers.

### Introduction

Great attention is given to the biological significance of sialoglycoconjugates in animals because several biologi-

cally important events develop in the presence of sialoglycoconjugates (Reutter et al. 1982; Schauer 1985; Varki 1992; Pilatte et al. 1993). The biological properties of sialoglycoconjugates are changed by sialidases (EC 3.2.1.18), which catalyze the hydrolytic removal of sialic acid from sialoglycoconjugates (Morell et al. 1968; Ashwell and Morell 1974; Goldwasser et al. 1974; Itoh and Kumagai 1980; Schauer 1985; Fukuda et al. 1989; Imai et al. 1990). Mammalian sialidases participate in regulating the function of endogenous sialoglycoconjugates through desialylation, although their biological roles are not fully understood.

Mammalian sialidase activity localizes at several subcellular (Venerando et al. 1975; Miyagi and Tsuiki 1984, 1986; Chiarini et al. 1990) and extracellular sites (Schauer et al. 1976; Usuki et al. 1988; Warner et al. 1993). Miyagi and her co-workers (Miyagi et al. 1990a) have characterized four subtypes of sialidase from rat tissues. These are designated cytosolic, intralysosomal, and membrane-associated sialidases I and II. Although the presence of lysosomal and membrane-associated sialidases has been accepted in general, the presence of cytosolic sialidase has been a controversial issue. Consequently the term soluble, instead of cytosolic, sialidase has been used.

Sialidase activity is found in the supernatant of mammalian tissue homogenates obtained by ultracentrifugation at about 100 000 g (Taha and Carubelli 1967; Carubelli 1968; Tulsiani and Carubelli 1970; Carubelli and Tulsiani 1971; Venerando et al. 1975, 1982, 1983; Miyagi and Tsuiki 1984; Pilatte et al. 1987; Greffard et al. 1994). The activity differs from those of lysosomal and membrane-associated sialidases in substrate specificity, optimal pH, and inhibitors. Some reports have denied the solubilization of lysosomal and membrane-bound sialidase in routinely used procedures for tissue homogenization (Carubelli and Tulsiani 1971; Tettamanti et al. 1972; Chiarini et al. 1990; Miyagi et al. 1990b). For these reasons, an intrinsic subtype of sialidase, referred to as cytosolic sialidase, has been suggested to be present in cytosolic compartments.

H. Akita (✉) · M. Kagayama  
Second Department of Oral Anatomy, School of Dentistry,  
Tohoku University, Seiryomachi 4-1, Aoba-ku,  
Sendai, 980-77 Japan  
Tel. +81-22-717-8287; Fax +81-22-263-9867

T. Miyagi · K. Hata  
The Research Institute, Miyagi Cancer Center, Natori, Miyagi,  
981-12 Japan

Miyagi and her co-workers (Miyagi et al. 1993) purified the sialidase from the cytosol fraction of rat skeletal muscles, and its putative amino acid sequence has been elucidated by cDNA cloning. Now, immunohistochemical confirmation that the enzyme is really located in the cytoplasm *in vivo* is important for the general acceptance of the existence of cytosolic sialidase.

This study aimed to examine the histochemical localization of cytosolic sialidase in rat skeletal muscles by using an antibody against a synthetic oligopeptide of the enzyme protein. The results indicated that the enzyme was, indeed, located in the cytoplasm.

## Materials and methods

### Animals

Wistar strain rats and New Zealand albino rabbits were purchased from Funabashi Farm (Funabashi, Japan).

### Development of anti-peptide sera

The antigen used was a synthetic peptide which corresponds to the Glu39-Ser58 segment of the published amino acid sequence of rat cytosolic sialidase (Miyagi et al. 1993). Cysteine was introduced at the N-terminus for Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) binding. Two 12-week-old rabbits were injected subcutaneously 6 times at 2-weekly intervals with the antigen in complete Freund's adjuvant (one injection) and in incomplete Freund's adjuvant (five subsequent injections). One milligram per rabbit of the antigen-KLH complex was injected. Blood was drawn at 11 weeks after the first injection and the antisera were stored at  $-70^{\circ}\text{C}$  until being processed by affinity purification.

### Affinity-purified antibody

The antisera preparation was loaded onto an affinity column in which 2-fluoro-1-methylpyridinium toluene-4-sulfonate-activated cellulofine (Seikagaku, Tokyo, Japan) coupled with the synthetic peptide was packed as ligand. The fraction bound to the ligand in 0.01 M sodium phosphate containing 0.15 M NaCl (PBS, pH 7.0) was washed with PBS and released with 0.1 M glycine-HCl containing 0.15 M NaCl (pH 2.8). The released fraction was neutralized with 1 M TRIS and stored at  $-70^{\circ}\text{C}$  until use as a primary antibody.

### Crude and partially purified preparations of cytosolic sialidase for SDS-PAGE

Preparations were obtained from the skeletal muscle of ten Wistar strain male rats (8 weeks old) according to the purification procedure reported previously (Miyagi et al. 1990a). The homogenate of rat skeletal muscles was centrifuged at 78 000 g, and the resultant supernatant was fractionated with ammonium sulfate. The precipitate formed between 50% and 70% saturation was used as a crude enzyme preparation. The fraction obtained by subsequent CM-cellulose column fractionation of the ammonium sulfate precipitate was used as a partially purified enzyme preparation.

### SDS-PAGE immunoblotting

According to Laemmli's procedure (1970), about 10  $\mu\text{g}$  of each preparation was denatured in sample buffer and electrophoresed in 10% polyacrylamide gels containing 0.01% SDS with a 4% stacking gel in a slab-gel apparatus. A broad-range protein marker

(New England BioLabs, Mass., USA) was used for molecular weight standards. The gel was stained with Coomassie brilliant blue (CBB). For immunoblotting, separated proteins were electrophoretically transferred to nitrocellulose membrane for 1 h at 200 mA in a Horizblott (Atto, Japan) as described by Towbin et al. (1979). After blocking and incubating with the primary antibody (1:50 dilution), the protein blots (western blots) were developed for IgG antibody with alkaline phosphatase-conjugated affinity-purified goat anti-rabbit IgG (Promega Biotec, Madison, Wis., USA).

### Immunoprecipitation

Protein A-Sepharose (3 mg; Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) was preincubated with the antibody (30  $\mu\text{g}$  protein) at room temperature for 2 h, then centrifuged at 1000 g for 5 min and washed with an appropriate buffer. The pellet (protein A-Sepharose with antibody) was mixed with the partially purified enzyme preparation (2000 U, 5  $\mu\text{g}$  protein), and incubated at  $4^{\circ}\text{C}$  for 4 h under mild agitation. Then, the mixture was centrifuged at 10 000 g for 20 min. The resulting supernatant was divided into two. One portion was lyophilized, then used for immunoblotting. The other was assayed for cytosolic sialidase activity, as described below. One unit of enzyme activity is defined as that quantity producing 1 nmol 4-methylumbelliferone/h at  $37^{\circ}\text{C}$ . As a control, protein A-Sepharose was preincubated with non-immune rabbit serum, then processed in the same way.

### Assay of cytosolic sialidase

The assay mixture contained 80 nmol of 4-methylumbelliferyl- $\alpha$ -D-N-acetylneuraminic acid (Nakarai, Kyoto, Japan), 0.2 mg of bovine serum albumin, 15  $\mu\text{mol}$  of sodium cacodylate (pH 6.0), and the sample to be assayed in 0.2 ml final volume. After incubation at  $37^{\circ}\text{C}$  for 2 h, 4-methylumbelliferone released was determined spectrofluorometrically (Miyagi and Tsuiki 1985).

### Tissue preparation for immunohistochemistry

Five male rats from 3 to 8 weeks old were used. They were deeply anesthetized with pentobarbital and perfused from the ascending aorta with fixative for 30 min. The fixative was either 4% paraformaldehyde (for cryosections) or a mixture of 4% paraformaldehyde and 0.4% glutaraldehyde (for resin sections) in 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.4). The specimens (the upper arm) were dissected out and further fixed in the same fixative overnight (for cryosections) or for 90 min (for resin sections) at  $4^{\circ}\text{C}$ . Then they were rinsed with Dulbecco's phosphate buffer containing 2 mg/ml glycine, and embedded either in Tissue-Tek (Miles, Ind., USA) or in LR white resin (hard grade; London Resin Company, UK) according to the manufacturers' instruction. Cryosections were cut at 8  $\mu\text{m}$ , mounted on glass slides, and processed for immunofluorescence microscopy. Resin sections were cut at 100 nm with a diamond knife using a Reichert ultramicrotome, and picked up on nickel grids supported by Butvar film (Taab Laboratory Equipment, UK), then processed for immunoelectron microscopy.

### Immunohistochemistry

The cryo- and resin sections were processed at room temperature unless otherwise indicated and incubated in a moisture chamber by procedures A and B, respectively.

#### Procedure A

Cryosections were preincubated with 0.02 M TRIS-HCl (pH 8.2), 0.5 M NaCl (TBS) containing 5% normal goat serum and 0.1%

BSA (G-TBS) for 20 min and then incubated overnight at 4°C with the primary antibody diluted 1:1 in G-TBS. After thorough washing with TBS containing 0.025% Tween 20 (T-TBS), they were incubated for 1 h with fluorescein isothiocyanate-conjugated goat F(ab')<sub>2</sub> anti-rabbit IgG (Leinco Tech, Mo., USA), diluted 1:200 in TBS containing 0.1% BSA. After repeated washing with T-TBS, they were mounted in PermaFluor (Immunon, Pa., USA), and examined by fluorescence microscopy (Olympus BHS-RFK, Japan).

#### Procedure B

The grid was placed on a droplet of G-TBS for 20 min (sectioned face downwards), then transferred to the surface of a droplet of the primary antibody diluted 1:10 in G-TBS, and incubated overnight at 4°C. After thorough washing with T-TBS, the grid was transferred to a 25- $\mu$ l droplet of colloidal gold (10 nm)-conjugated goat F(ab')<sub>2</sub> anti-rabbit IgG (diluted 1:10 in TBS containing 0.1% BSA; BioCell, UK) and incubated for 1 h. After repeated washing with distilled water and air-drying, the grid was transferred to a droplet of 1% osmium tetroxide for 20 min to increase the contrast of the micrograph image. The grid was then counterstained with uranyl acetate and Reynold's lead citrate solution, and examined in a H-9000 electron microscope (Hitachi, Japan).

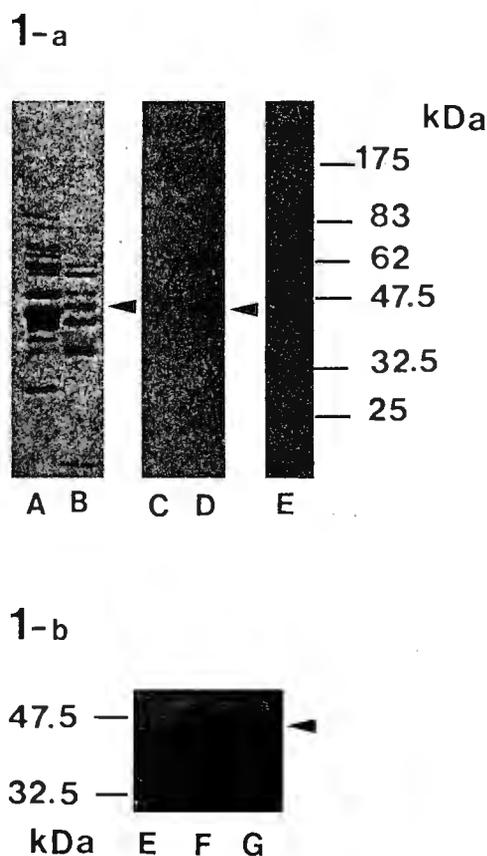
As controls, we used non-immune rabbit IgG (20  $\mu$ g/ml in G-TBS; Inter-Cell Technology, N.J., USA) instead of the primary antibody or the primary antibody preabsorbed with the synthetic oligopeptide for 1 h at 37°C (7  $\mu$ g of the peptide/100  $\mu$ l of the diluted antibody).

## Results

### Specificity of the primary antibody for rat cytosolic sialidase

An immunoblot analysis indicated a single band reactive to the antibody, its molecular weight being about 43 kDa (Fig. 1a), corresponding to rat cytosolic sialidase purified from skeletal muscles (Miyagi et al. 1990a). The electropherogram of the crude and partially purified preparation of the enzyme revealed many bands of varying intensity when it was stained with CBB (Fig. 1a, lane A, B). However, the corresponding immunoblot showed a single band in the lane for the partially purified preparation (Fig. 1a, lane D). In order to confirm that the single band resulted from the specific reaction of the antibody with the sialidase, a set of immunoprecipitation tests was conducted. After precipitation with the antibody, the resultant supernatant was divided into two. One portion was analyzed for the presence of remaining enzyme by immunoblotting (Fig. 1b). The other was assayed for enzyme activity. The immunoblot showed a band reactive to the antibody in the control lane (Fig. 1b, lane F), but no visible band in the lane for the supernatant after precipitation (Fig. 1b, lane G). The enzyme activity was reduced by 95% of the control in the supernatant.

No immunoreactive band appeared in the lane for the crude enzyme preparation (Fig. 1a, lane C). It was assumed that the amount of enzyme was too low to visualize. When the crude enzyme preparation was overloaded in a well of the polyacrylamide gel, a broad but weakly reactive band was detected by immunoblotting at the molecular weight of 43 kDa (data not shown).



**Fig. 1a, b** Immunoblot analysis of the enzyme preparation. **a** Electropherogram and corresponding immunoblot of the crude (lanes A, C) and partially purified (lanes B, D) preparations of rat cytosolic sialidase. Lanes A and B show several bands stained by Coomassie blue after separation by SDS-PAGE. Although lane C shows no immunoreactive band, lane D contains a single sharp band at about 43 kDa in the immunoblot. Arrowheads indicate the band of rat cytosolic sialidase. Lane E contains molecular weight standards. **b** Immunoblot of the supernatant after immunoprecipitation (lane G) and the control (lane F). There is a band at about 43 kDa in lane F, but no visible band at the corresponding position in lane G

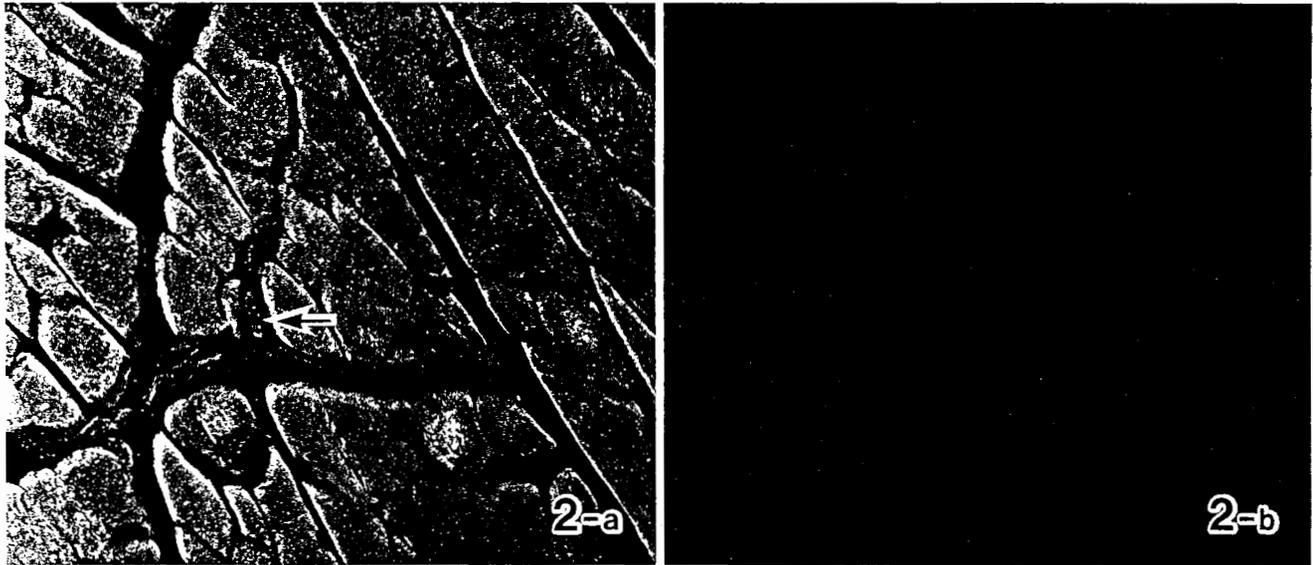
### Immunofluorescence microscopy

Strong and specific immunofluorescence for the cytosolic sialidase was distributed diffusely in the cytosol of skeletal muscle fibers (Fig. 2a). A similar immunofluorescence was also found in the internal perimysium and blood vessels.

The immunofluorescence disappeared in control sections stained with preabsorbed antibody. When the section was stained with non-immune rabbit IgG instead of the primary antibody, only faint autofluorescence was observed under a fluorescence microscope (Fig. 2b).

### Immunoelectron microscopy

Immunogold particles were distributed evenly in the cytoplasm of the skeletal muscle fibers and did not appear



**Fig. 2a, b** Immunofluorescence micrographs of cryosections of upper arm skeletal muscle. **a** Diffuse immunofluorescence appears homogeneous in every muscle fiber, in the internal perimysium, and in every blood vessel (*arrow*). **b** In the control, only faint autofluorescence is found in the section stained with non-immune rabbit IgG instead of the primary antibody.  $\times 100$

to accumulate at any specific sites. Generally, the cytoplasm of skeletal muscle fibers is divided into two compartments, the sarcoplasm and myofibril. Many immunogold particles were found in both sarcoplasm and myofibrils (Figs. 3, 4). No immunogold particles lined up along the Z-line, M-line, H-band, myofilaments, sarcoplasmic reticulum, T-tubules or plasma membrane (Fig. 4). Sometimes, a few immunogold particles resided at the cytoplasmic face of the sarcoplasmic reticulum and T-tubules. The above-mentioned pattern of immunolabeling provided a profile of an even distribution of this enzyme in the cytoplasm of the muscle fibers.

Many nuclei and mitochondria of the muscle fibers were also immunolabeled. Immunogold particles were preferentially localized to chromatin in both hetero- and euchromatin regions of the nucleoplasm (Fig. 5). The nuclear membrane and nuclear pores were not fringed with immunogold particles. Immunogold particles appeared to be located not at the cristae, but at the matrix of the mitochondria (Fig. 6).

Additionally, immunogold particles were also found in the cytoplasm, nucleoplasm and mitochondria of nerve fibers (Fig. 7), elongated cells of the peri- and endomysium (Fig. 8), the endothelium of blood capillaries (Fig. 9), and smooth muscle cells of arterioles (Fig. 10) in the muscle tissue. Immunogold particles tended to be located along neurofilaments in axons. There was no lining of immunogold particles along the plasma membrane of these cells.

Few immunogold particles appeared in control sections (Fig. 11).

## Discussion

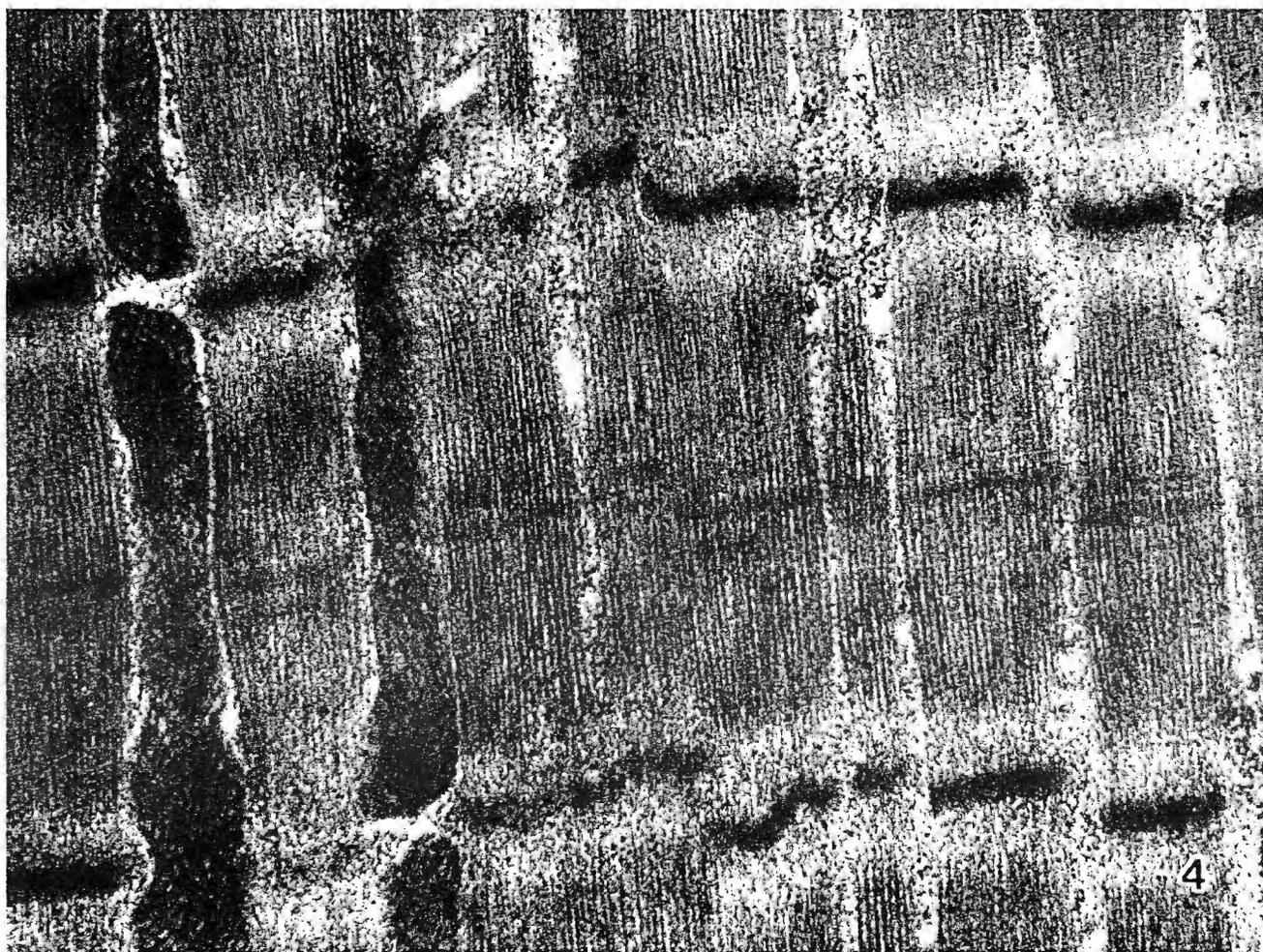
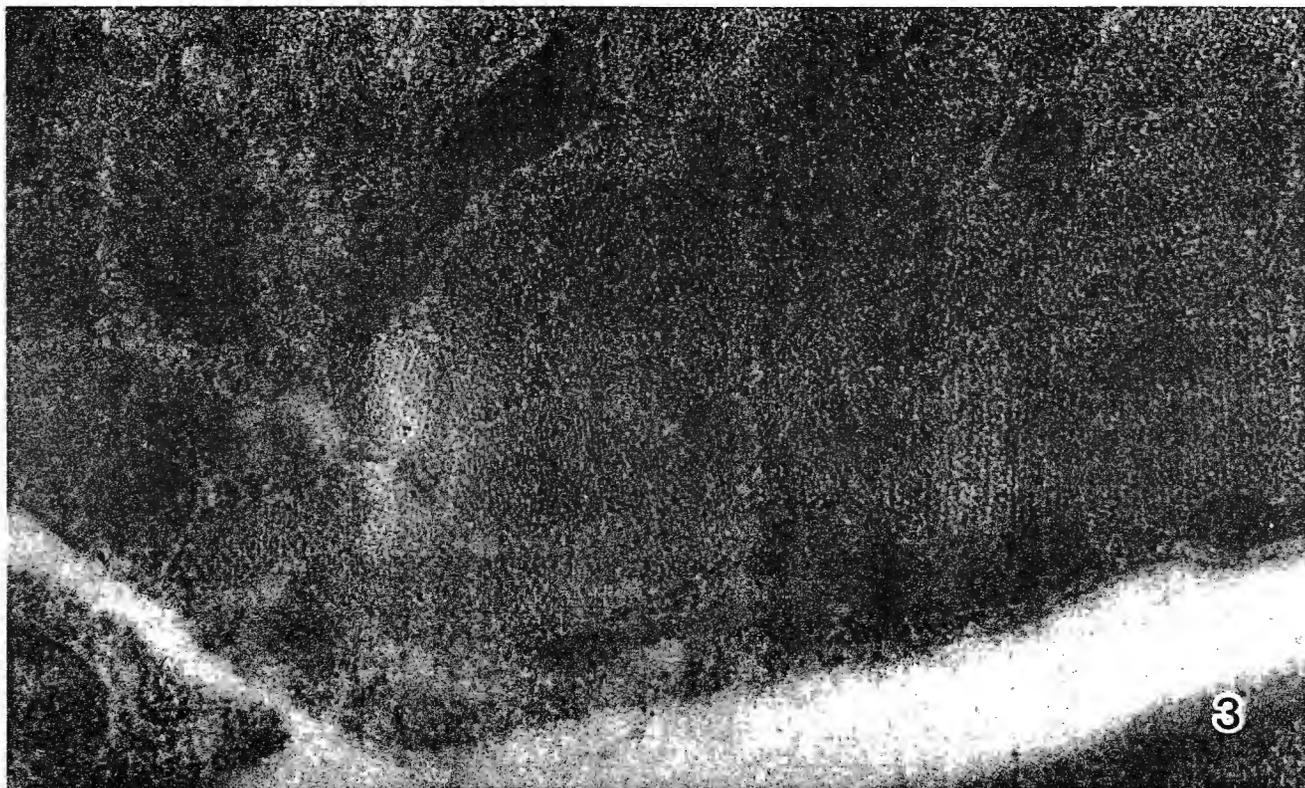
The specificity of the primary antibody used in this study

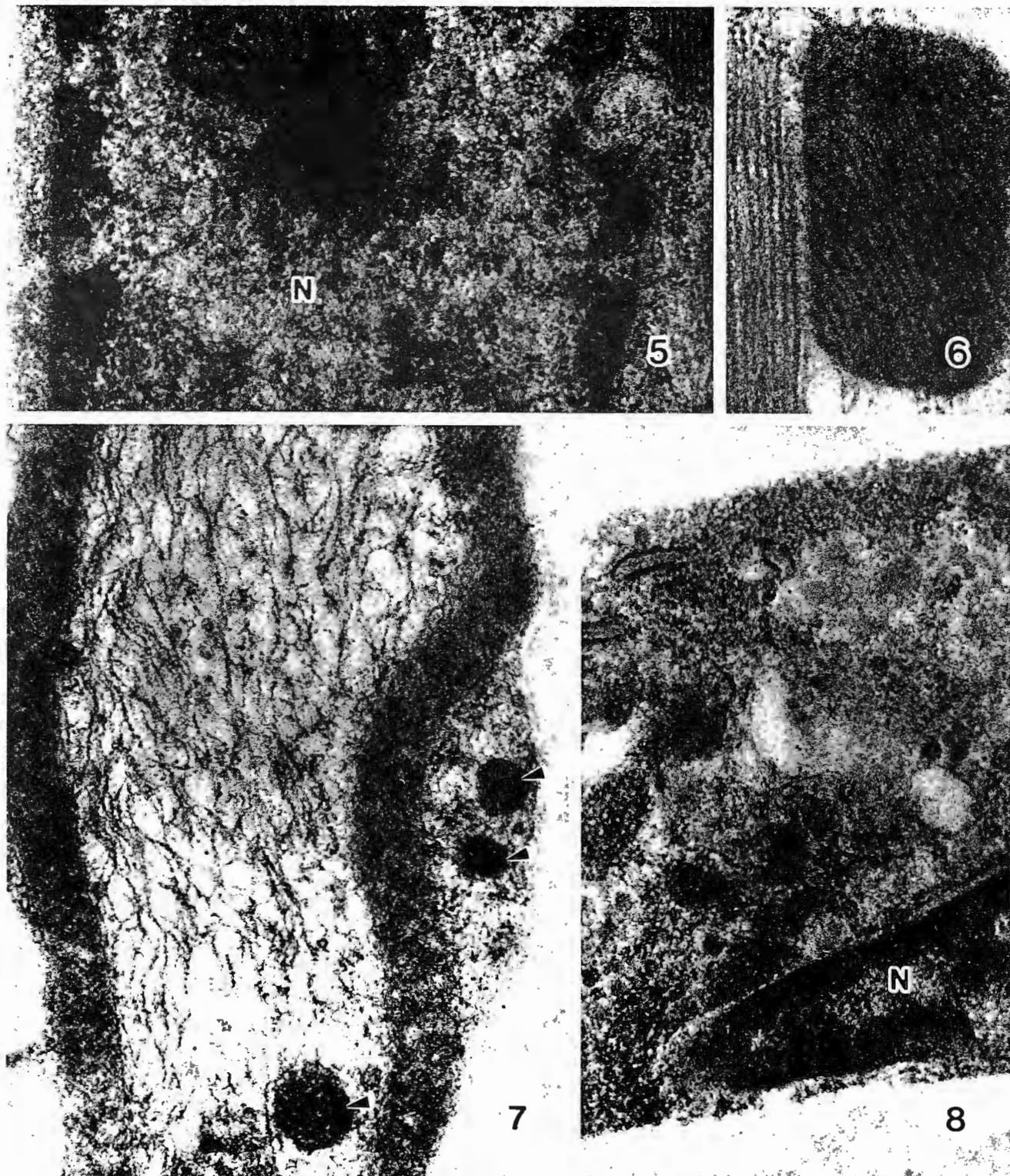
Only one band was revealed in the cytosolic fraction of rat skeletal muscles by immunoblotting, suggesting that the antibody is reactive only to cytosolic sialidase. The marked reduction of such an antibody-reactive substance occurred concomitantly with the almost complete loss of cytosolic sialidase activity in the supernatant after immunoprecipitation. These results support the view that the single band resulted from a specific reaction between the antibody and cytosolic sialidase. The control experiments in immunohistochemistry also indicated that non-specific immunolabeling was negligible. In addition, no cross-reactivity has been shown between a polyclonal antibody against the rat native cytosolic sialidase and the other subclasses of rat sialidase by an immunoprecipitation test (Miyagi et al. 1990a). Therefore, the primary antibody is highly specific for rat cytosolic sialidase.

## Immunohistochemical evidence for the presence of cytosolic sialidase

Our electron-microscopic findings strongly support the presence of an intrinsic subtype of sialidase located in the cytoplasm of rat skeletal muscle fibers. Such a subtype should be called cytosolic sialidase and has been predicted because the amino acid sequence of the enzyme lacks putative transmembrane domains and targeting signals to biological membranes (Miyagi et al. 1993). The immunolabels appeared homogeneous in their distribution, despite the regular structure inside

**Figs. 3, 4** A cross sectional (Fig. 3) and longitudinal (Fig. 4) profile of skeletal muscle fibers. Many immunogold particles are scattered in myofibrils, sarcoplasm, and mitochondria.  $\times 42\ 000$



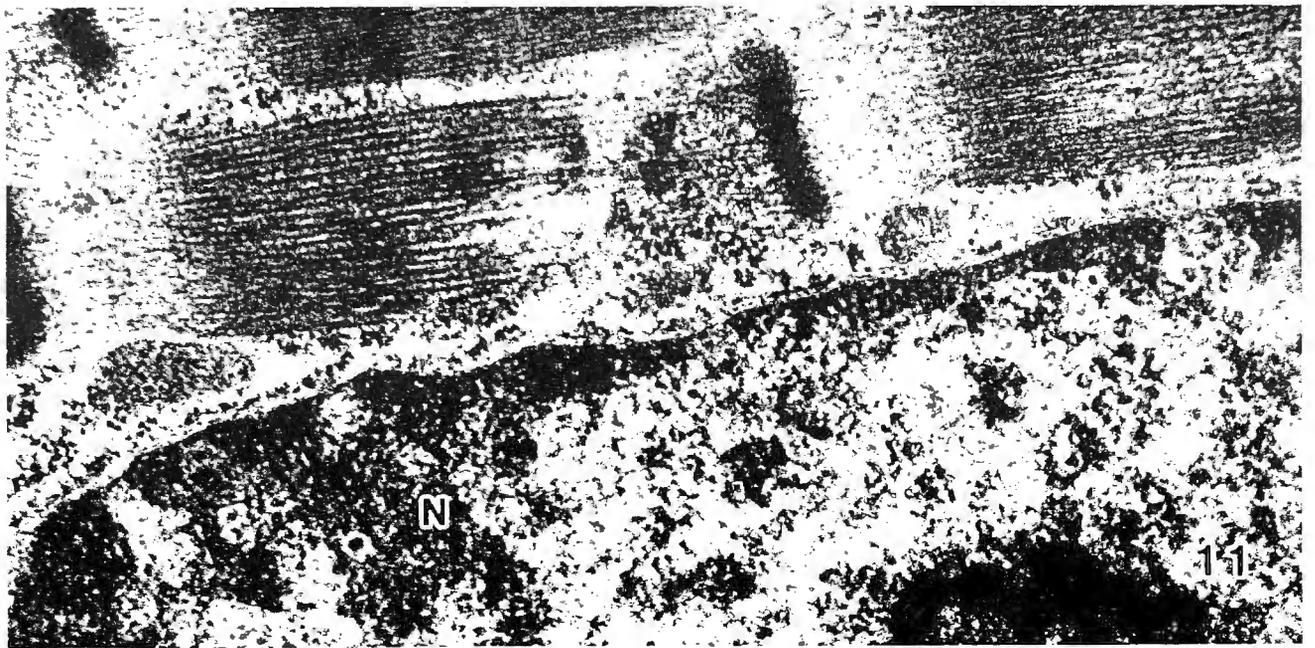
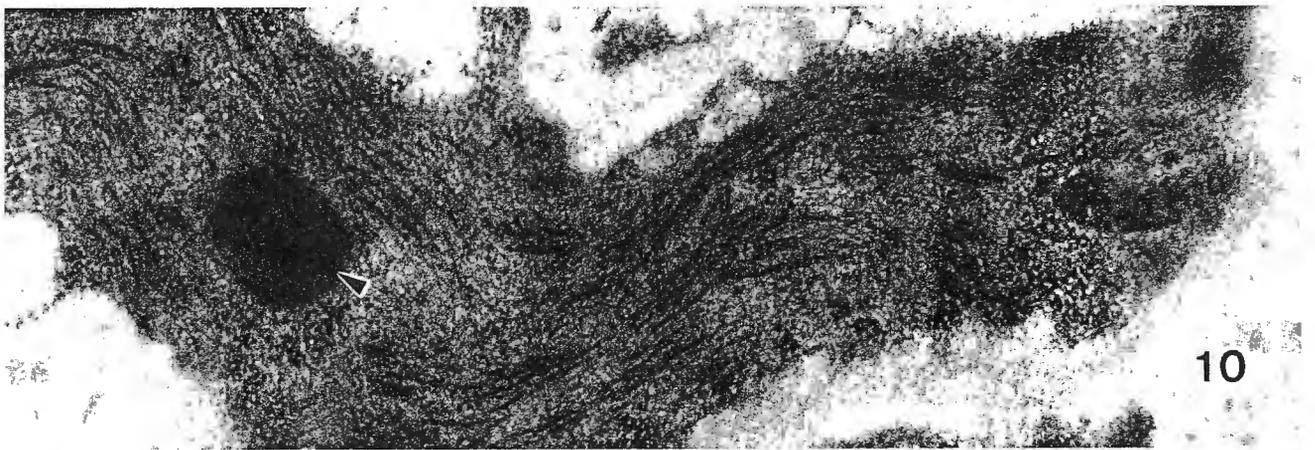
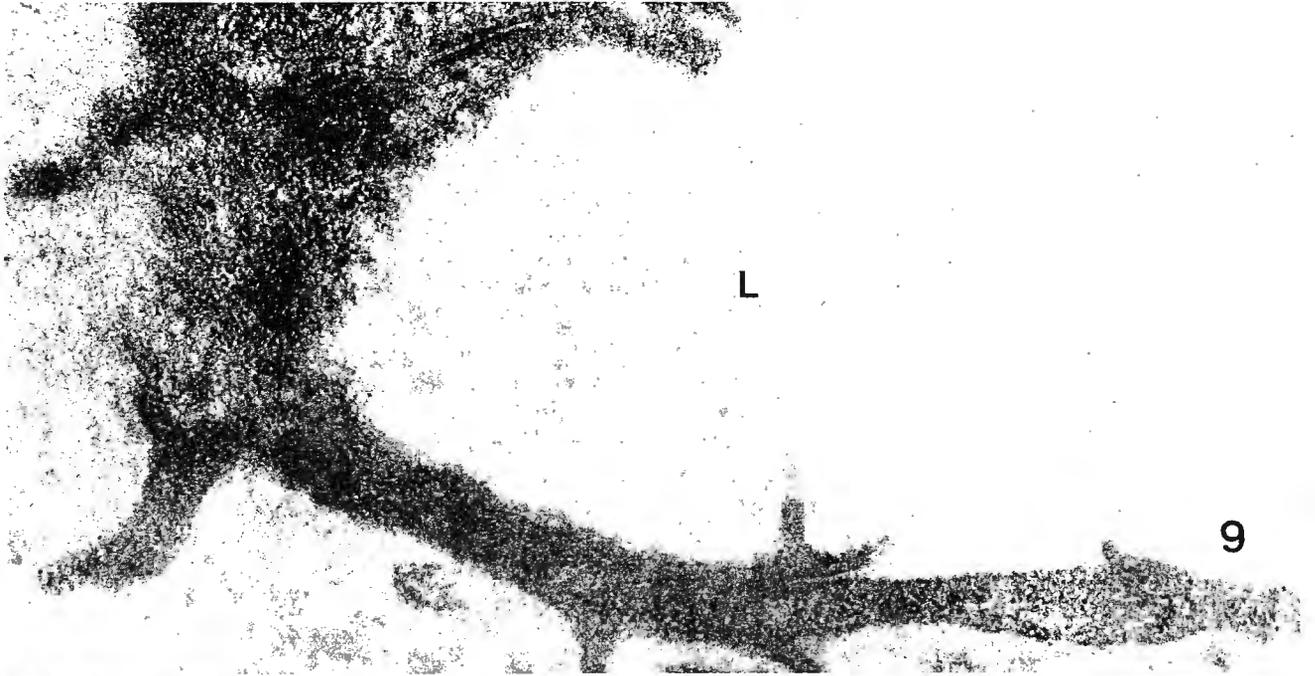


**Fig. 5** Portion of a sub-sarcolemmal nucleus (N) of skeletal muscle fiber. The immunogold particles are preferentially localized to chromatin. x42 000

**Fig. 6** A representative mitochondrion of skeletal muscle fiber. Immunogold particles seem to be located in the matrix. x70 000

**Fig. 7** A myelinated nerve fiber from skeletal muscle. Immunogold particles are mainly located in the axoplasm and cytoplasm of the Schwann cell. *Arrowheads* indicate mitochondria. x42 000

**Fig. 8** Part of an elongated cell from the endomysium. Scattered immunogold particles are found in both the cytoplasm and nucleus (N). x42 000



skeletal muscle fibers. Therefore, the cytosolic sialidase was considered not to accumulate around any specific cytoplasmic organelles or in any specific cytoplasmic compartments. A few immunogold particles neighboring a membranous structure might indicate localization of the enzyme in its vicinity; contact of the enzyme with vesicles in microsomes by ionic bonds has been suggested (Miyagi and Tsuiki 1985; Miyagi et al. 1993).

In this study, the cytosolic sialidase was also found to be located in the nucleoplasm and mitochondria of muscle fibers. It is known that many macromolecules distributed in the cytoplasm are also located in the nucleoplasm and mitochondria because their translocation from cytoplasm to nucleoplasm or to mitochondria, and vice versa, occurs freely (Garcia-Bustos et al. 1991). Furthermore, this enzyme has a unique amino acid sequence (Lys-Arg/Lys-X-Arg/Lys) near its N-terminus, which is thought to be a nuclear localization signal (Garcia-Bustos et al. 1991). Thus, this enzyme may play a role in the nucleoplasm and mitochondria as well as in the cytoplasm.

There is a possibility that the cytosolic sialidase is expressed in many kinds of rat cells. In this study it was found that the enzyme was located not only in skeletal muscle fibers but also in other kinds of cells (fibroblasts, endothelium cells, smooth muscle fibers, nerve cells, and Schwann cells). A previous report has revealed the same enzyme activity in several kinds of rat tissues (Dairaku et al. 1986).

#### Putative role of cytosolic sialidase

The *in situ* presence of rat cytosolic sialidase suggests that sialoglycoconjugates are present in the cytoplasm of the cells examined. This suggestion is contrary to the prevailing dogma that sugar moieties on glycoproteins are almost exclusively localized at the cell surface or luminal compartment. However, several reviews cite over a hundred papers that suggest the presence of cytoplasmic and nucleoplasmic glycoconjugates (Drickamer 1988; Hart et al. 1989; Hubert et al. 1989; Wang et al. 1991). It has recently been shown that even an isoform of myosin is glycosylated in skeletal masseter muscle fibers (Kirkeby 1996). Analysis of the sugar residues of those glycoconjugates has shown the presence of similar sugar residues to those on cell surface and extracellular

matrix glycoconjugates, including sialic acid (Hart et al. 1989).

Those reviews also indicate the presence of cytoplasmic and nucleoplasmic sugar-binding proteins as endogenous lectins in animal cells. It has been speculated that such lectins are involved in both cell function and differentiation by interacting with their putative ligands, cytoplasmic and nucleoplasmic glycoconjugates. In this context, one possible role of rat cytosolic sialidase may be to modify the interaction between those endogenous lectins and their putative ligands through desialylation. As a result, the enzyme may contribute to various cell functions. A recent report has revealed the involvement of the enzyme in myoblast differentiation (Sato and Miyagi 1996). It has not yet been demonstrated, however, that sialoglycoconjugates act as substrates for the enzyme.

In conclusion, strong immunohistochemical evidence for the existence of rat cytosolic sialidase has been obtained. This is the first report which indicates the histochemical localization of one type of sialidase in mammalian cells.

**Acknowledgements** We are grateful to Mr. Yasuto Mikami and Mrs. Setsuko Moriya for their excellent technical assistance. This work was supported in part by Grants-in-Aid for Scientific Research (06671804, 07671961, 08672064) to H. Akita and a Grant-in-Aid for a Priority Area (05274103) to T. Miyagi from the Ministry of Education, Science and Culture, Japan.

#### References

- Ashwell G, Morell AG (1974) The role of surface carbohydrates in the hepatic recognition and transport of circulating glycoproteins. *Adv Enzymol* 41:99-128
- Carubelli R (1968) Changes in rat brain neuraminidase during development. *Nature* 219:955-956
- Carubelli R, Tulsiani DRP (1971) Neuraminidase activity in brain and liver of rats during development. *Biochim Biophys Acta* 237:78-87
- Chiarini A, Fiorilli A, Siniscalco C, Tettamanti G, Venerando B (1990) Solubilization of the membrane-bound sialidase from pig brain by treatment with bacterial phosphatidylinositol phospholipase C. *J Neurochem* 55:1576-1584
- Dairaku K, Miyagi T, Wakui A, Tsuiki S (1986) Cytosolic sialidases of rat tissues with special reference to skeletal muscle enzyme. *Biochem Int* 13:741-748
- Drickamer K (1988) Two distinct classes of carbohydrate-recognition domains in animal lectins. *J Biol Chem* 263:9557-9560
- Fukuda MN, Sasaki H, Lopez L, Fukuda M (1989) Survival of recombinant erythropoietin in the circulation: the role of carbohydrate. *Blood* 73:84-89
- Garcia-Bustos J, Heitman J, Hall MN (1991) Nuclear protein localization. *Biochim Biophys Acta* 1071:83-101
- Goldwasser E, Kung CK-H, Eliason J (1974) On the mechanism of erythropoietin-induced differentiation. XIII. The role of sialic acid in erythropoietin action. *J Biol Chem* 249:4202-4206
- Greffard A, Paireon JC, Terzidis-Trabelsi H, Heslan J-M, Bignon J, Lambre CR, Pilatte Y (1994) Initial characterization of human thymocyte sialidase activity: evidence that this enzymatic system is not altered during the course of T-cell maturation. *Int J Biochem* 26:769-776
- Hart GW, Haltiwanger RS, Holt GD, Kelly WG (1989) Glycosylation in the nucleus and cytoplasm. *Annu Rev Biochem* 58:841-874

◀ Fig. 9 Endothelial cells of a blood capillary in skeletal muscle. The clear cytosolic distribution of immunogold particles is found. (L Capillary lumen) ×36 000

Fig. 10 A smooth muscle cell of an arteriole in skeletal muscle. Immunogold particles are scattered in the cytoplasm and mitochondrion (arrowhead). ×42 000

Fig. 11 A profile of control sections which were incubated with the primary antibody preabsorbed with the antigen. Few immunogold particles are found in a sub-sarcolemmal nucleus (N), and in myofibrils and sarcoplasm adjacent to the nucleus. ×42 000

- Hubert J, Seve AP, Facy P, Monsigny M (1989) Are nuclear lectins and nuclear glycoproteins involved in the modulation of nuclear functions? *Cell Differ Dev* 27:69–81
- Imai N, Higuchi M, Kawamura A, Tomonoh K, Oh-Eda M, Fujiwara M, Shimonaka Y, Ochi N (1990) Physicochemical and biological characterization of asialoerythropoietin. Suppressive effects of sialic acid in the expression of biological activity of human erythropoietin *in vitro*. *Eur J Biochem* 194:457–462
- Itoh K, Kumagai K (1980) Effect of tunicamycin and neuraminidase on the expression of Fc-IgM and -IgG receptors on human lymphocytes. *J Immunol* 124:1830–1836
- Kirkeby S (1996) A monoclonal anticarbohydrate antibody detecting superfast myosin in the masseter muscle. *Cell Tissue Res* 283:85–92
- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680–685
- Miyagi T, Tsuiki S (1984) Rat-liver lysosomal sialidase: solubilization, substrate specificity and comparison with the cytosolic sialidase. *Eur J Biochem* 141:75–81
- Miyagi T, Tsuiki S (1985) Purification and characterization of cytosolic sialidase from rat liver. *J Biol Chem* 260:6710–6716
- Miyagi T, Tsuiki S (1986) Evidence for sialidase hydrolyzing gangliosides GM<sub>2</sub> and GM<sub>1</sub> in rat liver plasma membrane. *FEBS Lett* 206:223–228
- Miyagi T, Sagawa J, Konno K, Tsuiki S (1990a) Immunological discrimination of intralysosomal, cytosolic, and two membrane sialidases present in rat tissues. *J Biochem* 107:794–798
- Miyagi T, Sagawa J, Konno K, Handa S, Tsuiki S (1990b) 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, Tsuiki S (1993) Molecular cloning and expression of cDNA encoding rat skeletal muscle cytosolic sialidase. *J Biol Chem* 268:26435–26440
- Morell AG, Irvine KA, Sternlieb I, Scheinberg IH, Ashwell G (1968) Physical and chemical studies on ceruloplasmin. V. Metabolic studies on sialic acid-free ceruloplasmin *in vivo*. *J Biol Chem* 243:155–159
- Pilatte Y, Bignon J, Lambre CR (1987) Lysosomal and cytosolic sialidases in rabbit alveolar macrophages: demonstration of increased lysosomal activity after *in vivo* activation with bacillus Calmette-Guerin. *Biochim Biophys Acta* 923:150–155
- Pilatte Y, Bignon J, Lambre CR (1993) Sialic acids as important molecules in the regulation of the immune system: pathophysiological implications of sialidases in immunity. *Glycobiology* 3:201–217
- Reutter W, Kottgen E, Bauer C, Gerok W (1982) Biological significance of sialic acids. In: Schauer R (ed) *Sialic acids: chemistry, metabolism and function* (cell biology monographs, vol 10) Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 263–305
- Sato K, Miyagi T (1996) Involvement of an endogenous sialidase in skeletal muscle cell differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 221:826–830
- Schauer R (1985) Sialic acids and their role as biological masks. *Trends Biochem Sci* 10:357–360
- Schauer R, Veh RW, Wember M (1976) Demonstration of neuraminidase activity in human blood serum and human milk using a modified, radioactively labelled glycoprotein as substrate. *Biol Chem Hoppe Seyler* 357:559–566
- Taha BH, Carubelli R (1967) Mammalian neuraminidase: intracellular distribution and changes of enzyme activity during lactation. *Arch Biochem Biophys* 119:55–61
- Tettamanti G, Morgan IG, Gombos G, Vincendon G, Mandel P (1972) Sub-synaptosomal localization of brain particulate neuraminidase. *Brain Res* 47:515–518
- Towbin H, Staehelin T, Gordon J (1979) Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:4350–4354
- Tulsiani DRP, Carubelli R (1970) Studies on the soluble and lysosomal neuraminidases of rat liver. *J Biol Chem* 245:1821–1827
- Usuki S, Lyu S-C, Sweeley CC (1988) Sialidase activities of cultured human fibroblasts and the metabolism of Gm3 ganglioside. *J Biol Chem* 263:6847–6853
- Varki A (1992) Selectins and other mammalian sialic acid-binding lectins. *Curr Opin Cell Biol* 4:257–266
- Venerando B, Tettamanti G, Cestaro B, Zambotti V (1975) Studies on brain cytosol neuraminidases. I. Isolation and partial characterization of two forms of the enzyme from pig brain. *Biochim Biophys Acta* 403:461–472
- Venerando B, Goi GC, Preti A, Fiorilli A, Lombardo A, Tettamanti G (1982) Cytosolic sialidase in developing rat forebrain. *Neurochem Int* 4:313–320
- Venerando B, Fiorilli A, Malesci A, Goi GC, Lombardo A, Preti A, Tettamanti G (1983) Cytosolic sialidase from the nerve endings of developing rat forebrain. *Neurochem Int* 5:619–624
- Wang JL, Laing JG, Anderson RL (1991) Lectins in the cell nucleus. *Glycobiology* 1:243–252
- Warner TG, Chang J, Ferrari J, Harris R, McNearney T, Bennett G, Burnier J, Sliwkowski M (1993) Isolation and properties of a soluble sialidase from the culture fluid of Chinese hamster ovary cells. *Glycobiology* 3:455–463

## IMMUNOHISTOCHEMICAL LOCALIZATION OF CYTOSOLIC SIALIDASE IN PHOTORECEPTOR CELLS

Fumiyuki UEHARA<sup>1</sup>, Norio OHBA<sup>1</sup>, Munefumi SAMESHIMA<sup>1</sup>, Toyoko YANAGITA<sup>1</sup>,  
Naoto IWAKIRI<sup>1</sup>, Masayuki OZAWA<sup>2</sup> and Taeko MIYAGI<sup>3</sup>

**Summary:** The binding sites of the antibody to cytosolic sialidase on the rat and monkey photoreceptor cells were examined immunohistochemically using the avidin-biotinylated peroxidase method. In the rat photoreceptor cells, the antibody bound diffusely to the inner segment and the outer nuclear layers which are composed chiefly of rod cells. In the monkey photoreceptor cells, the antibody bound to the rod inner segments which were clearly distinct, morphologically, from the cone inner segments. The antibody also bound to the rod cell bodies in the outer nuclear layer. These binding patterns show that the antibody bound preferentially to rod photoreceptor cells. This observation is consistent with previous lectin histochemical findings that sialoglycans are preferentially present on the surfaces of rod photoreceptors, and in the rod-associated interphotoreceptor matrix. Sialidase in rod inner segments may function by balancing with sialyltransferase, also preferentially expressed in rod inner segments, to form sialyl residues on the termini of sugar chains in the rod-associated sialoglycoconjugates.

**Key Words:** Glycoconjugate, immunohistochemistry, monkey, photoreceptor cell, rat, retina, sialic acid, sialidase

### Introduction

Glycoconjugates on the photoreceptor cell surfaces and in the interphotoreceptor matrix (IPM) are involved in a variety of cell functions. In the mammalian retina, photoreceptor cells consist of rods and cones. Peanut agglutinin (PNA), which has a specific affinity for the Gal $\beta$ 1,3GalNAc residue of glycoconjugates<sup>10</sup>, bound preferentially to the surfaces of cone photoreceptors<sup>1,17</sup> and the IPM around cones<sup>6,7,15,19</sup> in mammalian retinas. After pretreatment of the tissue section with sialidase, both rods and cones were bound by PNA<sup>3,8,12,13,18</sup>. Amaranthin, specific for Gal $\beta$ 1,3GalNAc, and sialic acid  $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,3GalNAc sequences<sup>14</sup>, bound to the surfaces of both cones and rods<sup>24</sup>, while *Maackia amurensis* lectin, specific for sialic acid  $\alpha$ 2,3Gal<sup>16</sup>, bound preferentially to those of rods<sup>25</sup>. The anti-

body to the PNA receptors of the IPM bound to the surfaces of both cones and rods<sup>20</sup>. These histological findings suggest that the major component of the glycoconjugate may be common in the IPM around cones and rods. A structural difference between cones and rods may exist in the terminal carbohydrate residue of glycoconjugates. Gal $\beta$ 1,3GalNAc, recognized by PNA, may exist as the terminal sugar around cones, while around rods it may be present but normally masked by sialyl residue. Gal $\beta$ 1,3GalNAc and sialic acid  $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,3GalNAc are the terminal sugars of the O-linked glycoconjugates around cones and rods, respectively. Previous lectin histochemical findings also suggest that Gal $\beta$ 1,4GalNAc and sialic acid  $\alpha$ 2,3(6)Gal $\beta$ 1,4GalNAc are the terminal sugars of the N-linked glycoconjugates around cones and rods, respectively<sup>18,22</sup>. These data imply that the photoreceptor cells which metabolize sialic acids exist only on rods. The expression of  $\alpha$ 2,3(6)-sialyltransferase mRNA was selectively detected in rod inner segments by *in situ* hybridization histochemistry<sup>23</sup>. Since sialyltransferase forms

Received: September 4, 1995

Departments of Ophthalmology<sup>1</sup> and Biochemistry<sup>2</sup>, Kagoshima University Faculty of Medicine

<sup>3</sup>Research Institute, Miyagi Cancer Center

Reprint requests to: Fumiyuki UEHARA, M.D., Department of Ophthalmology, Kagoshima University Faculty of Medicine, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890, Japan

the sialyl residue on the termini of sialoglycans by balancing with sialidase, it is likely that sialidase is also preferentially distributed in rod inner segments. Therefore we examined the binding sites of the antibody to cytosolic sialidase on mammalian photoreceptor cells, immunohistochemically, to test this hypothesis.

### Materials and Methods

#### Tissue preparation

The rats and monkeys were maintained in cyclic lighting conditions (12 hours on/12 hours off). The eyes of three 8- to 10-week-old albino Wistar rats and 3 adult Japanese monkeys (*Macaca fuscata*) were enucleated between 10 AM and 11 AM. Immersion fixation of the eyes was done with 0.5% glutaraldehyde/4% paraformaldehyde in phosphate-buffered saline (PBS) at 4°C overnight. The eyes were then rinsed and soaked in PBS at 4°C overnight, dehydrated in a series of ethanol treatments, and embedded in paraffin. Five-micrometer sections of the specimens were cut and mounted on poly-L-lysine coated glass slides. All animal procedures conformed to the Guideline of the Kagoshima University Faculty of Medicine on Animal Experiments and the ARVO Resolution on the Use of Animals in Research.

#### Immunohistochemistry

The sections were deparaffinized in xylene and hydrated in a graded series of ethanol treatments. Endogenous peroxidase activity was blocked by treatment with 0.2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in methanol for 30 minutes. After the slides were immersed in PBS for 30 minutes, non-specific binding was blocked by incubating the sections with 2% bovine serum albumin diluted with PBS (Sigma Chemical, St Louis, MO, USA) for 30 minutes at room temperature. The tissue sections were then overlaid with the antiserum (diluted 1/100 with PBS) to cytosolic sialidase and held in a humidified chamber for 1 hour at room temperature. The antiserum was produced by one of the authors (Miyagi) by immunizing a rabbit with cytosolic sialidase purified from rat skeletal

muscle, in a modification of the procedure described previously<sup>11</sup>. Control experiments were carried out by incubating adjacent sections with the diluted antiserum and its antigen (0.4 mg/mL in PBS; sialidase-fusion protein, purified using glutathione sepharose 4B column). After the slides were washed in PBS for 30 minutes, the tissue sections were incubated with biotinylated anti-rabbit IgG (diluted 1/100 with PBS; Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) for 1 hour at room temperature. The slides were then washed in PBS for 30 minutes and binding was developed with the reagents of the Vectastain Elite ABC kit, and diaminobenzidine as the peroxidase substrate, following the standard protocols of Vectastain kits (Vector). The slides were dehydrated, coverslipped and examined for the location of brown reaction product.

### Results

In the rat photoreceptor cells, the antibody bound diffusely to the inner segment and the outer nuclear layers (Figure 1A). These bindings were inhibited by the sialidase-fusion protein (Figure 1B). In the monkey photoreceptors, the antibody bound to the rod inner segments, but did not bind to the cone inner segments. In the outer nuclear layer, the antibody bound to the cell bodies which seemed to be continuous with the rod inner segments (Figure 2A). These bindings were also inhibited by the sialidase-fusion protein (Figure 2B).

### Discussion

Mammalian tissues contain four types of sialidase which differ in subcellular location and catalytic properties: intralysosomal, cytosolic, and two membrane-associated sialidases<sup>11</sup>. We examined the binding sites of the antibody to the cytosolic sialidase on the rat and monkey photoreceptor cells. An immunoreactive band of 43 kDa was detected by immunoblotting, using the antibody and the partially purified sialidase enzyme<sup>11</sup>. In the rat photoreceptor cells, the antibody bound

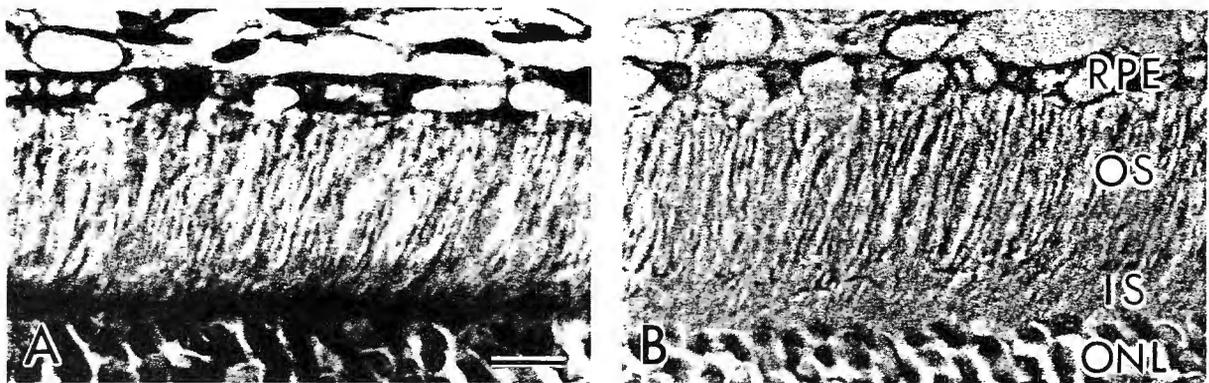


Figure 1. Immunohistochemical localization of cytosolic sialidase in rat photoreceptor cells.  
**A:** Reaction product diffusely localized in photoreceptor inner segment layer (IS) and outer nuclear layer (ONL).  
**B:** Control section incubated with immunoneutralized antiserum showing no reaction product.  
 RPE: retinal pigment epithelium OS: outer segments Bar=10  $\mu$ m

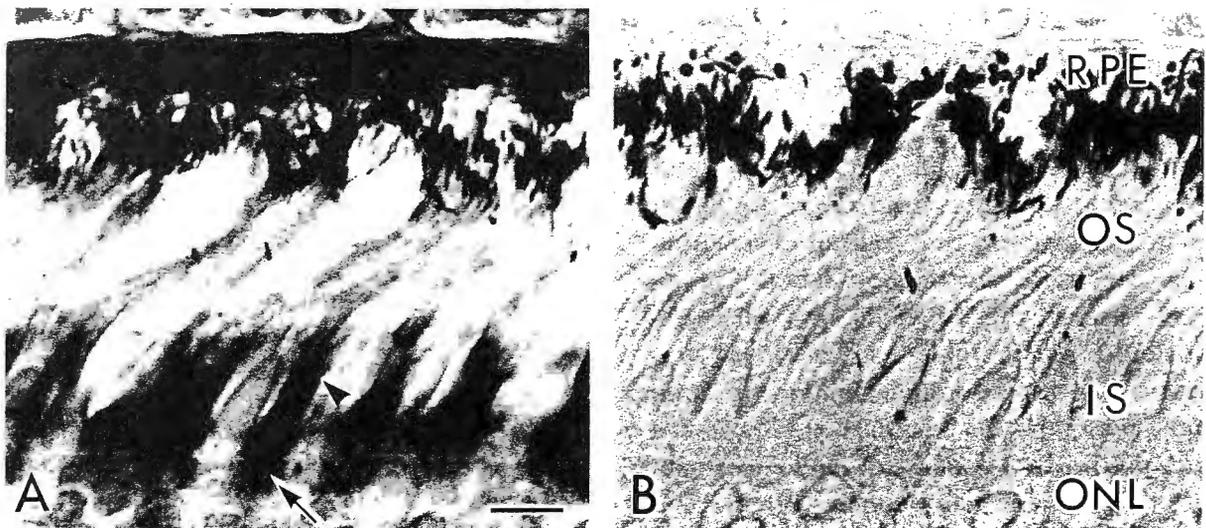


Figure 2. Immunohistochemical localization of cytosolic sialidase in monkey photoreceptor cells.  
**A:** Reaction product selectively localized in rod inner segments (arrowhead) and their continuous cell bodies (arrow) in outer nuclear layer (ONL).  
**B:** Control section incubated with immunoneutralized antiserum showing no reaction product. Retinal pigment epithelium (RPE) shows numerous pigment granules in both A and B.  
 OS: outer segments IS: inner segments Bar=10  $\mu$ m

diffusely to the inner segment layer and the outer nuclear layer, assumed to be chiefly rod cells because 98.5% of the photoreceptor cells of rat retinas are rod cells<sup>9</sup>. In the monkey photoreceptor cells, the antibody bound to the rod inner segments, which are clearly distinct from the cone inner segments in morphology. The antibody also bound to the rod cell bodies in the outer nuclear layer.

All of these binding patterns show that the antibody bound preferentially to the rod photoreceptor cells. Although a definitive statement requires more study at the electron-microscopic level, cytosolic binding of the antibody is clear. Our observation is consistent with the previous lectin histochemical findings that the sialoglycans are preferentially present on the surfaces of rod photo-

receptors<sup>3,8,12,13,18</sup> and in the rod-associated IPM<sup>15</sup>. Sialidase in the rod inner segments may function by balancing with sialyltransferase, which is also preferentially expressed in the rod inner segments<sup>23</sup> to form sialyl residues on the termini of the sugar chains of both the O- and N-linked sialoglycoconjugates, which are preferentially present on the surfaces of rods in the rod-associated IPM. The sialic acids may play important physiological roles in the interaction of rod photoreceptor cells and retinal pigment epithelial cells, including the light-evoked distributional changes of the N-linked sialoglycoconjugates in the rod-associated IPM<sup>21,22</sup>. The occurrence of distributional changes of cytosolic sialidase in the photoreceptor cells through physiological and/or pathological conditions merits further study.

We have discussed the relationship between sialic acids and rod photoreceptor cells, based on our present and previous histochemical findings. In order to highlight the importance of the retinal glycoconjugates, we briefly introduce several reports which discuss the sugar chains of cone-associated glycoconjugates. <sup>3</sup>H-fucose was shown to be incorporated chiefly into cone outer segments<sup>2</sup>. An instance of progressive cone dystrophy associated with low  $\alpha$ -L-fucosidase activity has been reported<sup>4</sup>. The  $\alpha$ -L-fucosidase activity of the human retina and choroid was highest in the macular region, where the cone concentration is greatest<sup>5</sup>. These data imply that the photoreceptor cells which metabolize fucose are found only in cones. Either sialic acid or fucose is present as the terminal sugar residue of glycoconjugates; it is possible that the termini of sugar chains are fucosylated, instead of sialylated, in the cone-associated glycoconjugates. Sialic acid and fucose may be the terminal sugars of the glycoconjugates associated with rods and cones, respectively. In that case, terminal fucose on the cone-associated glycoconjugates may not mask Gal $\beta$ 1,3GalNAc and Gal $\beta$ 1,4GalNAc sequences for PNA- and *Ricinus communis*

agglutinin-1 bindings, respectively. These different compositions of carbohydrate chains may be related to differences in the physiological properties of rods and cones.

**Acknowledgments:** The authors thank Ms Yoshiko Maeda for her technical assistance. This work was supported by a Grant-in-Aid from The Japan Medical Association.

#### REFERENCES

1. Blanks JC & Johnson LV: (1984) Specific binding of peanut lectin to a class of retinal photoreceptor cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25: 546-557
2. Bunt AH & Klock IB: (1980) Comparative study of <sup>3</sup>H-fucose incorporation into vertebrate photoreceptor outer segments. *Vision Res* 20: 739-747
3. Cohen D & Nir I: (1987) Cytochemical characterization of sialoglycoconjugates on rat photoreceptor cell surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 28: 640-645
4. Hayasaka S, Nakazawa M, Okabe H et al: (1985) Progressive cone dystrophy associated with low  $\alpha$ -L-fucosidase activity in serum and leukocytes. *Am J Ophthalmol* 99: 681-685
5. Hayasaka S, Noda S & Setogawa T: (1988) Regional distribution of N-acetyl-D-glucosaminidase activities in the human retina and choroid. *Ophthalmic Res* 20: 266-268
6. Hollyfield JC, Varner HH, Rayborn ME & Osterfeld AM: (1989) Attachment of the retina to the pigment epithelium: Linkage through the conedome, an extracellular matrix sheath associated uniquely with cone photoreceptors, Eds Redburn DA et al, *Extracellular and Intracellular Messengers in the Vertebrate Retina*: 1-11. Alan R Liss, New York
7. Johnson LV, Hageman GS & Blanks JC: (1986) Interphotoreceptor matrix domains ensheath vertebrate cone photoreceptor cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 129-135
8. Kivelä T & Tarkkanen A: (1987) A lectin cytochemical study of glycoconjugates in the human retina. *Cell Tissue Res* 249: 277-288
9. LaVail MM: (1976) Survival of some photoreceptor cells in albino rats following long-term exposure to continuous light. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 15: 64-70
10. Lotan R, Skutelsky E, Danon D & Sharon N: (1975) The purification, composition, and specificity of the anti-T lectin from peanut (*Arachis hypogaea*). *J Biol Chem* 250: 8518-8523
11. Miyagi T, Sagawa J, Konno K & Tsuiki S: (1990)

- Immunological discrimination of intralysosomal, cytosolic, and two membrane sialidase present in rat tissues. *J Biochem* 107: 794-798
12. Molday LL & Molday RS: (1987) Glycoproteins specific for the retinal rod outer segment plasma membrane. *Biochim Biophys Acta* 897: 335-340
  13. Polans AS & Burton MD: (1988) Sialoglycoproteins of the frog rod outer segment plasma membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29: 1523-1532
  14. Rinderle SJ, Goldstein IJ, Matta KL & Ratcliffe RM: (1989) Isolation and characterization of amaranthin, a lectin present in the seeds of *Amaranthus caudatus*, that recognizes the T- (or cryptic T-) antigen. *J Biol Chem* 264: 16123-16131
  15. Sameshima M, Uehara F & Ohba N: (1987) Specialization of the interphotoreceptor matrices around cone and rod photoreceptor cells in the monkey retina, as revealed by lectin cytochemistry. *Exp Eye Res* 45: 845-863
  16. Sata T, Lackie PM, Taatjes DJ et al: (1989) Detection of the Neu5Ac ( $\alpha$ 2,3)Gal( $\beta$ 1,4)GlcNAc sequence with the leucoagglutinin from *Maackia amurensis*: Light and electron microscopic demonstration of differential tissue expression of terminal sialic acid in  $\alpha$ 2,3- and  $\alpha$ -2,6-linkage. *J Histochem Cytochem* 37: 1577-1588
  17. Uehara F, Sameshima M, Muramatsu T & Ohba N: (1983) Localization of fluorescence-labeled lectin binding sites on photoreceptor cells of the monkey retina. *Exp Eye Res* 36: 113-123
  18. Uehara F, Muramatsu T, Sameshima M et al: (1985) Effects of neuraminidase on lectin binding sites in photoreceptor cells of monkey retina. *Jpn J Ophthalmol* 29: 54-62
  19. Uehara F, Sameshima M, Muramatsu T & Ohba N: (1986) Affinity isolation of cone outer segments using a peanut agglutinin-nitrocellulose sheet. *Exp Eye Res* 43: 687-693
  20. Uehara F, Muramatsu T, Ozawa M et al: (1986) Purification of antibody against peanut agglutinin receptors of bovine interphotoreceptor matrix. *Jpn J Ophthalmol* 30: 56-62
  21. Uehara F, Matthes MT, Yasumura D & LaVail MM: (1990) Light-evoked changes in the interphotoreceptor matrix. *Science* 248: 1633-1636
  22. Uehara F, Yasumura D & LaVail MM: (1991) Rod- and cone-associated interphotoreceptor matrix in the rat retina: differences in light-evoked distributional changes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32: 285-292
  23. Uehara F: (1993) Molecular cell glycobiology of the retina. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc)* 97: 1370-1393
  24. Uehara F, Ohba N, Sameshima M et al: (1994) Binding of amaranthin in photoreceptors of monkey retina. *Jpn J Ophthalmol* 38: 360-363
  25. Uehara F, Sameshima M, Unoki K et al: (1994) *Maackia amurensis* lectin binding in developing rat retina. *Jpn J Ophthalmol* 38: 364-367

## Features of DNA Oligonucleosomal Fragmentation in Human Tumor Cell Lines and Its Detection by Flow Cytometry: Utility and Limitations

Hiroaki Kikuchi,<sup>1</sup> Shigeki Ujiie,<sup>1</sup> Akira Wakui,<sup>1</sup> Akiko Yokoyama<sup>2</sup> and Ryunosuke Kanamaru<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacotherapy, Research Institute, Miyagi Cancer Center, 47-1 Nodayama, Medeshima-Shiode, Natori 981-12 and <sup>2</sup>Department of Clinical Oncology, Research Institute for Development, Aging and Cancer, Tohoku University, 4-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-77

Cultured HL-60, HeLa S3 and WiDr cells were treated with various doses of ethanol, then subjected to flow cytometry and gel electrophoresis of cellular DNA. On electrophoresis of DNA from HL-60 cells treated with 0.5 or 1.0 mM ethanol, a ladder pattern was recognized after 3 h. At higher doses of ethanol (2.0 and 5.0 mM), a smear pattern resulted. On flow cytometry, however, A<sub>0</sub> cells (lower fluorescence level than G<sub>0</sub>+G<sub>1</sub> cells) were noted from 0.5 to 5.0 mM ethanol. The observation of A<sub>0</sub> cells at higher doses indicated loss of DNA after random DNA degradation. HeLa S3 and WiDr cells were partially detached from flasks after administration of ethanol and separated into adherent and non-adherent categories. In DNA from non-adherent HeLa S3 cells treated with 0.5 mM ethanol, a ladder pattern was observed after 24 h. On flow cytometry, prior to the appearance of A<sub>0</sub> cells, an accumulation in the G<sub>2</sub>+M-phase became obvious after 3 h. Increased mitotic indices indicated that this phenomenon was due to M-phase arrest. Adherent HeLa S3 cells showed no DNA oligonucleosomal fragmentation or A<sub>0</sub> cells. These findings indicate that detection of A<sub>0</sub> cells by flow cytometry is not proof of cell death by DNA oligonucleosomal fragmentation.

Key words: DNA oligonucleosomal fragmentation — Cell death — DNA gel electrophoresis — Flow cytometry

A number of approaches have been adopted to distinguish apoptotic cells from living or necrotic cells.<sup>1-5)</sup> At present, apoptosis is not determined only by the presence of DNA oligonucleosomal fragmentation.<sup>6-8)</sup> Darzynkiewicz *et al.*<sup>2)</sup> have reported the usefulness of flow cytometry for detecting apoptotic cells as so-called A<sub>0</sub> cells in DNA histograms. In apoptosis, DNA is presumed to be cut into lengths that are integral multiples of 180-200 base pairs in nucleosomes, this being responsible for the ladder pattern observed on gel electrophoresis.<sup>9)</sup> Low-molecular-weight DNA is likely to be lost from apoptotic cells, resulting in a lower DNA content as compared non-apoptotic cells, so that this population forms a peak of A<sub>0</sub> cells.<sup>2)</sup> This peak, however, only represents a population that contains a diminished amount of DNA, and does not necessarily indicate that DNA oligonucleosomal fragmentation has occurred.

In the present study, we compared flow cytometry with gel electrophoresis of cellular DNA to determine whether the former approach is valid for investigation of DNA oligonucleosomal fragmentation. Tumor cell lines were treated with ethanol to induce cell death and processed for both flow cytometrical and molecular biological studies. Differences between adherent and non-adherent tumor cells were also investigated.

### MATERIALS AND METHODS

**Cell lines and culture conditions** HeLa S3, WiDr and HL-60 cells were purchased from Dai-Nippon Seiyaku Co., Ltd., Tokyo and maintained in Dulbecco's modified Eagle's medium (Nissui, Tokyo) or RPMI1640 medium (Nissui) for HL-60, both containing penicillin G ( $5 \times 10^3$  U/ml, Gibco BRL, Gaithersburg, MD), streptomycin (5 mg/ml, Gibco BRL) and 10% fetal bovine serum (Bioserum, Victoria). Cells were cultured at 37°C under 5% CO<sub>2</sub> in a fully humidified atmosphere.

**Electrophoresis of cellular DNA** Some HeLa S3 and WiDr cells became detached from culture flasks after treatment with ethanol. These cells were defined as non-adherent and the remainder as adherent in the present study. Cells were collected by centrifugation, washed twice in ice-cold Tris-buffered saline, and resuspended in 500  $\mu$ l of lysis buffer containing 500 mM Tris-HCl (pH 9.0), 2 mM EDTA, 10 mM NaCl, 1% SDS and 1 mg/ml proteinase K (Wako Chemical, Osaka). After incubation at 50°C for 20 h, samples were extracted twice with phenol, once with phenol-chloroform and finally with chloroform. Each sample was loaded on a 1.2% agarose (Nippon Gene, Tokyo) gel. Electrophoresis was performed for 70 min at 7 V/cm in Tris-acetate-EDTA buffer. Gels were stained with 0.5  $\mu$ g/ml ethidium bromide (15 min) and photographed under UV (254 nm).

**Flow cytometry** After culture, cells were washed twice with ice-cold PBS and fixed in 70% ethanol ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) overnight. Samples were centrifuged and incubated for one hour at room temperature in PBS containing 0.1% Triton-X<sup>16</sup> followed by staining with propidium iodide ( $50\ \mu\text{g/ml}$ , Sigma, St. Louis, MO). The DNA content of  $2 \times 10^4$  cells was measured using a cell sorter (EPICS-ELITE, Coulter Electronics, Hialeah, FL) and DNA distribution histograms were obtained.

**Colony formation assay** Cells treated with or without ethanol were washed with ice-cold PBS and counted. Samples of one hundred HeLa S3 cells were seeded onto Petri dishes (Falcon 3002, Becton Dickinson & Co., Lincoln Park, NJ) and cultured for 14 days. After culture, dishes were washed twice with PBS followed by

methanol fixation and Giemsa staining, and colonies were counted.

**Mitotic index** HL-60 and HeLa S3 cells were washed with ice-cold PBS and spread on slide glasses followed by May-Giemsa staining. Numbers of mitotic-phase cells were counted in samples of 500 cells.

RESULTS

**Gel electrophoresis of cellular DNA** Cellular DNA extracted from HL-60 cells showed a typical ladder pattern after a 3 h exposure to 0.5 mM ethanol. At 1.0 mM, a ladder pattern was seen until 6 h after the exposure, although the cellular DNA showed a smear pattern<sup>8</sup>) at 12 and 24 h. At greater doses of ethanol, no ladder

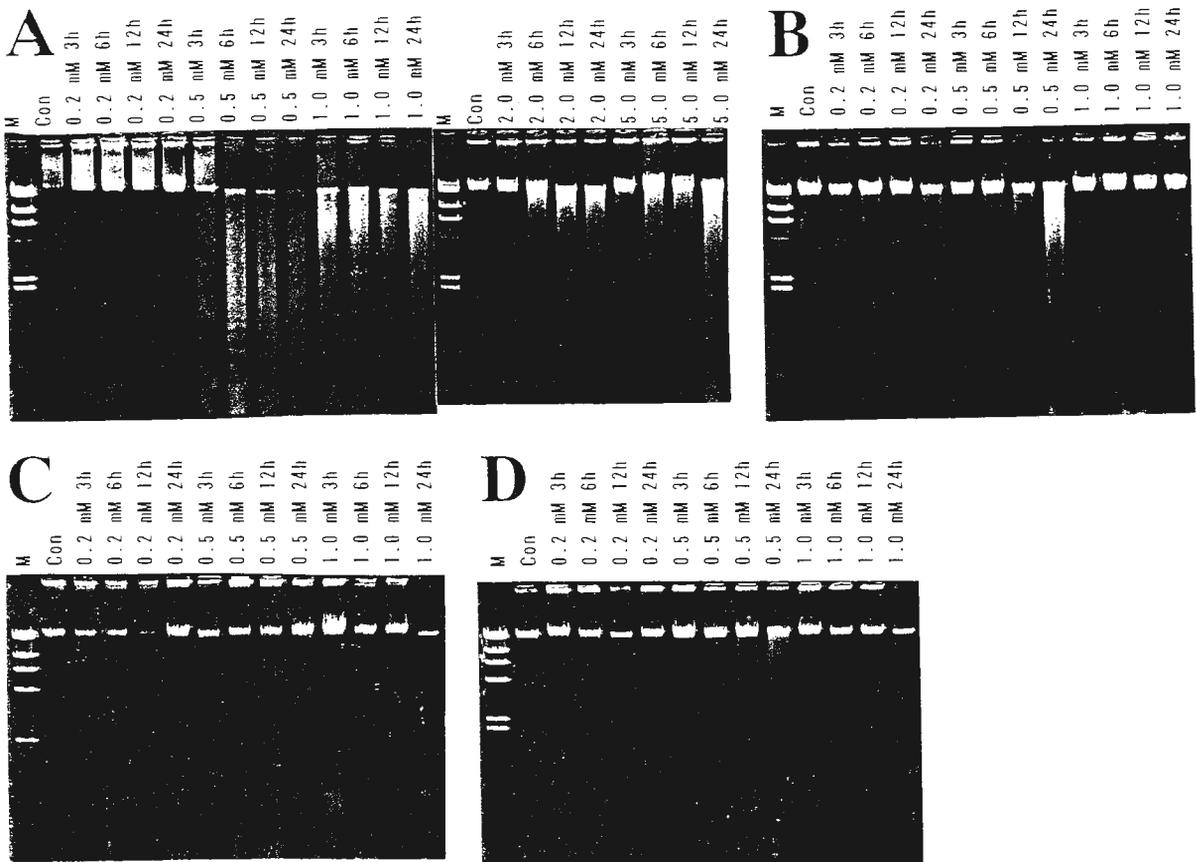
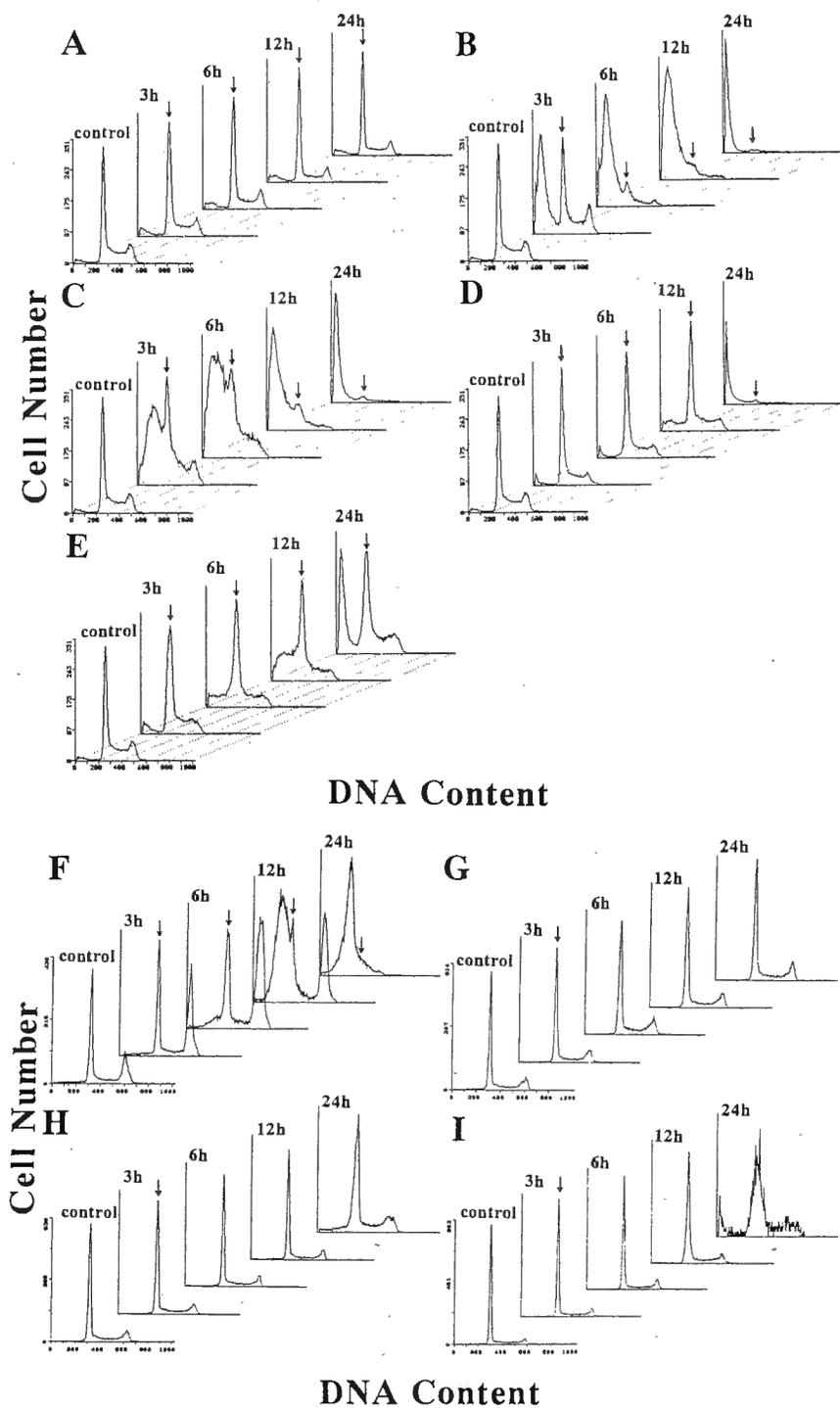


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of DNA from HL-60, HeLa S3 and WiDr cells treated with various doses of ethanol (for details, see "Materials and Methods"). The marker lane (M) contains DNA of 23,130, 9,416, 6,557, 4,361, 2,322, 2,027 and 564 base pairs. Con, control untreated cells. A, HL-60 cells: typical ladder patterns were evident at 3 to 24 h with 0.5 mM and at 3 to 6 h with 1.0 mM ethanol. With 0.2 mM, no change of DNA was seen. With 2.0 and 5.0 mM, only smear patterns were detected. B, Non-adherent HeLa S3 cells: a ladder pattern was observed only after 24 h with 0.5 mM ethanol. Control cells showed a slight smear pattern indicating some DNA degradation, probably due to the detachment. C, Adherent HeLa S3 cells: no significant DNA change was seen. D, Non-adherent WiDr cells: smear patterns were obvious with 0.5 mM ethanol. Control cells showed a slight smear pattern, like B.



pattern was seen and only smears were observed (Fig. 1A). DNA extracted from non-adherent HeLa S3 cells demonstrated a ladder pattern only with 0.5 mM ethanol after 24 h. The remainder showed no change of DNA (Fig. 1B). In the case of adherent HeLa S3 cells, no

change of DNA was observed at any time or with any dose of ethanol (Fig. 1C). DNA extracted from non-adherent WiDr cells showed a smear pattern after exposure to 0.5 mM ethanol (Fig. 1D). Almost all WiDr cells were detached after treatment with more than 0.5 mM

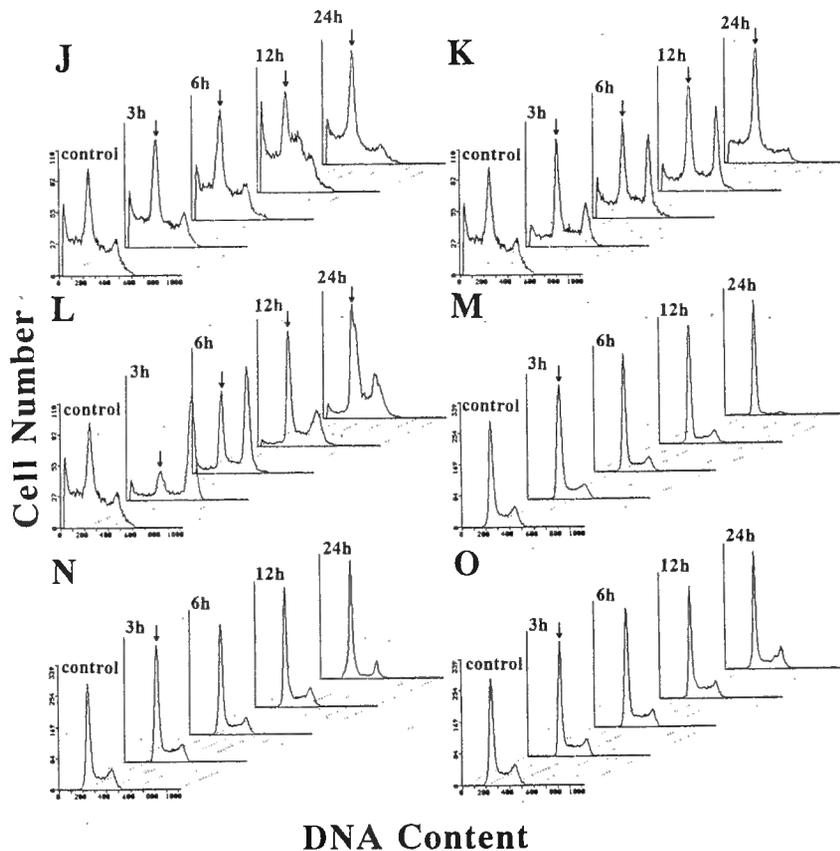


Fig. 2. DNA distribution histograms for HL-60, HeLa S3 and WiDr cells treated with ethanol (for details, see "Materials and Methods"). Arrows indicate  $G_0+G_1$  cells. A-E, HL-60 cells (A, 0.2 mM; B, 0.5 mM; C, 1.0 mM; D, 2.0 mM; E, 5.0 mM). Peaks of  $A_0$  cells (lower DNA content than  $G_0+G_1$  cells) were apparent with 0.5 and 1.0 mM ethanol after 3 h treatment, and almost all the cells contained smaller amounts of DNA than diploid cells at 24 h. At higher doses (2.0 and 5.0 mM),  $A_0$  cells appeared later than at lower doses. F-I, HeLa S3 cells (F, non-adherent with 0.5 mM ethanol; G, non-adherent with 1.0 mM; H, adherent with 0.5 mM; I, adherent with 1.0 mM). At 0.5 mM, elevation of the  $G_2+M$  peak followed by the appearance of  $A_0$  cells (12 h) was seen in non-adherent cells, although no significant change was observed in the remainder. J-O, WiDr cells (J, non-adherent with 0.2 mM ethanol; K, non-adherent with 0.5 mM; L, non-adherent with 1.0 mM; M, adherent with 0.2 mM; N, adherent with 0.5 mM; O, adherent with 1.0 mM). With non-adherent WiDr cells, marked  $G_2+M$  peak elevation was noted at 0.5 and 1.0 mM ethanol, although  $A_0$  cells were less prominent than with HL-60 or HeLa S3 cells. With 0.2 mM, slight accumulation in the S-phase was seen. In the adherent case, decrease of cells in the S-phase was observed with lower doses of ethanol (0.2 and 0.5 mM), although no significant change in the histograms was seen at 1.0 mM.

ethanol, and hence an examination of adherent WiDr cells could not be performed.

**Changes in DNA histograms** In HL-60 cells, typical peaks of  $A_0$  cells were observed at doses of more than 0.5 mM ethanol (Fig. 2B). With 0.5 and 1.0 mM ethanol,  $A_0$

cells were recognized as early as 3 h after beginning the exposure. In contrast, it was only after 24 h that  $A_0$  cells were observed at 2.0 and 5.0 mM ethanol. With adherent HeLa S3 cells, no significant change was observed until the 24 h time point at 0.5 or 1.0 mM ethanol. Non-

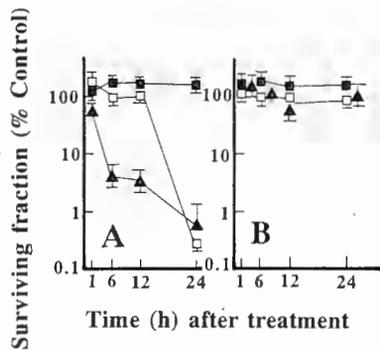


Fig. 3. Surviving fraction of HeLa S3 cells treated with ethanol (■, 0.2 mM; □, 0.5 mM; ▲, 1.0 mM). A, In non-adherent HeLa S3 cells, plating efficiency decreased after 12 h at 0.5 mM and after 1 h at 1.0 mM. B, With adherent HeLa S3 cells, little decrease of plating efficiency was seen ( $n=10$ ; bars, SE).

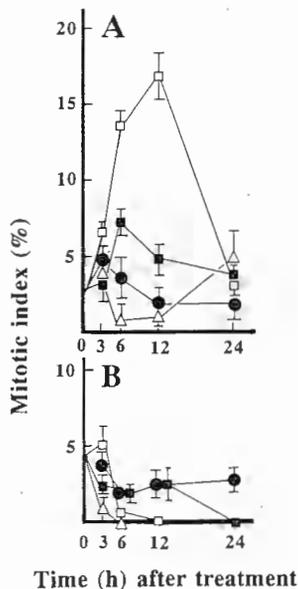


Fig. 4. Changes of mitotic indices of non-adherent HeLa S3 and HL-60 cells treated with ethanol (●, control; ■, 0.2 mM; □, 0.5 mM; △, 1.0 mM). A, The mitotic index of non-adherent HeLa S3 cells clearly increased after treatment with 0.5 mM ethanol, but not 0.2 or 1.0 mM. B, In HL-60 cells, mitotic indices were gradually decreased after treatment ( $n=5$ ; bars, SE).

adherent HeLa S3 cells showed an elevation of the G<sub>2</sub> + M peak after 3 h exposure to 0.5 mM ethanol, followed by the appearance of A<sub>0</sub> cells at 12 and 24 h, although no significant change was evident at 1.0 mM ethanol (Fig.

2G). With adherent WiDr cells, a decrease of S-phase cells was observed at low doses of ethanol (0.2 and 0.5 mM), although no significant change was seen at 1.0 mM. With non-adherent WiDr cells, however, marked elevation of the G<sub>2</sub> + M peak was noted at 0.5 and 1.0 mM ethanol, although A<sub>0</sub> cells were most apparent at 0.2 mM, accompanied by an accumulation of cells in the S-phase (Fig. 2J).

**Surviving fraction and mitotic indices** With non-adherent HeLa S3 cells, the surviving fraction was decreased significantly after 12 h at 0.5 mM and after 1 h at 1.0 mM ethanol (Fig. 3A). No marked decrease was evident with adherent HeLa S3 cells at doses from 0.2 to 1.0 mM and exposures from one to 24 h (Fig. 3B). The mitotic index greatly increased at 0.5 mM in non-adherent HeLa S3 cells (Fig. 4A). In contrast, no M-phase cells were observed at any dose or time point for adherent HeLa S3 cells (data not shown). In the case of non-adherent WiDr cells, mitotic indices could not be calculated because pronounced morphological changes occurred in nuclei. No significant change in the mitotic index was seen for HL-60 cells (Fig. 4B). Morphological changes of HL-60 and non-adherent HeLa S3 cells are shown in Fig. 5.

DISCUSSION

Since the DNA ladder pattern on gel electrophoresis was reported,<sup>10</sup> the hypothesis that internucleosomal (linker) DNA is cut by activated endonuclease on apoptotic cell death has become generally accepted. In our study, however, the fact that a smear pattern appeared instead of a ladder pattern after 12 h treatment with ethanol (0.5 mM) in HL-60 cells may indicate that cutting of DNA in nucleosomes occurred during prolonged cytotoxic stimulation, and that linker DNA scission was not an endpoint. To demonstrate the presence of a DNA ladder, the procedures of extraction and gel electrophoresis are rather cumbersome and time-consuming, so that some simpler method for detection of oligonucleosomal fragmentation has been sought.

Various cell features have been found useful to characterize the mode of cell death,<sup>11</sup> i.e., activation of an endonuclease in apoptotic cells resulting in loss of low-molecular-weight DNA through permeabilization of the membrane leads to decreased stainability with DNA-specific fluorochromes such as propidium iodide. Therefore, the appearance of cells with a lower DNA stainability than that of G<sub>0</sub> + G<sub>1</sub> cells (so-called A<sub>0</sub> cells or sub-G<sub>1</sub> peak) has been suggested as a marker of cell death by apoptosis.<sup>2,14</sup> Cell death by necrosis, on the other hand, due to poisoning or ischemia, is characterized by swelling of mitochondria and immediate loss of plasma membrane integrity.<sup>4</sup> At a certain phase of necrotic cell death, disappearance of chromatin and random degrada-

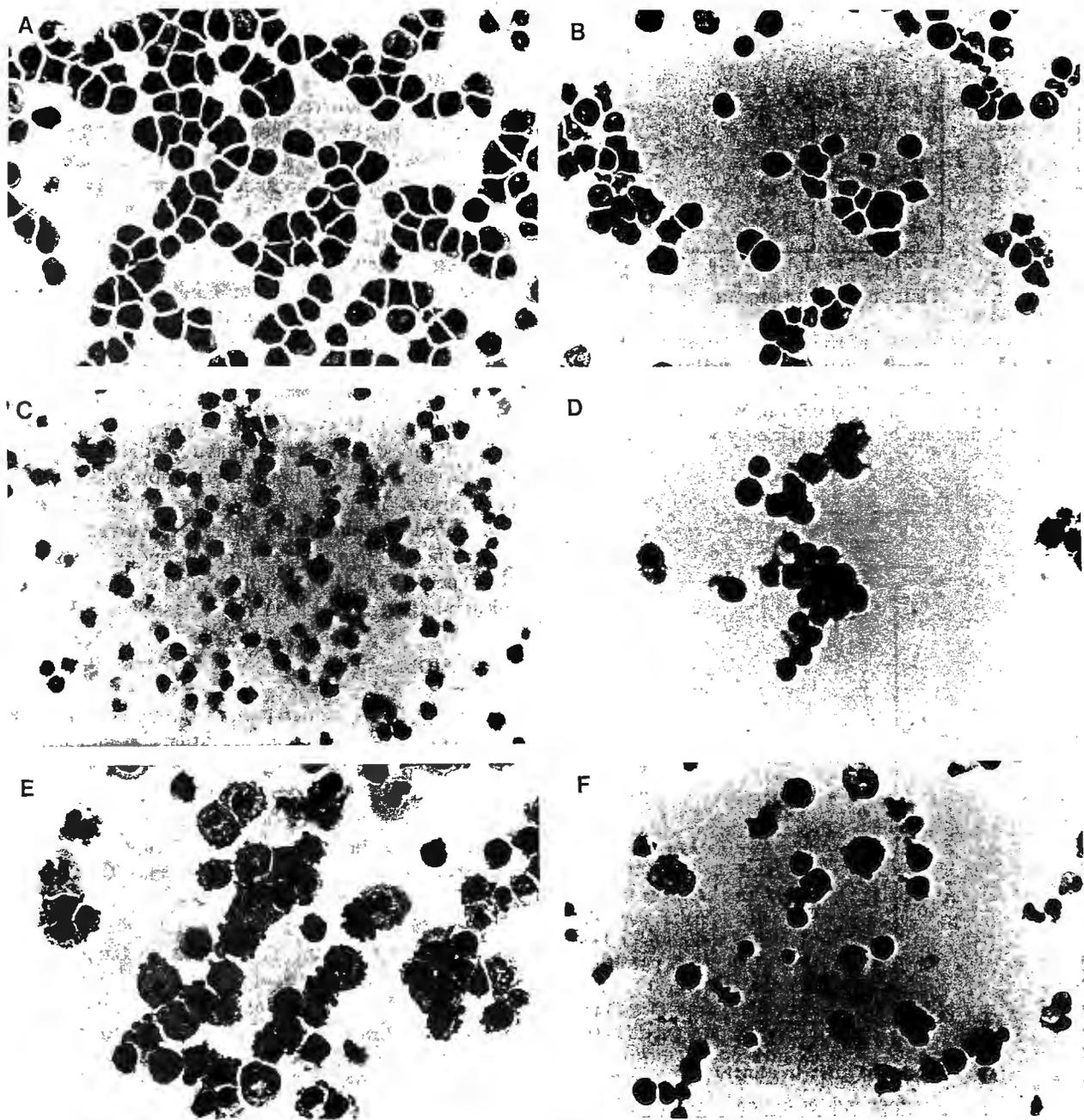


Fig. 5. Light microscopic morphology of HL-60 and HeLa S3 cells treated with ethanol (May-Giemsa,  $\times 320$ ). A-C, HL-60 cells (A, control; B, 0.5 mM at 3 h; C, 2.0 mM at 3 h). Shrinkage of cytoplasm and nuclear fragmentation were seen at 0.5 mM, but not at 2.0 mM. D-F, non-adherent HeLa S3 cells (D, control; E, 0.5 mM at 6 h; F, 0.5 mM at 24 h). Bulging of cytoplasm and many M-phase cells were seen at 6 h, followed by nuclear fragmentation at 24 h, but to a lesser extent than in the case of HL-60.

tion of DNA occur, which may result in loss of DNA content.<sup>4,5)</sup>

Lennon *et al.*<sup>12)</sup> reported that 5% (=0.86 mM) ethanol caused apoptotic cell death of HL-60 cells, whereas

10% caused necrotic cell death. In our study, peaks of  $A_0$  cells of HL-60 were recognized early (3 h) with low doses (0.2 and 0.5 mM) of ethanol, but later (24 h) at higher doses (2.0 and 5.0 mM). DNA gel electrophoresis

revealed a ladder pattern at 0.5 and 1.0 mM, but not 2.0 and 5.0 mM, so that the appearance of A<sub>0</sub> peaks with these latter doses cannot be considered due to internucleosomal DNA breaks. We conclude that DNA loss also occurred in cells that underwent necrotic cell death and DNA loss after necrotic cell death required more time than did cell death after DNA oligonucleosomal fragmentation.

Apoptotic cell death has mainly been studied with thymocytes<sup>13-15</sup>) or leukemic cell lines<sup>16-18</sup>) after irradiation<sup>19-21</sup>) or treatment with antineoplastic agents<sup>22-24</sup>) including corticosteroids. Some studies<sup>25, 26</sup>) have been carried out on human epithelial cells, but these have generally dealt with adherent cells. Many human epithelial cell lines grow as monolayers attached to the culture flasks, and it has been considered that dead and dying cells are detached after receiving cytotoxic stimulation. In the present study, non-adherent HeLa S3 cells showed a marked G<sub>2</sub>+M peak on flow cytometry before A<sub>0</sub> cells became apparent at 0.5 mM ethanol. This increase of the

G<sub>2</sub>+M population was attributed to an accumulation of cells in the M-phase on counting mitotic figures. With regard to the cell reproductivity, the surviving fraction of non-adherent HeLa S3 cells significantly decreased with 0.5 mM ethanol after 24 h, when these cells showed a ladder pattern of DNA in gel electrophoresis. It is therefore considered that the period of M-phase accumulation was partially reversible for HeLa S3 cells, but became irreversible after DNA oligonucleosomal fragmentation occurred. With the HL-60 cells, no M-phase accumulation was seen by flow cytometry and a ladder pattern could be detected by gel electrophoresis of DNA after 3 h treatment with ethanol, although 24 h exposure was necessary for non-adherent HeLa S3 cells. We consider that this difference in the presence of M-phase arrest and the time taken for DNA oligonucleosomal fragmentation between HL-60 and HeLa S3 probably reflects the time required for expression of oncogenes and/or tumor suppressor genes.

(Received August 8, 1996/Accepted November 7, 1996)

#### REFERENCES

- 1) Wyllie, A. H., Kerr, J. F. R. and Currie, A. R. Cell death: the significance of apoptosis. *Int. Rev. Cytol.*, **68**, 251-306 (1980).
- 2) Darzynkiewicz, Z., Bruno, S., Del Bino, G., Gorczyca, W., Hotz, M. A., Lassota, P. and Traganos, F. Features of apoptotic cells measured by flow cytometry. *Cytometry*, **13**, 795-808 (1992).
- 3) Veis, D. J., Sorenson, C. M., Shutter, J. R. and Korsmeyer, J. Bcl-2-deficient mice demonstrate fulminant lymphoid apoptosis, polycystic kidneys, and hypopigmented hair. *Cell*, **75**, 229-240 (1993).
- 4) Buja, L. M., Eigenbrodt, M. L. and Eigenbrodt, E. H. Apoptosis and necrosis: basic types and mechanisms of cell death. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **117**, 1208-1214 (1993).
- 5) Kerr, J. F. R., Winterford, C. M. and Harmon, B. V. Apoptosis: its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer*, **73**, 2013-2026 (1994).
- 6) Tomei, L. D., Shapiro, J. P. and Cope, F. O. Apoptosis in C3H/10T<sup>1/2</sup> mouse embryonic cells: evidence for internucleosomal DNA modification in the absence of double-strand cleavage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 853-857 (1993).
- 7) Brown, D. G., Sun, X. M. and Cohen, G. M. Dexamethasone-induced apoptosis involves cleavage of DNA to large fragments prior to internucleosomal fragmentation. *J. Biol. Chem.*, **268**, 3037-3039 (1993).
- 8) Oberhammer, F., Wilson, J. W., Dive, C., Morris, I. D., Hickman, J. A., Wakeling, A. E., Walker, P. R. and Sikorska, M. Apoptotic death in epithelial cells: cleavage of DNA to 300 and/or 50 kb fragments prior to or in the absence of internucleosomal fragmentation. *EMBO J.*, **12**, 3679-3684 (1993).
- 9) Kerr, J. F. R., Wyllie, A. H. and Currie, A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*, **26**, 239-257 (1972).
- 10) Wyllie, A. H. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous activation. *Nature*, **284**, 555-556 (1980).
- 11) Hotz, M. A., Traganos, F. and Darzynkiewicz, Z. Changes in nuclear chromatin related to apoptosis or necrosis induced by the DNA topoisomerase II inhibitor fostriecin in MOLT-4 and HL-60 cells are revealed by altered DNA sensitivity to denaturation. *Exp. Cell Res.*, **201**, 184-191 (1992).
- 12) Lennon, S. V., Martin, S. J. and Cotter, T. G. Dose-dependent induction of apoptosis in human tumour cell lines by widely diverging stimuli. *Cell Prolif.*, **24**, 203-214 (1991).
- 13) Cohen, J. J. and Duke, R. C. Glucocorticoid activation of a calcium-dependent endonuclease in thymocyte nuclei leads to cell death. *J. Immunol.*, **132**, 38-42 (1984).
- 14) Lyons, A. B., Samuel, K., Sanderson, A. and Maddy, A. H. Simultaneous analysis of immunophenotype and apoptosis of murine thymocytes by single laser flow cytometry. *Cytometry*, **13**, 809-821 (1992).
- 15) Lowe, S. W., Schmitt, E. M. and Smith, S. W. p53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature*, **362**, 847-849 (1992).
- 16) Gorczyca, W., Gong, J., Ardelt, B., Traganos, F. and Darzynkiewicz, Z. The cell cycle related differences in susceptibility of HL-60 cells to apoptosis induced by various antitumor agents. *Cancer Res.*, **53**, 3186-3192 (1993).

- 17) Miyashita, T. and Reed, J. C. Bcl-2 oncoprotein blocks chemotherapy-induced apoptosis in a human leukemic cell line. *Blood*, **81**, 151-157 (1993).
- 18) Lotem, J. and Sachs, L. Hematopoietic cytokines inhibit apoptosis induced by transforming growth factor- $\beta$ -1 and cancer chemotherapy compounds in myeloid leukemic cells. *Blood*, **80**, 1750-1757 (1992).
- 19) Baxter, B. D. and Lavin, M. F. Specific protein dephosphorylation in apoptosis induced by ionizing radiation and heat shock in human lymphoid tumor lines. *J. Immunol.*, **148**, 1949-1954 (1992).
- 20) Umansky, S. R. Apoptotic process in the radiation-induced death of lymphocytes. In "Current Communications in Cell & Molecular Biology 3. Apoptosis: The Molecular Basis of Cell Death," ed. L. D. Tomei and F. O. Cope, pp. 193-208 (1991). Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- 21) Yamada, T. and Ohyama, H. Radiation-induced interphase death of rat thymocytes is internally programmed (apoptosis). *Int. J. Radiat. Biol.*, **53**, 65-75 (1988).
- 22) Barry, M. A., Behnke, C. A. and Eastman, A. Activation of programmed cell death (apoptosis) by cisplatin, other anticancer drugs, toxins and hyperthermia. *Biochem. Pharmacol.*, **40**, 2353-2362 (1990).
- 23) Grant, S., Jarvis, W. D., Swerdlow, P. S., Turner, A. J., Traylor, S., Wallace, H. J., Lin, P. S., Pettit, G. R. and Gewirtz, D. A. Potentiation of the activity of 1- $\beta$ -D-arabinofuranosylcytosine by the protein kinase C activator bryostatin 1 in HL-60 cells: association with enhanced fragmentation of mature DNA. *Cancer Res.*, **52**, 6270-6278 (1992).
- 24) Dive, C. and Hickman, J. A. Drug-target interactions: only the first step in the commitment to a programmed cell death? *Br. J. Cancer*, **64**, 192-196 (1991).
- 25) Meikrantz, W., Gisselbrecht, S., Tam, S. W. and Schlegel, R. Activation of cyclin A-dependent protein kinases during apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 3754-3758 (1994).
- 26) Bertrand, R., Sarang, M. and Jenkin, J. Differential induction of secondary DNA fragmentation by topoisomerase II inhibitors in human tumor cell lines with amplified c-myc expression. *Cancer Res.*, **51**, 6280-6285 (1991).

# Histologic Features and Clinical Significance of Venous Invasion in Colorectal Carcinoma with Hepatic Metastasis

Kiyoaki Ouchi, M.D.<sup>1</sup>  
 Tohoru Sugawara, M.D.<sup>1</sup>  
 Hidemaro Ono, M.D.<sup>1</sup>  
 Tsuneaki Fujiya, M.D.<sup>1</sup>  
 Yasuhiko Kamiyama, M.D.<sup>1</sup>  
 Yoichiro Kakugawa, M.D.<sup>1</sup>  
 Junichi Mikuni, M.D.<sup>1</sup>  
 Hiroo Tateno, M.D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Surgery, Miyagi Cancer Center, Natori, Japan.

<sup>2</sup> Department of Pathology, Miyagi Cancer Center, Natori, Japan.

Address for reprints: Kiyoaki Ouchi, M.D., Department of Surgery, Miyagi Cancer Center, 47-1 Nodayama, Shiode-Medeshima, Natori 981-12, Japan.

Received April 22, 1996; revision received July 31, 1996; accepted August 12, 1996.

**BACKGROUND.** In colorectal carcinoma, venous invasion has been related to patient survival. Liver metastasis develops more frequently when venous invasion is present. However, the histologic features and clinical significance of venous invasion are not well understood.

**METHODS.** A histologic study of venous invasion in colorectal carcinoma was performed on 19 patients with synchronous hepatic metastasis (Group A), 16 patients with metachronous hepatic metastasis (Group B), and 26 patients with Dukes Stage C tumors who survived for 5 years without recurrence (Group C). The histologic features of venous invasion were classified into three types: tumor cells that were distant from the vein walls were categorized as floating type, those filling the lumen of a vein as filling type, and those surrounded by a vein obliterated with inflammatory reaction as occlusive type.

**RESULTS.** Venous invasion was present in 89.5% of Group A patients and 75% of Group B patients, which was significantly higher than the 15.4% observed in Group C patients ( $P < 0.001$ ). A slight to extensive degree of venous invasion was found in Groups A and B, but no extensive venous invasion was found in Group C. All patients in Groups A and B (except one patient) had floating, filling, or a combination of floating and filling types of venous invasion, whereas all patients in Group C had the occlusive type of venous invasion. A majority of the patients in all three groups showed invasion of extramural veins.

**CONCLUSIONS.** There is a close relationship between venous invasion and the development of liver metastasis in patients with colorectal carcinoma. Patients with no sign of metastasis had a lower incidence and lower extent of venous invasion, and inflammatory damage to the vein walls around the intravenous tumor appeared to reduce the likelihood of distant metastasis. *Cancer* 1996; 78:2313-7.

© 1996 American Cancer Society.

**KEYWORDS:** venous invasion, colorectal carcinoma, hepatic metastasis, Dukes Stage C.

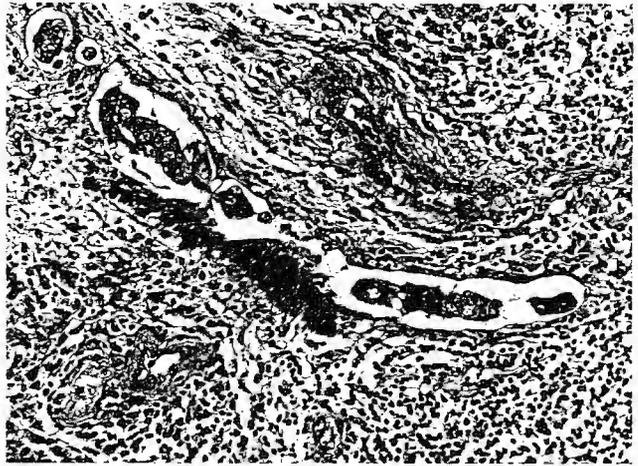
In patients with colorectal carcinoma, the determination of venous invasion is the best method for predicting visceral metastasis. The most common site for visceral metastasis is the liver. The survival rate of patients in whom carcinoma had invaded veins is reported to be clearly lower than in patients with no venous invasion.<sup>1-4</sup> Previous microscopic studies have reported the incidence of venous invasion to be between 10-60%.<sup>1,2,5-8</sup> The differences are due to the methods of identifying venous invasion. Elastic tissue stain, which was used in this study, allows much more accurate identification of venous invasion than hematoxylin and eosin.<sup>1,8</sup> The incidence of venous invasion increased with the histologic grade of the tumors and also ac-

cording to Dukes method of classification.<sup>3,7</sup> Burns et al.<sup>9</sup> reported that 74% of patients with histologic vascular tumor invasion from surgical carcinoma excision ultimately develop neoplastic metastasis. However, the histologic features and clinical significance of venous invasion are not well understood. Therefore, this study was performed to assess the histologic features of venous invasion through classifying patterns of venous invasion in patients who were diagnosed as having both liver metastasis and colorectal carcinoma (synchronous liver metastasis), and who manifested evident liver metastasis during the follow-up period after colorectal resection (metachronous liver metastasis). A comparative evaluation of venous invasion was performed in Dukes Stage C patients who survived 5 years or longer without any sign of metastasis after curative resection of colorectal carcinoma.

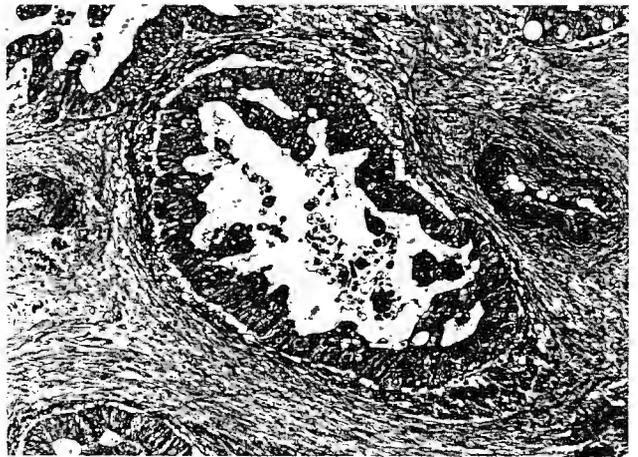
### PATIENTS AND METHODS

The clinical and pathologic records of 61 patients with colorectal carcinoma who underwent surgery at the Miyagi Cancer Center since 1985 were reviewed. The patients included 35 men and 26 women, and their age ranged from 35 to 84 years (mean age, 58.4 years). The tumor regions were as follows: cecum (6 patients), ascending colon (9 patients), transverse colon (8 patients), descending colon (1 patient), sigmoid colon (8 patients), rectosigmoid (9 patients), rectum above the peritoneal reflection (9 patients), and rectum below the peritoneal reflection (11 patients). Nineteen patients were synchronously diagnosed as having colorectal carcinoma and metastatic liver tumor (synchronous group). Five of these patients underwent simultaneous resection of the colon or rectum and the liver, whereas the others only underwent colorectal resection. Sixteen patients were metachronously diagnosed as having liver metastasis during the follow-up period after colorectal resection (metachronous group). Thirteen of these 16 patients were defined as Dukes Stage C, and the remaining 3 patients as Dukes Stage B at the time of colorectal surgery. Eight patients in this group subsequently underwent hepatic resection for hepatic metastasis. A comparative study was also performed in 26 Dukes Stage C patients who survived 5 years or longer without any sign of recurrence after colorectal resection (recurrence free group).

Specimens were resected from the colon and rectum, and several representative sections were examined microscopically. Sections from the deepest area of tumor penetration were always included. Each section was examined with hematoxylin and eosin (H & E) and Elastica-Masson stains. Venous invasion was recognized when tumor tissue was observed within an endothelium-lined space that was either surrounded

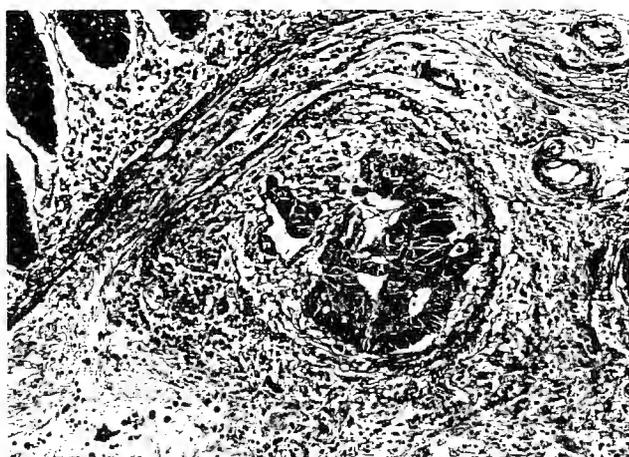


**FIGURE 1.** Histologic section of the floating type of venous invasion (H & E stain,  $\times 114$ ). There is a large space between invading tumor cells and the endothelial membrane of the vein.



**FIGURE 2.** Histologic section of the filling type of venous invasion (Elastica-Masson tissue stain,  $\times 114$ ). The entire endothelial membrane of the vein has been replaced by a thick layer of carcinoma tissue that shows gland formation. The vein shows no inflammatory reaction within its wall and the lumen is still widely patent.

by a rim of muscle or contained red blood cells. Histologic features of venous invasion were classified into three types: tumor cells that were distant from the vein walls were categorized as floating type (Fig. 1), those filling the lumen of a vein with or without recanalized space at the center of a vein as filling type (Fig. 2), and those growing in the lumen and showing marked thickening and inflammatory reaction with its walls and the surrounding tissue as occlusive type (Fig. 3). The sites of venous invasion in the colorectal wall were examined. The degree of venous invasion was ex-



**FIGURE 3.** Histologic section of the occlusive type of venous invasion (Elastica-Masson tissue stain,  $\times 224$ ). The vein with adenocarcinoma tissue in its lumen shows complete occlusion with marked thickening and an inflammatory reaction within its wall.

pressed as v0, v1, v2, or v3 according to extent, based on the general rules for clinical and pathologic studies on carcinoma of the colon, rectum, and anus in Japan: v0 indicates no venous invasion, v1 indicates minimal invasion demonstrating one or two invaded veins, v2 indicates moderate invasion demonstrating three to five invaded veins, and v3 indicates extensive invasion demonstrating six or more invaded veins in the histologic section.

Statistical analysis of the incidence of venous invasion among the three groups was performed by the chi-square test.

## RESULTS

Venous invasion was found in 17 of 19 patients (89.5%) with synchronous hepatic metastasis, and 12 of 16 patients (75.0%) with metachronous hepatic metastasis. Although there was no significant difference in the incidence of venous invasion between synchronously metastasizing patients with or without hepatic resection, the incidence of venous invasion was significantly higher in metachronously metastasizing patients who did not undergo hepatic resection than in those who underwent hepatic resection ( $P < 0.05$ ). In contrast, only 4 of 26 patients (15.4%) in the recurrence free group showed venous invasion, and the incidence of venous invasion was significantly lower than that in patients with synchronous or metachronous hepatic metastases ( $P < 0.001$ ) (Table 1).

A slight to extensive degree of venous invasion (v1–3) was found both in the synchronously metastasizing and metachronously metastasizing groups, but extensive venous invasion (v3) was not present in the

recurrence free group. The extent of venous invasion in patients with hepatic metastasis was significantly higher than that of patients without any sign of recurrence ( $P < 0.001$ ) (Table 2).

All patients but one with synchronous metastasis and all patients with metachronous metastasis had floating, filling, or a combination of floating and filling types of venous invasion, whereas all patients without recurrence had occlusive or a combination of occlusive and filling types of venous invasion (Table 3).

The majority of patients in all three groups had invasion of veins outside the muscle of the colorectal wall (subserosa or beyond, or extramural) with or without concomitant involvement of the submucosa (Table 4).

## DISCUSSION

The survival rate of patients with colorectal carcinoma was significantly lower in patients with venous invasion than in those without.<sup>1,4</sup> Some investigators<sup>10,11</sup> have reported that venous invasion retained independent prognostic significance, whereas other investigators<sup>12–14</sup> failed to confirm it as an independent prognosticator. The incidence of venous invasion increased with the histopathologic stage. Dionne et al.<sup>15</sup> reported that in the group with lymphatic metastasis (Dukes Stage C) the incidence of vascular metastasis was three times higher than in the group without lymphatic spread (Dukes Stages A and B). Therefore, to clarify the histologic features of venous invasion, Dukes Stage C patients who survived 5 years or longer without any sign of recurrence were selected as the control group. All patients with synchronous hepatic metastasis and a majority of patients with metachronous hepatic metastasis also had Dukes Stage C colorectal carcinoma.

Talbot et al.<sup>16</sup> classified the type of venous invasion into two types: one type had naked tumor cells in contact with blood in the extramural vein of the rectum (occlusive type) and the other did not (nonocclusive type). The latter appeared to adversely affect survival. Venous invasion was classified into three types (floating, filling, and occlusive). Some invaded veins were found to have carcinoma cells distant from the vein walls and appeared to be floating free in the vessels (floating type). In this type the vein wall was intact apart from the point of attachment of singly or mass-forming tumor to the endothelial lining. Although other vessels were found to be totally or partially filled with carcinoma, nests showed a glandular, papillary, or solid configuration (filling type). Although most patients had no significantly associated damage to the vein wall, some had partially damaged vein walls in this type of invasion. In both types of venous invasion, the lumen appears to be still patent. These are

TABLE 1  
Patients Positive or Negative for Venous Invasion in Colorectal Carcinoma and with Various Types of Hepatic Metastasis

Hepatic metastasis	Venous invasion			P value
	Positive patients	Negative patients	Positive rate (%)	
Synchronous	17 <sup>(13)</sup> <sub>[4]</sub>	2 <sup>(1)</sup> <sub>[1]</sub>	89.5 <sup>(92.9)</sup> <sub>[80]</sub>	] < 0.05 ] < 0.001 ] < 0.001
Metachronous	12 <sup>(8)</sup> <sub>[4]</sub>	4 <sup>(0)</sup> <sub>[4]</sub>	75 <sup>(100)</sup> <sub>[50]</sub>	
Recurrence free	4	22	15.4	

( ): nonhepatectomized patients; [ ]: hepatectomized patients.

TABLE 2  
Patients with Various Extents of Venous Invasion and with Various Types of Hepatic Metastasis

Hepatic metastasis	Intensity of venous invasion				P value
	V0	V1	V2	V3	
Synchronous	2	8	6	3	] < 0.001 ]
Metachronous	4	3	6	3	
Recurrence free	22	3	1		

V: degree of venous invasion; V0: no venous invasion; V1: minimal invasion demonstrating one or two invaded veins; V2: moderate invasion demonstrating three to five invaded veins; V3: extensive invasion demonstrating six or more invaded veins.

TABLE 3  
Patients Showing Various Features of Venous Invasion and Various Types of Hepatic Metastasis

Hepatic metastasis	Feature of venous invasion				
	Floating	Filling	Floating with filling	Occlusive with filling	Occlusive
Synchronous	3	8	5	1	
Metachronous	2	7	3		
Recurrence free				2	2

TABLE 4  
Patients with Venous Invasion at Various Depths of the Colorectal Wall and with Various Types of Hepatic Metastasis

Hepatic metastasis	Site of venous invasion			
	Submucosa	Muscularis propria	Extramural <sup>a</sup> and submucosa	Extramural
Synchronous	2		6	9
Metachronous	1	2	5	4
Recurrence free	1		1	2

<sup>a</sup> Extramural layer includes the colonic wall deeper than subserosa.

the vessels of greatest concern, for it is reasonable to assume that showers of malignant emboli are released from these vessels into the main venous channels of the portal system. The filling type was the most commonly observed among the three types of hepatic in-

vasion in patients with hepatic metastasis, but the floating type containing mass-forming tumor, in particular, appeared to imply the most likelihood of distant metastasis. This is a reason why the floating type was differentiated from the filling type of venous in-

sion. However, clinical significance of this differentiation was not clearly demonstrated in the current study's relatively small number of cases. All patients with synchronous hepatic metastasis and all patients but one with metachronous hepatic metastasis had floating, filling, or a combination of floating and filling types of venous invasion. Involvement of the vein appears to be associated with distant liver metastasis. Although 2 of the 19 synchronously metastasized patients and 4 of the 16 metachronously metastasized patients showed no venous invasion, it is possible that venous invasion occurred without being histologically demonstrable. The incidence of venous invasion tended to be higher in patients with synchronous hepatic metastasis than in patients with metachronous hepatic metastasis, although the difference was not statistically significant. In the latter group, despite the fact that no visible metastasis was recognized at the time of colorectal surgery, it is possible that micrometastasis existed at the time of surgery in patients with or even without histologic venous invasion. Patients with metachronous hepatic metastasis, on whom hepatic resection was not performed due to local advancement of metastatic lesions, showed a higher incidence of venous invasion than patients who underwent hepatic resection.

Invaded veins that showed inflammatory reaction around the adenocarcinoma tissue, including the process of endarteritis obliterans of the vein, were categorized as the occlusive type. In most of the cases the wall of the invaded vein was destroyed and replaced by fibrous tissue and the space between the tumor and the endothelial lining obliterated. In contrast to the patients with synchronous or metachronous liver metastases, patients without any sign of metastasis had a lower incidence and lower extent of venous invasion, and were all categorized as having the occlusive type of venous invasion. Although the etiology of the inflammatory reaction of veins in which tumor cells are involved needs to be investigated further, it is known that tumor cells are bathed in blood plasma and serum, and if clotting occurs they are exposed to the destructive action of the leukocytes.<sup>17</sup> The endothelial surfaces present great resistance to the spread of growing tumors,<sup>18</sup> and the inflammatory reaction of veins appears to protect the host from tumor embolism.

Venous invasion is found most frequently outside the muscle wall of the colon and rectum (subserosa or beyond, or extramural), along the deep edge of the tumor. The next most common site is in the submucosa. Talbot et al.<sup>2,7</sup> reported that invasion of extramural veins significantly reduces the 5-year survival rate of Dukes Stage B and C patients, and when thick-walled extramural veins are involved, the prognosis is particularly poor. Although

the incidence, extent, and histologic features of venous invasion in patients with colorectal carcinoma are different between those with liver metastases and those without, the site of venous invasion in the colorectal wall is the same. The authors have been unable to demonstrate a relationship between depth of venous invasion through the colorectal wall and hepatic metastasis in their relatively small number of cases.

## REFERENCES

1. Sunderland DA. The significance of vein invasion by cancer of the rectum and sigmoid: a microscopic study of 210 cases. *Cancer* 1949;2:429-37.
2. Talbot IC, Ritchie S, Leighton MH, Hughes AO, Bussey HJR, Morson BC. Spread of rectal cancer within veins: histologic features and clinical significance. *Am J Surg* 1981;141:15-7.
3. Horn A, Dahl O, Morild I. The role of venous and neural invasion on survival in rectal adenocarcinoma. *Dis Colon Rectum* 1990;33:598-601.
4. Bentzen SM, Pedersen M, Teglbjaerg PS, Hanberg-Sorensen F, Bone J, Jacobsen NO, et al. Time to loco-regional recurrence after resection of Dukes' B and C colorectal cancer with or without adjuvant postoperative radiotherapy: a multivariate regression analysis. *Br J Cancer* 1992;65:102-7.
5. Moore G, Sako K. The spread of carcinoma of the colon and rectum: a study of invasion of blood vessels, lymph nodes and the peritoneum by tumor cells. *Dis Colon Rectum* 1959;2:92-7.
6. Carrol SE. The prognostic significance of gross venous invasion in carcinoma of the rectum. *Can J Surg* 1963;6:281-8.
7. Talbot IC, Ritchie S, Leighton H, Hughes AO, Bussey HJR, Morson BC. The clinical significance of invasion of veins by rectal cancer. *Br J Surg* 1980;67:439-42.
8. Iijima T. Pharmacoaangiographic diagnosis of venous invasion of carcinoma of the colon with reference to liver metastases. *Dis Colon Rectum* 1988;31:718-22.
9. Burns FJ, Pfaff J. Vascular invasion in carcinoma of the colon and rectum. *Am J Surg* 1956;92:704-9.
10. Horn A, Dahl O, Morild I. Venous and neural invasion as predictors of recurrence in rectal adenocarcinoma. *Dis Colon Rectum* 1991;34:798-804.
11. Harrison JC, Dean PJ, El-Zeky F, Zwaag RV. From Dukes through Jass: pathological prognostic indicators in rectal cancer. *Hum Pathol* 1994;25:498-505.
12. Khankhanian N, Mavlight GM, Russel WO, Schimek M. Prognostic significance of vascular invasion in colorectal cancer of Dukes' B class. *Cancer* 1977;39:1195-200.
13. Jass JR, Love SB, Northover JMA. A new prognostic classification of rectal cancer. *Lancet* 1987;1:1303-6.
14. Deans GT, Heatley M, Patterson CC, Moorehead RJ, Parks TG, Rowlands BJ, et al. Colorectal carcinoma: importance of clinical and pathological factors in survival. *Ann R Coll Surg Engl* 1994;76:59-64.
15. Dionne L. The pattern of blood-borne metastasis from carcinoma of the rectum. *Cancer* 1965;18:775-81.
16. Talbot IC, Ritchie S, Leighton M, Hughes AO, Bussey HJR, Morson BC. Invasion of veins by carcinoma of rectum: method of detection, histological features and significance. *Histopathology* 1981;5:141-63.
17. Barringer PL, Dockerty MB, Waugh JM, Barga JA. Carcinoma of the large intestine: a new approach to the study of venous spread. *Surg Gynecol Obstet* 1954;98:62-72.
18. Haaland M. Uber Metastasenbildung beim Maeusekrebs vom Jensenschen Typus. *Dtsch Med Wochenschr* 1905;31:1239-40.

## Abnormalities and the Implication of Retinoblastoma Locus and its Protein Product in Head and Neck Cancers

JUNKICHI YOKOYAMA<sup>1,3</sup>, KIYOTO SHIGA<sup>1,3</sup>, HIRONOBU SASANO<sup>2</sup>,  
MAMORU SUZUKI<sup>1</sup> and TOMONORI TAKASAKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Otolaryngology, <sup>2</sup>Department of Pathology, Tohoku University School of Medicine, Sendai;  
<sup>3</sup>Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Miyagi Cancer Center, Miyagi, Japan

**Abstract.** Abnormalities in the Retinoblastoma tumor suppressor gene (*Rb*) have been observed in a large number of human cancers. Loss of heterozygosity (LOH) is a common mode of allelic inactivation of *Rb* and other tumor suppressor genes. We investigated DNA from 45 primary human head and neck cancers to determine LOH at the *Rb* locus using a polymerase chain reaction-based restriction fragment length polymorphism assay. Of informative cases, we found LOH in 4 of 28 (14%) head and neck cancers. By immunohistochemical staining of *Rb* protein, we found that in one of ten LOH negative cases the nuclei of fibroblasts were stained with anti-*Rb* antibody but there was no nuclear staining tumor cells. These results suggest that inactivation of *Rb* protein is involved in the carcinogenesis of head and neck cancer at all levels of the process of protein expression: DNA, mRNA and protein.

It is widely accepted that the retinoblastoma gene (*Rb*) is implicated in the pathogenesis and/or progression of a broad range of human malignancies (1-9). The *Rb* gene product is expressed in the nuclei of living cells in a cell cycle-dependent manner, and it is believed that the gene contributes to carcinogenesis when both chromosomal copies of the gene are inactivated. Mechanisms of *Rb* inactivation include point mutation, rearrangement, and deletion, the latter which can be intragenic or more extensive (1-9). Loss of heterozygosity

*Correspondence to:* Kiyoto Shiga, M.D., Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Miyagi Cancer Center, 47-1 Nodayama, Medeshima-Shiode, Natori, Miyagi, 981-12 Japan. Telephone number: 022-384-3151, Fax number: 022-381-1145.

**Key Words:** Head and neck cancer, *Rb*, LOH, immunohistochemistry.

(LOH) is the most common mode of allelic inactivation of the *Rb* gene and other tumor suppressor genes. Studies using molecular biological techniques for head and neck cancers are gradually developing. The objective of our study was to determine the implications of tumor suppressor genes in human head and neck cancers by analysing the frequency of LOH at the *Rb* gene locus. We investigated DNA from 45 primary human head and neck cancers for LOH at the *Rb* gene locus using the polymerase chain reaction-based restriction fragment length polymorphism assay. At the same time, to detect the protein expression in the tumor cells, immuno-histochemical analysis was conducted.

### Materials and Methods

**Materials.** Tumor tissues and normal tissues from 45 patients with head and neck cancer were obtained from surgically resected specimens under approved protocols at Tohoku University Hospital from 1987 to 1993. They included 13 tongue carcinomas, 14 laryngeal carcinomas, 9 maxillary carcinomas, and 9 pharyngeal carcinomas. All tumor samples were revealed to be squamous cell carcinomas by histological analysis. A blood sample was obtained from each patient to use lymphocytes as a normal counterpart when available.

**DNA extraction.** Microdissection of tumor tissue fixed with formaldehyde and embedded in paraffin was performed to assure a maximum percentage of tumor in each specimen. DNA was extracted using standard procedures (13) described briefly as follows: the normal and tumor tissues were incubated at 37°C for 1 hour with 500 µg/ml RNase A, 4 M urea and 0.5% sodium lauryl sarcosinate in 100 mM Tris-HCl (pH 8.0)/10 mM ethylenediamine tetraacetic acid. The samples were then incubated overnight at 50°C with 0.5 mg/ml Proteinase K in the same solution. DNA was extracted with an equal volume of Tris-saturated phenol (pH 8.0)/chloroform. The DNA was precipitated with 2.5 M ammonium acetate and 2.5 volumes of ethanol overnight at -70°C. DNA concentrations were determined by optical absorbance at 260 nm.

**PCR amplification.** The primer set used in this experiment was 5'-ACCTCAGCCTCCTTAGTAGA-3' and 5'-CTCTAGACTAATCCCA-

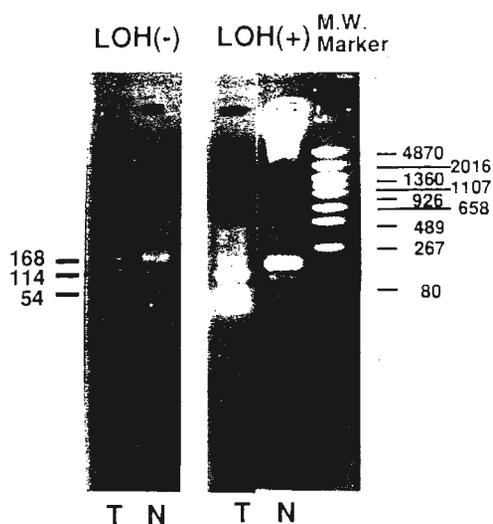


Figure 1. Identification of LOH in the Rb gene by PCR-RFLP analysis. DNA was extracted from paraffin-embedded specimens (T) and blood samples (N) and subjected to amplification of a part of intron 17 of the Rb gene. PCR products were purified, digested by XbaI and separated on 2.0% agarose gel. The left and right panels show an LOH negative and an LOH positive case, respectively. The M. W. Marker used in this experiment was pHY Marker™ (Takara Shuzo Co., Ltd.). Sizes of DNA bands are indicated in base pairs.

-GCAC-3'. Each primer was 20 bases in length and corresponded to intron 17 of the Rb gene. Extracted genomic DNA (0.2-1 µg), 100 pmol of each primer, 200 µM of all four deoxynucleotide triphosphates (dNTP), reaction buffer, 5 units of *Tth* DNA polymerase (Toyobo Co. Ltd) were mixed well and reacted in a total volume of 100 µl. PCR was performed for 30 cycles under optimal conditions, i.e., 1 minute at 94°C, 1 minute at 60°C, and 1 minute at 72°C. PCR products were electrophoresed on 2% agarose gel to determine whether or not the reaction had succeeded. Purified PCR products were digested with *Xba*I restriction endonuclease and were separated by electrophoresis on 2% agarose gel.

**Immunohistochemistry.** The highly specific affinity-purified monoclonal anti-Rb gene protein antibody NCL-RB I (Novocastra Laboratories Ltd.) was used. Immunohistochemical analysis was performed on acetone-fixed frozen tissue sections by the standard ABC method. Briefly, the sections were washed in phosphate-buffered saline followed by preincubation with 1.5% normal goat serum in phosphate buffer within a moist chamber for 4 hours at room temperature. Those sections were then incubated overnight with NCL-RB I antibody. After being washed with phosphate buffered saline, the slides were processed for immunostaining with the avidinbiotinylated peroxidase complex method (Vecter Laboratories, Burlingame, CA) according to the manufacturer's instructions. The tissue sections were briefly counterstained with methylgreen before mounting.

**Results**

We used *Xba*I restriction fragment length polymorphism which exists at intron 17 of the Rb gene: this restriction endonuclease cleaved the PCR product of 168 base pairs into 114 base pair and 54 base pair fragments in our experiment. When the *Xba*I digested PCR product was separated on agarose gel, informative cases were detected, namely, those in

Table I. Loss of heterozygosity of the Rb gene in head and neck cancers.

Patient No.	Site <sup>§</sup>	Stage <sup>¶</sup>	Heterozygosity	LOH
1	NP	IV	+	-
2	L	II	+	-
3	M	IV	+	+
4	T	II	+	+
5	T	II	-	
6	NP	III	-	
7	T	III	+	-
8	L	III	+	-
9	L	IV	+	-
10	L	I	-	
11	OP	IV	-	
12	L	IV	+	-
13	M	IV	+	-
14	M	IV	-	
15	T	IV	+	-
16	T	I	+	-
17	T	IV	-	
18	T	II	+	-
19	M	IV	-	
20	L	I	+	-
21	M	II	+	-
22	L	III	-	
23	T	II	+	-
24	L	I	+	-
25	HP	IV	-	
26	OP	IV	+	-
27	M	IV	-	
28	L	II	+	-
29	L	I	+	-
30	HP	III	-	
31	T	IV	+	-
32	T	III	-	
33	M	IV	-	
34	L	IV	-	
35	NP	IV	-	
36	NP	IV	+	-
37	L	I	+	+
38	OP	III	+	+
39	L	IV	+	-
40	L	IV	+	-
41	L	II	-	
42	T	IV	+	-
43	T	IV	+	-
44	M	IV	+	-
45	T	II	-	

<sup>§</sup>NP = Nasopharyngeal carcinoma; L = Laryngeal carcinoma; M = Maxillary carcinoma; T = Tongue carcinoma; OP = oropharyngeal carcinoma; HP = hypopharyngeal carcinoma.

<sup>¶</sup>Stage was classified into five categories (0.I.II.III.IV) according to the UICC classification.

which heterozygote exhibited the presence of three bands (168, 114 and 54 bp). Typical results are shown in Figure 1. Lane N represents normal tissue. Lane T represents a tumor. The panel on the right shows LOH positive and the panel on the left shows LOH negative. The upper-most band was diminished in this LOH positive case.

In tongue carcinomas, there were 9 informative cases out of a total of 13 cases (69%), and in laryngeal carcinomas, there were 11 out of a total of 14 cases (79%). In maxillary carcinomas, there were 4 out of a total of 9 cases (44%), and in pharyngeal carcinomas, there were 4 out of a total of 9 cases (44%). In total, there were 28 informative cases out of a total of 45 cases (62%).

The results of our PCR-LOH study are shown in Table I. In tongue carcinomas, LOH was found in 1 out of 9 (11%) informative cases, in laryngeal carcinomas, in 1 out of 11 (9%) informative cases, in maxillary carcinomas, in 1 out of 4 (25%) informative cases, and in pharyngeal carcinomas, in 1 out of 4 (25%) informative cases. In total, LOH of the Rb gene was found in 4 out of 28 (14%) informative cases. These results are summarized in Table II. One case of maxillary carcinoma with Rb-LOH was stage IV and its tumor was very invasive histologically and clinically. Although radical resection of maxilla with orbital and ethmoidal exenteration was performed, the subject's prognosis was poor. The Rb-LOH positive laryngeal carcinoma was stage I but recurred at a local lesion. A pharyngeal carcinoma with Rb-LOH was stage III and well-differentiated squamous cell carcinoma. A tongue carcinoma with Rb-LOH was stage II and poorly differentiated squamous cell carcinoma. There was no significant correlation between the histological differentiation of the tumor or stage and the presence or absence of LOH.

Immunohistochemical staining of Rb protein was performed for 10 cases without Rb-LOH. This approach revealed the presence of normal Rb nuclear protein in 9 out of 10 tumors. There was one tongue carcinoma in which only the nuclei of fibroblasts were stained but the nuclei within the tumor tissue were not stained (Figure 2). No staining was detected in samples in which the primary antibody was omitted, indicating the specificity of the antibody binding (data not shown).

## Discussion

There have been many reports on the high frequency of Rb-LOH (9-12). In small cell carcinoma of the lung, the frequency of LOH was reported to be 100% (10). In esophageal carcinoma, such frequency was reported to be 54% (9). In ovarian carcinoma, that frequency was reported to be 52% (11), and in renal cell carcinoma, it was reported to be 33% (12). Although esophageal cancer and head and neck cancer in particular are often thought to be caused by ethanol and tobacco, in our experiment, the frequency of LOH at the Rb gene locus in head and neck cancer was only

Table II. Frequency of loss of heterozygosity at the Rb gene locus in head and neck cancers.

	Number of cases	Informative cases(%)	Rate of LOH
Maxillary carcinoma	9	4 (44)	25% (1/4)
Tongue carcinoma	13	9 (69)	11% (1/9)
Pharyngeal carcinoma	9	4 (44)	25% (1/4)
Laryngeal carcinoma	14	11 (79)	9% (1/11)
Total	45	28 (62)	14% (4/28)

14%; it is unlikely that we underestimated the true prevalence of Rb-LOH in head and neck cancer. For example, in some tumors that were not cell sorted, LOH could have been masked by large admixtures containing non-tumor cells or large subpopulations of heterozygous malignant cells from a different clone within the same tumor. Comparisons of flow-sorted versus unsorted tumors support this possibility. However, a skillful pathologist carefully microdissected tumor tissues in our experiment, and so it was thought almost impossible that the tumor tissue had been contaminated by an abundance of normal tissue. Possible microdeletions involving only a few exons of Rb have been reported (8); if such deletions had occurred without affecting intron 17, they would have remained undetected by our assays, but the incidence of this was not thought to be high.

The incidence of Rb-LOH in our experiment is very similar to that previously reported by Lee *et al*, (14), 15%. On the other hand, Skolnick *et al*, reported that the incidence of Rb-LOH was 59% in supraglottic laryngeal carcinomas (15). Although there were not so many informative cases in our experiment, it seems likely that the head and neck tumors may be affected by factor(s) which affect the tumor suppressor genes such as Rb, even if the tumor belongs to the same histological type as squamous cell carcinoma.

In our immunohistochemical staining, we found only one out of ten LOH negative tongue carcinomas, in which only the fibroblast nuclei were stained, while the nuclei of tumor cells were not stained. It is strongly suggested that the normal function of Rb protein is disturbed even in LOH negative cases, which in this case is quantitative. Although we examined only allelic loss of the Rb gene, and not the expression and structure of messenger RNA and the structure and function of its protein product, inactivation of Rb protein is thought to be involved in the carcinogenesis of head and neck cancer at all levels based on the results of immunohistochemical analysis. Further analyses are required to elucidate the function and mechanism of the Rb gene and its product in head and neck cancers.

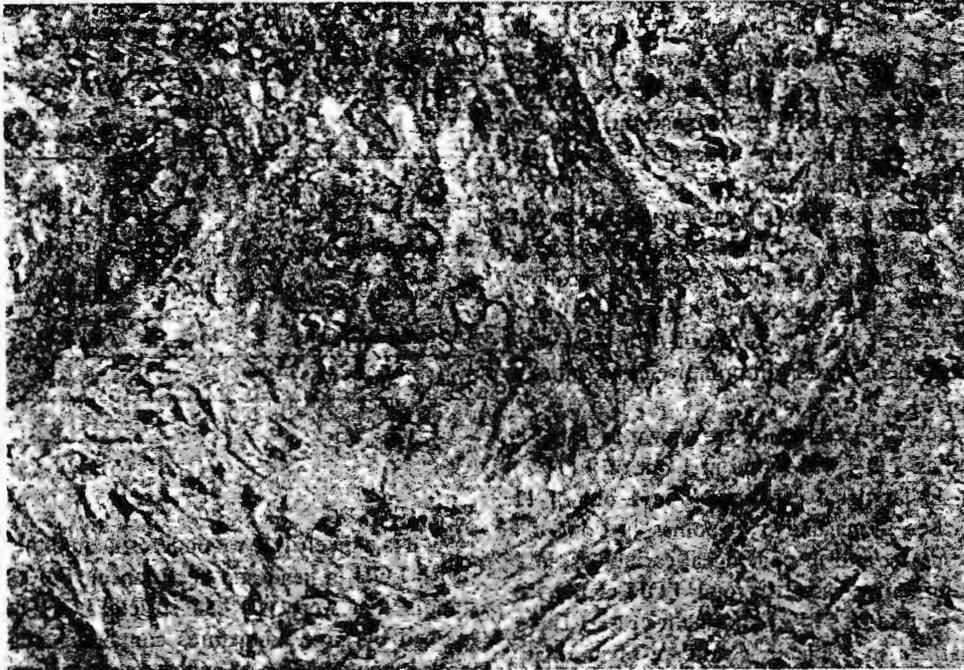


Figure 2. Immunohistochemical analysis for Rb protein. Sections from surgically removed specimens of patient no.43 (Table I) were stained with anti-Rb protein monoclonal antibody as described in "Materials and Methods". Nuclear immunoreactivity of Rb protein was observed in the fibroblasts but not in the cancer cells. Original magnification,  $\times 400$ .

## References

- 1 Ginsberg A, Raffeld M and Cossman J: Inactivation of the retinoblastoma gene in human lymphoid neoplasms. *Blood* 77: 833-840, 1991.
- 2 Cheng J, Scully P, Shew J-Y, Lee W-H, Vila V and Hass M: Homozygous deletion of the retinoblastoma gene in an acute lymphoblastic leukemia (T) cell line. *Blood* 75: 730-735, 1990.
- 3 Harbour JW, Lai S-L, Whang-Peng J, Gazdar AF, Minna JD and Kaye FJ: Abnormalities in structure and expression of the human retinoblastoma gene in SCLC. *Science* 241: 353-357, 1988.
- 4 Lee EY-HP, To H, Shew J-Y, Bookstein R, Scully P and Lee W-H: Inactivation of the retinoblastoma susceptibility gene in human breast cancers. *Science* 241: 218-221, 1988.
- 5 Friend S, Horowitz JM, Gerber MR, Wang X-F, Bogenmann E, Li FP and Weinberg RA: Deletions of a DNA sequence in retinoblastoma and mesenchymal tumors: organization of the sequence and its encoded protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 9059-9063, 1987.
- 6 Sasano H, Comerford J, Silverberg SG and Garrett CT: An analysis of abnormalities of the retinoblastoma gene in human ovarian and endometrial carcinoma. *Cancer* 66: 2150-2154, 1990.
- 7 Bookstein R, Rio P, Madreperla SA, Hong F, Allred C, Grizzle WE and Lee W-H: Promoter deletion and loss of retinoblastoma gene expression in human prostate carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 7762-7766, 1990.
- 8 Hashimoto T, Takahashi R, Yandell DW, Xu H-J, Hu S-X, Gunnell S and Benedict WF: Characterization of intragenic deletions in two sporadic germinal mutation cases of retinoblastoma resulting in abnormal gene expression. *Oncogene* 6: 463-469, 1991.
- 9 Boynton RF, Huang Y, Blount PL, Reid BJ, Raskind WH, Haggitt RC, Newkirk C, Resau JH, Yin J, McDaniel T and Meltzer SJ: Frequent loss of heterozygosity at the retinoblastoma locus in human esophageal cancers. *Cancer Res* 51: 5766-5769, 1991.
- 10 Yokota J, Wada M, Shimosato Y, Terada M and Sugimura T: Loss of heterozygosity on chromosomes 3, 13, and 17 in small-cell carcinoma and on chromosome 3 in adenocarcinoma of the lung. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 9252-9256, 1987.
- 11 Dodson MK, Cliby WA, Xu H-J, Delacey KA, Hu S-X, Keeney GL, Li J, Podratz KC, Jenkins RB and Benedict WF: Evidence of functional RB protein in epithelial ovarian carcinomas despite loss of heterozygosity at the RB locus. *Cancer Res* 54: 610-613, 1994.
- 12 Ishikawa J, Xu H-J, Hu S-X, Yandell DW, Maeda S, Kamidono S, Benedict WF and Takahashi R: Inactivation of the retinoblastoma gene in human bladder and renal cell carcinomas. *Cancer Res* 51: 5736-5743, 1991.
- 13 Shiga C, Shiga K, Sasano H and Mori S: A point mutation of c-Ki-ras gene was found in human esophageal carcinoma cell lines but not in primary esophageal carcinomas. *Biochem Biophys Res Commun* 187: 515-521, 1992.
- 14 Lee NK, Ye YW, Chen J, Li X, Waber PG and Nisen PD: p53, retinoblastoma, and human papillomavirus in squamous cell carcinoma and adjacent normal mucosa of the upper aerodigestive tract. *Arch Otolaryngol Head and Neck Surg* 119: 1125-1131, 1993.
- 15 Scholnick SB, Sun PC, Shaw ME, Haughey BH and El-Mofly SK: Frequent loss of heterozygosity for Rb, TP53, and chromosome arm 3p, but not NME1 in squamous cell carcinomas of supraglottic larynx. *Cancer* 73: 2472-2480, 1994.

Received October 30, 1995  
Accepted December 15, 1995

## Incidence of Hepatocellular Carcinoma after Interferon Therapy in Patients with Chronic Hepatitis C

HIROYOSHI ONODERA<sup>1</sup>, KATSUAKI UKAI<sup>1</sup>, MASAKI SUZUKI<sup>1</sup>  
and YUKO MINAMI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Internal Medicine,* <sup>2</sup>*Department of Epidemiology, Miyagi Cancer Center, Natori, Miyagi 981-12*

ONODERA, H., UKAI, K., SUZUKI, M. and MINAMI, Y. *Incidence of Hepatocellular Carcinoma after Interferon Therapy in Patients with Chronic Hepatitis C.* Tohoku J. Exp. Med., 1997, 181 (2), 275-283 — We examined the effect of interferon (IFN) therapy for chronic active hepatitis (CAH) C in 207 patients by estimating the incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) after IFN therapy using the person-years method. Statistical analysis was performed using the Mantel-Haenszel chi-square test. No HCC was detected in patients with normal serum alanine aminotransferase (ALT) levels after IFN therapy (response-effect group), and in patients with both normal serum ALT levels and hepatitis C virus (HCV)-RNA clearance after IFN therapy (complete-responder group). The incidence per 100,000 person-years in the patients with elevated serum ALT level after IFN therapy (other-effects group) and in the patients with positive HCV-RNA after IFN therapy (non-responder group) were 1968 and 1624, respectively. The incidence in control patients who did not achieve IFN therapy was 901. No statistically significant differences were observed between the other-effects group, non-responder group, and the control group. Our results so far suggest that normalization of the serum ALT levels and/or HCV clearance might reduce the incidence of HCC. ——— interferon; chronic hepatitis C; hepatocellular carcinoma

Patients of chronic hepatitis (CH) C sometimes develop liver cirrhosis, which is considered a risk factor for hepatocellular carcinoma (HCC) (Realdi et al. 1982; Mattsson et al. 1988; Kiyosawa et al. 1990; Bisceglie et al. 1991). Recent investigators have reported that clearance of the hepatitis C virus (HCV) was obtained in about 40% of the CH C cases after interferon (IFN) therapy (Douglas et al. 1993; Shibata et al. 1993; Arase et al. 1994; Chayama et al. 1994; Lampertico et al. 1994), and that associated histological changes improved (Pérez et al. 1993; Arase et al. 1996; Tsuchihashi et al. 1996). According to the Liver Cancer Study Group of Japan, liver cirrhosis was observed in the noncancerous portion of the

---

Received July 17, 1996; revision accepted for publication November 27, 1996.

Address for reprints: Hiroyoshi Onodera, M.D., Department of Internal Medicine, Miyagi Cancer Center, 47-1 Nodayama, Medeshima-shiote, Natori, Miyagi 981-12, Japan.

liver in 65.6% of Japanese HCC patients, and anti-HCV was positive in 68.9% of Japanese HCC patients (Liver Cancer Study Group of Japan 1995). We evaluated the incidence of HCC in a short-term observation study after the IFN therapy for CH C, and discussed the prevention of HCC using IFN therapy.

#### PATIENTS AND METHODS

Since February, 1992, we have treated 235 patients with chronic active hepatitis (CAH) C using IFN therapy. In February, 1996 we evaluated the effectiveness of that therapy in an observational study that included 207 of those same patients. The ages of these 207 patients ranged from 23 to 69 years ( $51.6 \pm 9.5$  years, mean  $\pm$  s.d.). The male-to-female ratio was 1.34 (Table 1). In all cases, ultrasonically guided aspiration biopsy of the liver was performed 1 to 2 weeks before initiating IFN therapy. We employed 4-grade evaluation scale (Iino 1993). The four grades were response, partial response, aggravation and no-change. In response grade case, ALT levels returned to normal within 6 months after completion of therapy and remained normal thereafter for at least 6 months. In partial response grade case, ALT levels improved to less than two times the upper limit of normal within 6 months after completion of therapy and maintained such levels thereafter for at least 6 months. In aggravation grade case, ALT levels were clearly worse than pretreatment levels during the 6 months after completion of therapy. In no-change grade case, changes of ALT levels in response, partial response and aggravation grades were not applicable.

Although we evaluated the effect by four grades, we divided the patients into two groups; the response-effect group and the other-effects group. Other-effects included partial response, aggravation and no-change. Examination of serum HCV-RNA (nested reverse transcriptase polymerase chain reaction using primers derived from the 5'-untranslated region of HCV strain) was performed before and 6 months after IFN therapy. According to the results of HCV-RNA, we further divided the patients into two groups, the complete- and the non-responder groups. A complete responder was defined as a patient showing response grade and

TABLE 1. *Age and sex distributions of patients in our study who underwent IFN therapy*

Age (years)	Male	Female	Total
20-29	3	2	5
30-39	13	5	18
40-49	44	13	57
50-59	38	43	81
60-69	22	24	46
Total	120	87	207

Numbers of patients are indicated.

HCV-RNA negativity at 6 months after the termination of IFN therapy.

Natural IFN- $\alpha$  (Sumiferon, Sumitomo Pharmaceuticals Co. Ltd., Tokyo), recombinant IFN (rIFN)- $\alpha$ 2a (Roferon, Nippon Roche K.K., Tokyo; Canferon, Takeda Chemical Industries Ltd., Osaka) or rIFN- $\alpha$ 2b (Intron A, Schering-Plough K.K., Osaka; Intron A, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Tokyo) was administered by intramuscular injection daily for 2 to 3 weeks, followed by three injections weekly for 10 to 24 weeks. Natural IFN- $\beta$  (Feron, Daiichi Pharmaceutical Co. Ltd., Tokyo) was administered by intravenous injection daily for 6 weeks. We considered that total doses of 480 or more mega units (MU) of natural IFN- $\alpha$ , rIFN- $\alpha$ 2a or rIFN- $\alpha$ 2b and 252 or more MU of IFN- $\beta$ , respectively, were sufficient. The total dose of 480 MU was composed of 6 MU IFN injected daily for 2 weeks, followed by three weekly injections of 6 MU IFN for 22 weeks. The total dose of 252 MU involved 6 MU IFN injected daily for 6 weeks. Sufficient total doses of natural IFN- $\alpha$ , rIFN- $\alpha$ 2a or rIFN- $\alpha$ 2b and IFN- $\beta$  was administered in 73, 23, 15 and 35 patients, respectively. Insufficient total doses of natural IFN- $\alpha$ , rIFN- $\alpha$ 2a or rIFN- $\alpha$ 2b and IFN- $\beta$  was administered in 28, 15, 16 and 2 patients, respectively (Table 2).

After termination of IFN therapy, 194 of the 207 patients were observed in our hospital outpatient clinic for chronic liver diseases. Thirteen patients dropped out during the observation. For the screening of HCC in the outpatient clinic, ultrasonography was performed at 3- to 4-month intervals and the levels of tumor markers ( $\alpha$ -fetoprotein and PIVKA-II) were measured at 1- to 3-month intervals. When a patient was highly suspected of having HCC, CT, MRI, angiography and/or ultrasonically guided aspiration biopsy were performed to confirm the diagnosis.

For a control group, we included 140 patients with CH C, who were treated and observed in the outpatient clinic for chronic liver diseases and did not

TABLE 2. *The types of interferon (IFN), total doses, daily doses and the respective number of patients*

Interferon	Total dose (mega units)	Daily dose (mega units)	Numbers of patients
Natural IFN- $\alpha$	480 or more	3 or 6	73
	Less than 480	3 or 6	28
rIFN <sup>a</sup> - $\alpha$ 2a	480 or more	3, 6 or 9	23
	Less than 480	3, 6 or 9	15
rIFN <sup>a</sup> - $\alpha$ 2b	480 or more	3, 6, 9 or 10	15
	Less than 480	3, 6, 9 or 10	16
Natural IFN- $\beta$	252 or more	3 or 6	35
	Less than 252	3 or 6	2

<sup>a</sup>recombinant IFN

undergo IFN therapy. The diagnosis of chronic hepatitis was obtained by serum liver function tests. The age of these patients ranged from 20 to 78 years ( $55.9 \pm 12.7$  years, mean  $\pm$  s.d.). The male-to-female ratio was 0.73 (Table 3).

We calculated the incidences of HCC after IFN therapy in the response group ( $n=90$ ), the other-effects group ( $n=117$ ), the complete-responder group ( $n=59$ ), the non-responder group ( $n=114$ ), and the control group. The incidences were estimated using the person-years method. Because IFN therapy for the first patient terminated on May 2, 1992, the observations began on this day, and the effects of IFN therapy was evaluated on February 29, 1996. The observation period in the control group was the same as that of the IFN treated patients.

Statistical analysis was performed using the Mantel-Haenszel chi-square test adjusted for sex and age. In the analysis the patients were divided into groups according to age as follows, 20-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69 and 70-79 years. The statistically significant level was established at  $p \leq 0.05$ .

## RESULTS

HCC was detected in 3 of the 140 control patients. The incidence per 100,000 person-years in the control group was 901. The 3 patients with HCC consisted of 2 males (ages 57, 61) and 1 female (age 71).

HCC was detected in 4 of the 207 patients who had undergone IFN therapy (Tables 4, 5). They were 3 males (ages 56, 66, 67) and 1 female (age 57). Liver histology prior to IFN therapy confirmed CAH 2b in all cases. The periods between the termination of IFN therapy and the discovery of HCC were 2, 3, 8, and 14 months. HCV-RNA genotype (Okamoto et al. 1992) was II in 2 patients and III in 2 patients. Three of these 4 patients were administered insufficient total dose IFN. The fourth patient was administered a sufficient total dose of IFN, 252 MU of natural IFN- $\beta$ . The incidences of HCC per 100,000 person-years in the patients who were administered sufficient and insufficient total dose IFN were 348 and 2864, respectively (Table 6). No statistically significant differences

TABLE 3. *Age and sex distributions of patients in the control group*

Age (years)	Male	Female	Total
20-29	1	5	6
30-39	7	7	14
40-49	8	7	15
50-59	22	22	44
60-69	12	30	42
70-79	9	10	19
Total	59	81	140

Numbers of patients are indicated.

TABLE 4. Case summaries for hepatocellular carcinoma detected after interferon therapy for chronic hepatitis C

Case No.	Age (years)	Sex	Periods <sup>a</sup> (months)	Numbers of tumors	Location of tumors	Size (cm)	Treatment	Survival time (months)
1	66	M	2	1	S <sub>8</sub>	1.8	Resection	32 alive
2	56	M	3	2	S <sub>8</sub>	1.0	Resection	29 alive
3	67	M	14	4	S <sub>8</sub>	1.0	TAE <sup>b</sup> and PEI <sup>c</sup>	24 alive
					S <sub>4</sub>	1.8		
					S <sub>5</sub>	2.0		
					S <sub>5</sub>	1.0		
4	57	F	8	1	S <sub>8</sub>	1.5	PEI	19 alive
					S <sub>7</sub>	0.9		

<sup>a</sup>Periods between the termination of interferon therapy and the discovery of hepatocellular carcinoma.

<sup>b</sup>Transcatheter hepatic arterial embolization.

<sup>c</sup>Ultrasonically guided percutaneous ethanol injection.

TABLE 5. Case summaries for interferon (IFN) therapy in patients with hepatocellular carcinoma detected after IFN therapy for chronic hepatitis C

Case No.	Age (years)	Sex	Histology <sup>a</sup>	HCV-RNA genotype <sup>b</sup>	Type of IFN	Total IFN dose (MU <sup>c</sup> )	Effect of IFN
1	66	M	CAH2b	II	nIFN <sup>d</sup> - $\alpha$	264	NR <sup>g</sup>
2	56	M	CAH2b	II	nIFN <sup>d</sup> - $\beta$	252	NR
3	67	M	CAH2b	III	nIFN <sup>d</sup> - $\alpha$	36 <sup>f</sup>	NR
4	57	F	CAH2b	III	rIFN <sup>e</sup> - $\alpha$ 2b	126	NR

<sup>a</sup>Histology at the beginning of interferon therapy.

<sup>b</sup>According to the typing established by Okamoto et al. (1992).

<sup>c</sup>Mega Units

<sup>d</sup>natural IFN

<sup>e</sup>recombinant IFN

<sup>f</sup>IFN therapy was discontinued due to the decrease of platelet count.

<sup>g</sup>non-responder

were observed between the patients who were administered sufficient total dose IFN, the patients who were administered insufficient total dose IFN, and the control patients.

No HCC was detected in the 90 patients of the response-effect group, and HCC was detected in 4 of the 117 patients of the other-effects group. The incidence per 100,000 person-years in the other-effects group was 1968 (Table 6). No statistically significant difference was observed between the other-effects group and the control group.

TABLE 6. *The incidences of hepatocellular carcinoma in our study patients who underwent interferon therapy and in the control patients*

Group	No. of patients	Person-years	Numbers of patients with HCC	Incidence of HCC <sup>a</sup>
Sufficient total dose IFN	146	287.50	1	348
Insufficient total dose IFN	61	104.50	3	2864
Response-effect	90	189.00	0	0
Other-effects	117	203.25	4	1968
Complete-responder	59	129.50	0	0
Non-responder	114	246.25	4	1624
Control	140	333.00	3	901

<sup>a</sup>Incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) per 100,000 person-years. No statistically significant differences were obtained using the Mantel-Haenszel chi-square test. Statistical significance was established at  $p \leq 0.05$ .

No HCC was detected in the 59 patients of the complete-responder group, and HCC was detected in 4 of the 114 patients of the non-responder group. The incidence per 100,000 person-years in the non-responder group was 1624 (Table 6). No statistically significant difference was observed between the non-responder group and the control group.

#### DISCUSSION

Recent advances in real-time ultrasonography have contributed to the early detection of HCC (Sheu et al. 1985; Liaw et al. 1986). HCC screenings using ultrasonography have been performed in our outpatient clinic for chronic liver diseases. Seventy-nine percent of the HCCs detected using this screening method were in stages I and II (Onodera et al. 1994). In our previous report (Onodera et al. 1995), we concluded that patients in the early stage of HCC associated with mild liver cirrhosis have a significantly better chance for long survival than the patients with HCC in stages III and IV. Of course prevention of the disease is the most important factor for reducing the mortality rate. Because HCV is recognized as having a close relationship with HCC in Japan (Kiyosawa et al. 1990; Saito et al. 1990; Yano et al. 1991; Takeda et al. 1992), the most important preventive measure is to stop HCV infection. It is also important to take preventive measures against HCC for the people who have been already infected with HCV. IFN is expected to reduce the incidence of HCC in the patients with chronic hepatitis C.

Nishiguchi et al. (1995) reported the incidence of HCC after IFN therapy. They concluded that IFN was associated with a decreased incidence of HCC. They administered IFN- $\alpha$  3 times a week for 12 to 24 weeks, total dose was less than 432 MU. The incidence of HCC in IFN treated patients (4%) was significantly lower than in controls (38%). HCV-RNA did not disappear and serum ALT levels did not decrease after IFN therapy in any of the HCC patients.

In the present study, the incidence of HCC in the sufficient total dose IFN group was relatively but not significantly low as compared to the incidence in the insufficient total dose and the control groups. These results suggest that the administration of sufficient total dose IFN reduces the incidence of HCC. The incidence in the insufficient total dose group was 3 times that of the control group. Because we did not perform liver biopsy in the controls, some patients with chronic persistent hepatitis could have been included in the control group. This might account for the relatively low incidence of HCC in the control group.

Makita et al. (1996) reported 6 patients in whom HCC was detected and HCV-RNA remained positive after IFN therapy. In our study, HCV-RNA remained positive and serum ALT levels did not normalized in all HCC detected after IFN therapy. On the other hand, no HCC was detected in the response-effect group and the complete-responder group. Although the reason why IFN affects the incidence of HCC is not known, our results have so far implicated normalization of the serum ALT level and/or clearance of the HCV virus to be preventive against HCC. Although the results of this study were obtained by short-term observation, on the basis of our findings we recommended IFN therapy with sufficient total dose for CH C patients to prevent HCC.

#### References

- 1) Arase, Y., Kumada, H., Chayama, K., Tsubota, A., Koida, I., Ikeda, K., Saitoh, S., Matsumoto, T. & Kobayashi, M. (1994) Interferon retreatment of nonresponders with HCV-RNA-positive chronic hepatitis C. *J. Gastroenterol.*, **29**, 299-304.
- 2) Arase, Y., Chayama, K., Murashima, N., Sugawara, K., Koida, I., Kobayashi, M., Tsubota, A., Suzuki, Y., Saito, S., Ikeda, K., Kumada, H. & Kobayashi, M. (1996) A long-term prognosis after interferon therapy for chronic hepatitis C. *Acta Hepatol. Jpn.*, **37**, 145-150.
- 3) Bisceglie, A.M., Goodman, Z.D., Ishak, K.G., Hoofnagle, J.H., Melpolder, J.J. & Alter, H.J. (1991) Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic posttransfusion hepatitis. *Hepatology*, **14**, 969-974.
- 4) Chayama, K., Arase, Y., Koida, I., Tsubota, A., Saitoh, S., Ikeda, K., Matsumoto, T., Kanda, M., Iwasaki, S., Kobayashi, M., Hashimoto, M., Unakami, M., Morinaga, T. & Kumada, H. (1994) Antiviral effect of lymphoblastoid interferon-alpha on hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis type C. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **9**, 128-133.
- 5) Douglas, D.D., Rakela, J., Lin, H.J., Hollinger, F.B., Taswell, H.F., Czaja, A.J., Gross, J.B., Anderson, M.L., Parent, K., Fleming, C.R., Cangemi, J.R., O'Brien, P.C. & Powis, P.E. (1993) Randomized controlled trial of recombinant alpha-2a-interferon for chronic hepatitis C. *Dig. Dis. Sci.*, **38**, 601-607.
- 6) Iino, S. (1993) Interferon therapy in hepatitis C-Refractory hepatitis. *Gastroenter-*

- ol. Jpn.*, **28**, Suppl. 4, 139-142.
- 7) Kiyosawa, K., Sodeyama, T., Tanaka, E., Gibo, Y., Yoshizawa, K., Nakano, Y., Furuta, S., Akahane, Y., Nishioka, K., Purcell, R.H. & Alter, H.J. (1990) Inter-relationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma: Analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology*, **12**, 671-675.
  - 8) Lampertico, P., Rumi, M., Romeo, R., Craxi, A., Soffredini, R., Biassoni, D. & Colombo, M. (1994) A multicenter randomized controlled trial of recombinant interferon- $\alpha$ 2b in patients with acute transfusion-associated hepatitis C. *Hepatology*, **19**, 19-22.
  - 9) Liaw, Y.F., Tai, D.I., Chu, C.M., Lin, D.Y., Sheen, I.S., Chen, T.J. & Pao, C.C. (1986) Early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic type B hepatitis. *Gastroenterology*, **90**, 263-267.
  - 10) Liver Cancer Study Group of Japan (1995) Survey and follow-up study of primary liver cancer in Japan—Report 11. *Acta Hepatol. Jpn.*, **36**, 208-218.
  - 11) Makita, F., Saitou, S., Matsumoto, T., Takagi, H., Yamada, T., Kojima, A., Oowada, S. & Morishita, Y. (1996) Hepatocellular carcinoma following interferon therapy. *Jpn. J. Gastroenterol.*, **93**, 406-410.
  - 12) Mattsson, L., Weiland, O. & Glaumann, H. (1988) Long-term follow-up of chronic post-transfusion non-A, non-B hepatitis: Clinical and histological outcome. *Liver*, **8**, 184-188.
  - 13) Nishiguchi, S., Kuroki, T., Nakatani, S., Morimoto, H., Takeda, T., Nakajima, S., Shiomi, S., Seki, S., Kobayashi, K. & Otani, S. (1995) Randomized trial of effects of interferon- $\alpha$  on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis. *Lancet*, **346**, 1051-1055.
  - 14) Okamoto, H., Sugiyama, Y., Okada, S., Kurai, K., Akahane, Y., Sugai, Y., Tanaka, T., Satoh, K., Tsuda, F., Miyakawa, Y. & Mayumi, M. (1992) Typing hepatitis C virus by polymerase chain reaction with type-specific primers: Application to clinical surveys and tracing infectious sources. *J. Gen. Virol.*, **73**, 673-679.
  - 15) Onodera, H., Ukai, K., Nakano, N., Takeda, T., Suzuki, H., Okata, T., Motojima, T., Kuwashima, I., Ujiie, S. & Shoji, T. (1994) Outcomes of 116 patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **33**, Suppl., S103-S108.
  - 16) Onodera, H., Ukai, K. & Minami, Y. (1995) Hepatocellular carcinoma cases with five-year survival and prognostic factors affecting the survival time. *Tohoku J. Exp. Med.*, **176**, 203-211.
  - 17) Pérez, R., Pravia, R., Linares, A., González, M., Rodrigues, M., Lombraña, J.L.S., Riestra, S., Suárez, A. & Rodrigo, L. (1993) Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alpha-2b for nine months. *Gut*, **34**, Suppl., S136-S138.
  - 18) Realdi, G., Alberti, A., Rugge, M., Rigoli, A.M., Tremolada, F., Schivazappa, L. & Roul, A. (1982) Long-term follow-up of acute and chronic non-A, non-B post-transfusion hepatitis: Evidence of progression to liver cirrhosis. *Gut*, **23**, 270-275.
  - 19) Saito, I., Miyamura, T., Ohbayashi, A., Harada, H., Katayama, T., Kikuchi, S., Watanabe, Y., Koi, S., Onji, M., Ohta, Y., Choo, Q.L., Houghton, M. & Kuo, G. (1990) Hepatitis C virus infection is associated with the development of hepatocellular carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 6547-6549.
  - 20) Sheu, J.C., Sung, J.L., Chen, D.S., Lai, M.Y., Wang, T.H., Yu, J.Y., Yang, P.M., Chuang, C.N., Yang, P.C., Lee, C.S., Hsu, H.C. & How, S.W. (1985) Early detection of hepatocellular carcinoma by real-time ultrasonography. *Cancer*, **56**, 660-666.
  - 21) Shibata, M., Kumada, T., Yamada, M., Nakano, S., Kudo, T. & Morishima, T. (1993) Effects of interferon- $\alpha$  on serum hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C. *Dig. Dis. Sci.*, **38**, 608-611.
  - 22) 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-

- 2259.
- 23) Tsuchihashi, T., Sato, M. & Shibuya, A. (1996) Histopathological study of chronic type C hepatitis with interferon therapy. *Acta Hepatol. Jpn.*, **36**, 568-576.
  - 24) Yano, M., Yatsunami, 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**, 31-35.
-

MHC 非拘束性末梢血由来  $\gamma\delta$ T 細胞による自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果

海老名卓三郎 藤宮芳章 小鎌直子 佐々木裕子 阿部美和 立野紘雄  
 横山純吉 鈴木洋一 片倉隆一 丹野兼夫

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問題となる。そこで、著者らは組織適合抗原 (MHC) 非拘束性と思われる  $\gamma\delta$ T 細胞の増殖をはかり、前報で  $\gamma\delta$ T 細胞を多く含む細胞が自己癌細胞を効率よく殺すこと、自己白血球は殺さないこと、一方、液相抗 CD 3 抗体と IL-2 を使い、大部分が  $\alpha\beta$ T 細胞になったものでは自己癌細胞を殺さず、かえって自己白血球を殺していることを認めたり。今回それら細胞群から  $\gamma\delta$ T 細胞を単離し、自己癌細胞を含め HLA 表現の異なる 3 種の癌細胞に対する殺細胞効果、ならびに単離した  $\alpha\beta$ T 細胞と  $\gamma\delta$ T 細胞の表面構造の違いを走査電顕で比較したので報告する。さらに、成人と小児における末梢血中における  $\gamma\delta$ T 細胞の比率についても検討を加えたので報告する。

## 材料と方法

標的細胞として HLA class I 抗原 (+) class II 抗原 (-) の星状膠細胞腫 (NO, 18 歳女性) の培養細胞, HLA class I (-) class II (+) の K-562 細胞, HLA -A-B-C\*DRw 6-の Daudi 細胞を使用した。MHC 拘束性を調べるため、抗 HLA class I (2  $\mu$ g/ml) 2 時間処理した NO 細胞も使用した。

エフェクター細胞として患者 NO の末梢血に抗 CD 3 抗体をプレートに 5  $\mu$ g/ml 固定したもので 1 週間培養し、IL-2 (700 U/ml) を添加し 2 週間培養したものを使用した。 $\gamma\delta$ T 細胞を精製するため抗 CD 4, 抗 CD 8 coated Dynabeads を処理して CD 4, CD 8 T 細胞を除き、抗 CD 16 抗体 coated beads 処理により CD 16 陽性 NK 細胞を除いた。

細胞障害活性は target 細胞を  $^{51}\text{Cr}$  で標識し、エフェクター細胞のリンパ球と各種比で混合し 37°C 4 時間反応後、遊離してきた  $^{51}\text{Cr}$  量で測定した。

10 歳前後の小児 10 名と 50 歳前後の成人 10 名の末

梢血単核球中の  $\gamma\delta$ T 細胞の%を FACScan により算定した。5 $\times$ 10<sup>5</sup>の白血球に以下に記す FITC または PE 標識した抗体と 4°C 20 分の反応の後、Becton-Dickinson 社製 FACScan にて解析した。使用した抗体はつぎのとおり：抗 CD 3；anti-Leu-4, SK-7；抗 TCR $\alpha\beta$ ；anti-TCR- $\alpha/\beta$ -1, WT-31；抗 TCR $\gamma\delta$ ；anti-TCR- $\gamma/\delta$ -1, 11 F 2；抗 CD 4；anti-Leu-3 a, SK 3；抗 CD 8；anti-Leu-2 a, SK 1；抗 CD 16；anti-Leu-11 a, B 73.1；抗 CD 14；anti-Leu-M 3, M $\phi$ -P 9 (以上 Becton-Dickinson 社製)；抗 CD 19；anti HD 37, F 768 (Dako 社製)。

## 結果

精製  $\gamma\delta$ T 細胞の抗腫瘍効果：固相化 CD 3 抗体処理、IL-2 700 U 処理後 Dynabeads CD 4, CD 8 処理により  $\alpha\beta$ T 細胞を除き、最後に抗 CD 16 抗体 coated beads 処理により NK 細胞を除いた NO 例のリンパ球は FACScan 上 98%  $\gamma\delta$ T 細胞に精製された。この  $\gamma\delta$ T 細胞をエフェクター細胞にし、標的細胞 (target) として HLA の表現が異なる 3 種の腫瘍細胞を使い、殺細胞効果を調べた。すなわち、class I (-) class II (+) の K-562 細胞, class I (+) class II (+) の Daudi 細胞, class I (+) class II (-) の自己癌 NO 細胞を使った。その結果、HLA 抗原の表現に関係なく、すべての腫瘍細胞を殺した。その lytic units は、K-562 に対し 181, Daudi に対し 468, NO に対し 114 であった。さらに、MHC 非拘束性を調べるために、NO 標的細胞を抗 class I 抗体で処理して殺細胞効果を調べたところ、抗 class I 抗体で処理したもののほうが殺細胞効果が上昇し、MHC の非拘束性が確かめられた。

精製  $\gamma\delta$ T 細胞と  $\alpha\beta$ T 細胞の細胞表面構造の差異：前報で示したように抗 CD 3 抗体を液相で IL-2 とともに培養すると FACScan 上 98% が  $\alpha\beta$ T 細胞とな

MHC-nonrestricted killing of autologous tuor cells by  $\gamma\delta$  T cells

Takusaburo EBINA<sup>1</sup>, Yoshiaki FUJIMIYA<sup>1</sup>, Naoko OGAMA<sup>1</sup>, Hiroko SASAKI<sup>1</sup>, Miwa ABE<sup>2</sup>, Hiroo TATENO<sup>3</sup>, Junkichi YOKOYAMA<sup>3</sup>, Youichi SUZUKI<sup>4</sup>, Ryuichi KATAKURA<sup>4</sup> and Kaneo TANNO<sup>5</sup>: 宮城県立がんセンター研究所免疫学<sup>1</sup>, 同研究所病理学<sup>2</sup>, 同センター耳鼻咽喉科<sup>3</sup>, 同センター脳神経外科<sup>4</sup>, 丹野小児科<sup>5</sup>  
 連絡先: 海老名卓三郎 (宮城県立がんセンター研究所 〒981-12 名取市愛島塩手字野田山 47-1)

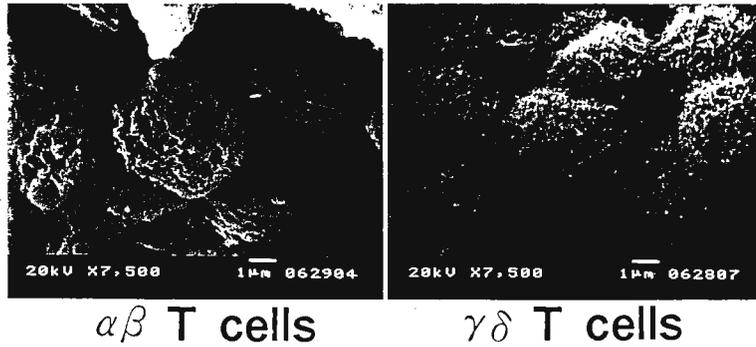


図1 精製  $\alpha\beta$ T ならびに  $\gamma\delta$ T 細胞の走査電顕像

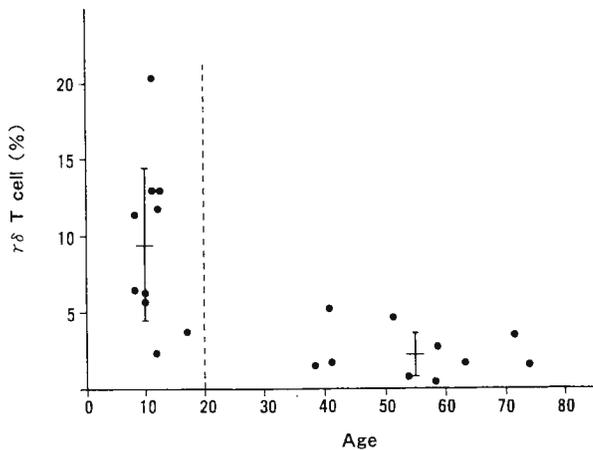


図2  $\gamma\delta$  T cell population in peripheral blood mononuclear cells

る。前項で述べた精製  $\gamma\delta$ T 細胞とを走査電顕で表面構造を比較したところ、図1に示すように細胞表面絨毛が  $\alpha\beta$ T 細胞では粗なのに対し、 $\gamma\delta$ T 細胞は精細であり、 $\gamma\delta$ T 細胞が腫瘍細胞などにより接着しやすいことが示唆された。

末梢血単核球での小児と成人での  $\gamma\delta$ T 細胞の割合：年齢の違いによる新鮮末梢血単核球中の  $\gamma\delta$ T 細胞の比率を確かめたところ、図2に示すように平均10歳の小児10名の  $\gamma\delta$ T 細胞の比率は  $9.43 \pm 5.19\%$  に対し、平均55歳の成人10名の  $\gamma\delta$ T 細胞の比率は  $2.44 \pm 1.52\%$  で、有意に小児の  $\gamma\delta$ T 細胞が高かった。

#### 考察

末梢血  $\gamma\delta$ T 細胞は前報で自己癌細胞を殺し、 $\alpha\beta$ T

細胞は殺さないことを示したが、本報で  $\gamma\delta$ T 細胞は MHC 非拘束性に癌細胞を殺し、NK 細胞と似た性格をもっていることがわかった。また、末梢血中の  $\gamma\delta$ T 細胞は小児で多く、成人になると減少することから、小児のときは癌が発生しても  $\gamma\delta$ T 細胞が殺し、成人になると  $\gamma\delta$ T 細胞が減少し、癌細胞を殺すことができなくなり、成人で癌が多いことが示唆された。 $\gamma\delta$ T 細胞はヒトにおいては腸管や皮膚にあって局所免疫に働いていることは知られていたが、今回小児では末梢血中に10%も存在し、抗腫瘍効果に働いていることが示唆された。また、ニワトリ、ヒツジ、ウシなどは、末梢血中に15~50%  $\gamma\delta$ T 細胞存在していることから<sup>2)</sup>、これら動物で癌が少ないことが示唆された。

#### まとめ

末梢血に存在する  $\gamma\delta$ T 細胞は  $\alpha\beta$ T 細胞と異なった細胞表面構造をもち、MHC 非拘束的に自己癌細胞を殺し、生体内で有力な抗腫瘍の働きをしていることが示唆され、臨床での養子免疫療法に期待がもたれる。

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。

- 1) 海老名卓三郎： $\gamma\delta$ T 細胞を多く含む末梢血由来細胞の自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果。医学のあゆみ。173：730-740, 1995。
- 2) Haas, W. et al.：Gamma/Delta cells. *Ann. Rev. Immunol.* 11：637-685, 1993。

(受理日：1995年12月13日)

\* \* \*

## 原 著

グラム陽性嫌気性桿菌由来 Peptidoglycan の  
抗腫瘍活性\*<sup>1</sup> 宮城県立がんセンター研究所・免疫学部門, \*<sup>2</sup> 全農家畜衛生研究所海老名卓三郎\*<sup>1</sup> 小鎌 直子\*<sup>1</sup> 村田 和子\*<sup>1</sup> 佐々木隆志\*<sup>2</sup>

**要旨** *Bifidobacterium thermophilum* の peptidoglycan (B-PG, (株) 科学飼料研究所より恵与) 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  $2 \times 10^5$  個接種し, 3日目から3日間 B-PG 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 B-PG 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 *Lactobacillus bulgaricus* の peptidoglycan 5 mg と混合すると相乗効果が認められた。B-PG を投与したマウスの脾臓リンパ球を腫瘍内に投与すると著明な抗腫瘍効果が得られた。次に B-PG を投与した左右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も B-PG をマウス皮内に 0.5 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。

**Summary** ANTITUMOR EFFECT OF PEPTIDOGLYCAN DERIVED FROM *Bifidobacterium thermophilum*, Takusaburo Ebina\*<sup>1</sup>, Naoko Ogama\*<sup>1</sup>, Kazuko Murata\*<sup>1</sup> and Takashi Sasaki\*<sup>2</sup>, \*<sup>1</sup> Division of Immunology, Research Institute Miyagi Cancer Center, \*<sup>2</sup> Zen-noh Institute of Animal Health

The antitumor effect of a preparation of peptidoglycan (PG) of *Bifidobacterium thermophilum*, 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 ( $2 \times 10^5$  cells) flanks and were then injected with 0.5 mg of *Bifidobacterium*-PG preparation in the right tumor on days 3, 4 and 5. *Bifidobacterium*-PG cured the right tumor and inhibited growth of the left, non-treated tumor. Antitumor effect of an intratumoral administration of *Bifidobacterium*-PG (B-PG) was enhanced by combination with 5 mg of *Lactobacillus*-PG. Immunized spleen cells were taken from mice which had been cured by the intratumoral administration of 0.5 mg of B-PG. Immunized spleen cells ( $2 \times 10^7$  cells/mouse) were injected into the Meth-A tumor. Adoptive transfer of B-PG-immunized spleen cells caused the complete regression of Meth-A tumors. Isolated tumor cells obtained from the right tumor treated with B-PG 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 B-PG-treated right and left tumor tissue. Immunosuppressive acidic protein (IAP) was produced by activated macrophages and neutrophils. IAP in serum of B-PG-treated mice was measured as a marker protein of activated macrophages and neutrophils. IAP in serum was increased transiently soon after intradermal injection of 0.5 mg of B-PG.

**Key words:** Peptidoglycan, Intratumoral administration, *Bifidobacterium*, *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 January 19, 1996/Accepted February 1, 1996)

[*Biotherapy* 10 (6): 867-872, June, 1996]

## はじめに

われわれは先に乳酸桿菌 (*Lactobacillus*) 製剤が、マウス“二重移植腫瘍系”で抗腫瘍効果があることを示した<sup>1)</sup>。また *Bifidobacterium thermophilum* 由来の peptidoglycan の経口投与がマウスリンパ球の NK 活性, CTL 活性を増強させること<sup>2)</sup>, 大腸菌感染に抵抗を示すこと<sup>3)</sup>などを報告してきた。そこで自然界に広く分布し, 腸管内の正常細菌叢を形成し, 非病原性であるグラム陽性嫌気性桿菌である *Lactobacillus* 属と *Bifidobacterium* 属の菌体成分中, 特に細胞壁の peptidoglycan に注目し, その抗腫瘍機構を検討したので報告する。

## 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 線維骨肉腫細胞を皮下に接種し固形腫瘍として使用した。

## 2. 菌体由来 peptidoglycan (PG)

グラム陽性無芽胞嫌気性桿菌である *Bifidobacterium thermophilum* ならびに *Lactobacillus bulgaricus* から精製した peptidoglycan (PG) を (株)科学飼料研究所より恵与を受け実験に供した。

## 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  $2 \times 10^5$ 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日間連日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  $\chi^2$  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,  $2 \times 10^7$  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, 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。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  $\mu$ l 入れ内筒に  $2 \times 10^5$ 個の PEC を 200  $\mu$ l 入れ, CO<sub>2</sub> 培養器で90分~3時間培養した後, 内筒の底にある 5  $\mu$ m 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 peptidoglycan を皮内注射したときの血清 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

2種の菌体由来 peptidoglycan をそれぞれ 5, 0.5, 0.1 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, *Bifidobacterium* 由来 PG (B-PG) では Table 1, Fig. 1 に示すように右側腫瘍ではすべての濃度で治癒し, 著明な抗腫瘍効果が認められた。一方, 左側腫瘍では 0.1 mg 投与で腫瘍の増殖抑制が観察された。次に *Lactobacillus* 由来 PG (L-PG) で“二重移植腫瘍系”において dose response を調べたところ, Fig. 2 に示すように右側腫瘍では 5 mg 3回投与が最も効果があり, dose response がみられた。一方左側腫瘍では抗腫瘍効果がみられなかった。そこで次に B-PG, L-PG の抗腫瘍効果機作について説明を加えた。

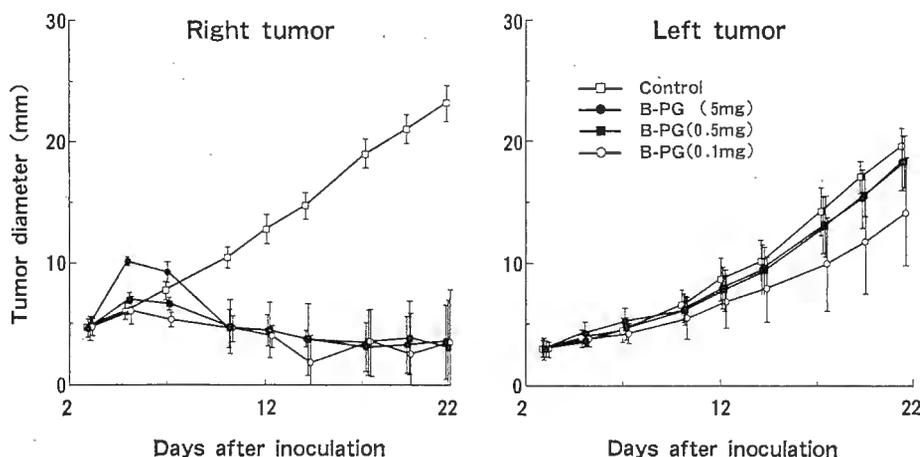
## 2. B-PG と L-PG の併用による抗腫瘍効果

1. の実験で L-PG は 5 mg 投与が最も抗腫瘍

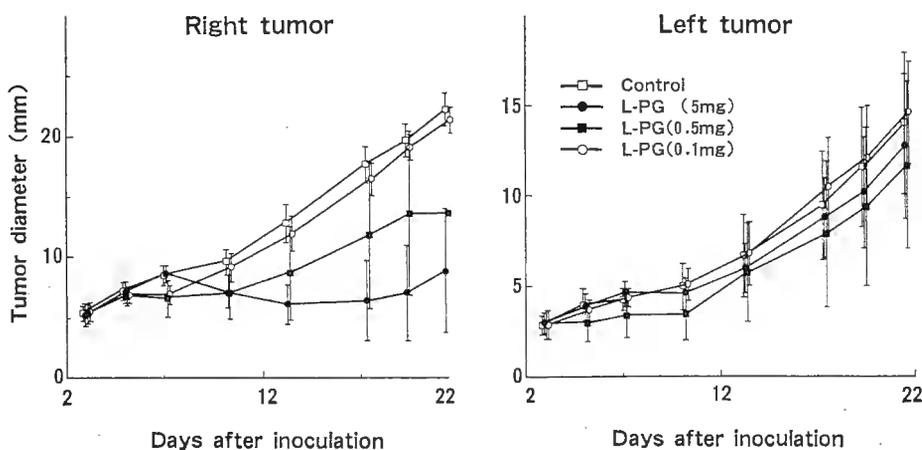
**Table 1** Antitumor effects of *Bifidobacterium*-peptidoglycan (B-PG) in the double grafted tumor system

B-PG dose	Right tumor ( $1 \times 10^6$ cells)			Left tumor ( $2 \times 10^5$ cells)		
	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm $\pm$ SD)	Tumor weight (g $\pm$ SD)	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm $\pm$ SD)	Tumor weight (g $\pm$ SD)
Control	0/7	23.1 $\pm$ 1.5	4.5 $\pm$ 0.7	0/7	19.5 $\pm$ 1.5	2.5 $\pm$ 0.5
5 mg $\times$ 3	3/7*	3.5 $\pm$ 3.0**	0.1 $\pm$ 0.1**	0/7	18.1 $\pm$ 2.3	2.3 $\pm$ 0.8
0.5 mg $\times$ 3	4/7*	3.1 $\pm$ 3.9**	0.2 $\pm$ 0.3**	0/7	18.2 $\pm$ 2.2	2.3 $\pm$ 0.6
0.1 mg $\times$ 3	4/7*	3.4 $\pm$ 4.4**	0.2 $\pm$ 0.3**	0/7	13.9 $\pm$ 4.3*	1.6 $\pm$ 1.0*

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



**Fig. 1** B-PG の二重移植腫瘍系における抗腫瘍効果



**Fig. 2** L-PG の二重移植腫瘍系における抗腫瘍効果

効果が認められたので、この濃度の L-PG に B-PG の 50, 100, 500  $\mu$ g の各濃度を混合して、その抗腫瘍効果を検討した。その結果 Table 2, Fig. 3 に示すように、特に L-PG 5 mg に B-PG を 50  $\mu$ g 加えたものが、左側腫瘍で治癒例

がみられ、相乗効果が示唆された。

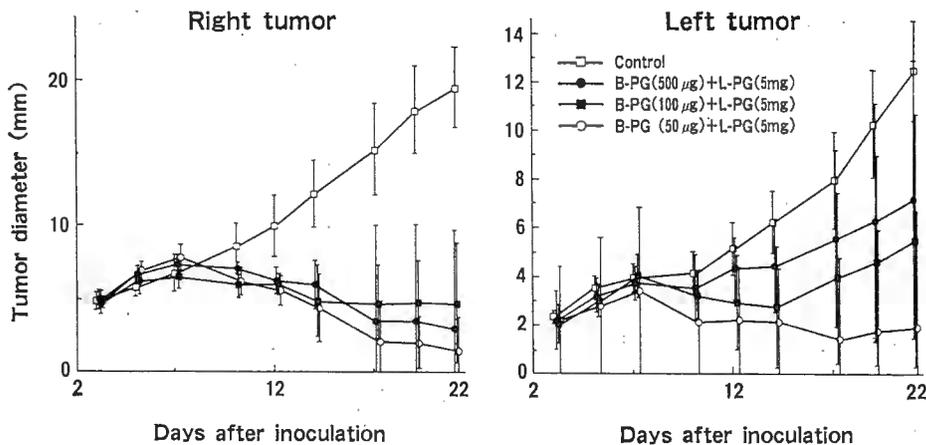
### 3. Adoptive transfer による解析

二重移植腫瘍系において B-PG 0.5 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、B-PG 投与後 5 日目 (腫瘍

**Table 2** Synergistic antitumor effect by combining L-PG with B-PG in the double grafted tumor system

L-PG dose	B-PG dose	Right tumor ( $1 \times 10^6$ cells)			Left tumor ( $2 \times 10^5$ cells)		
		Tumor free /tested	Tumor diameter (mm $\pm$ SD)	Tumor weight (g $\pm$ SD)	Tumor free /tested	Tumor diameter (mm $\pm$ SD)	Tumor weight (g $\pm$ SD)
Control	Control	0/7	19.5 $\pm$ 2.8	3.1 $\pm$ 1.1	0/7	12.4 $\pm$ 2.1	1.0 $\pm$ 1.2
5 mg	500 $\mu$ g	3/7*	3.0 $\pm$ 3.7*	0.2 $\pm$ 0.4*	0/7	7.1 $\pm$ 5.7	0.5 $\pm$ 0.5
5 mg	100 $\mu$ g	2/7*	4.7 $\pm$ 4.1*	0.2 $\pm$ 0.2*	1/7	5.4 $\pm$ 5.2	0.3 $\pm$ 0.4
5 mg	50 $\mu$ g	5/7*	1.4 $\pm$ 2.3**	0.1 $\pm$ 0.1**	4/7*	1.9 $\pm$ 4.7**	0.1 $\pm$ 0.3*

Significant difference from the control group: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$



**Fig. 3** B-PG と L-PG 混合による抗腫瘍相乗効果

**Table 3** Intratumoral adoptive transfer of B-PG-immunized spleen cells

Group	Tumor free/tested	Tumor diameter (mm $\pm$ SD)	Tumor weight (g $\pm$ SD)
Control	0/6	12.1 $\pm$ 2.5	0.9 $\pm$ 0.4
Control spleen	2/6	7.2 $\pm$ 6.3	0.6 $\pm$ 0.7
B-PG spleen	5/6*	1.5 $\pm$ 3.3**	0.1 $\pm$ 0.1**

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

接種後 10 日目) の免疫脾細胞を採取し、その  $2 \times 10^7$  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 3, Fig. 4 に示すように 6 匹中 5 匹で完全治癒がみられ、B-PG 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. B-PG ならびに L-PG 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

B-PG ならびに L-PG 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きているか調べるため、B-PG 0.5 mg 3 回ならびに L-PG 5 mg 3 回投与後 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 4 に示すごとく B-PG の右側腫瘍内投与により、右側ならびに左側腫瘍内に 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. B-PG ならびに L-PG 投与による血清 IAP の誘導

5. で述べたように B-PG 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。B-PG 0.5 mg ずつ3日間、L-PG 5 mg ずつ3日間皮下投与したときの血清 IAP 値を調べた結果、Table 5 に示すように B-PG、L-PG とも投与マウスにおいて IAP 値の増加が認められた。

III. 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

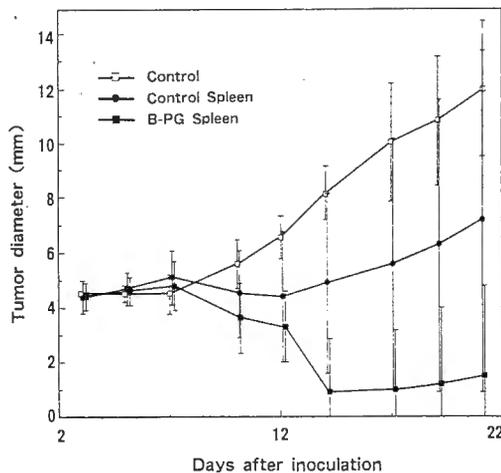


Fig. 4 B-PG 免疫脾臓細胞による抗腫瘍効果

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。さらに前報において乳酸桿菌 *Lactobacillus bulgaricus* 878 R の抗腫瘍効果を調べたところ、細菌製剤である BCG や OK-432 と同じ結果を示した<sup>1)</sup>。

そこでその菌体成分のうち、どの分画に特に抗腫瘍効果があるか検討するため今回 *L. bulgaricus* と *B. thermophilum* から peptidoglycan を精製し、その活性を調べたところ、特に B-PG が 0.1 mg という低い濃度でも抗腫瘍活性があることが見いだされた (Fig. 1, Table 1)。さらに L-PG では濃度依存的に 5 mg で特に抗腫瘍効果が認められた (Fig. 2)。さらに興味深いことに L-PG 5 mg に B-PG 50 μg を混合すると、それぞれ単独ではほとんど抗腫瘍効果が認められなかった左側腫瘍にも抗腫瘍効果が認められるようになり (Fig. 3, Table 2)、相乗効果が認められた。そこで B-PG 投与による抗腫瘍機構を調べたところ、まず B-PG 投与により左右腫瘍に NCF の誘導がみられ (Table 4)、BCG 投与と同じ結果を得た<sup>4)</sup>。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 Table 5 に示すように認められ、これも BCG や OK-432 と同じ挙動である<sup>5)</sup>。さらに脾臓中に抗腫瘍作用をもったリンパ球が誘導されることもわかった (Table 3, Fig. 4)。

Table 4 Neutrophil and macrophage chemotactic factors produced from B-PG or L-PG-treated tumor tissue

Culture supernatant	NCF activity		MCF activity	
	No. of migrated neutrophil /a visusal field (×1,000)	No. of migrated macrophage /a visusal field (×1,000)	No. of migrated neutrophil /a visusal field (×1,000)	No. of migrated macrophage /a visusal field (×1,000)
Medium control (RPMI-1640, 10% FCS)	0.5±0.6	0.6±0.7	0.5±0.6	0.6±0.7
Meth-A tumor	0.1±0.3	0.1±0.5	0.1±0.3	0.1±0.5
B-PG-treated Meth-A right tumor	3.3±1.7*	0.3±0.4	3.3±1.7*	0.3±0.4
B-PG-treated Meth-A left tumor	7.7±3.6*	0.3±0.4	7.7±3.6*	0.3±0.4
L-PC-treated Meth-A right tumor	0.5±0.8	0.1±0.3	0.5±0.8	0.1±0.3
L-PG-treated Meth-A left tumor	0.7±0.8	0.2±0.4	0.7±0.8	0.2±0.4

Significant difference from the Meth-A tumor: \* p<0.005

Table 5 Induction of IAP in serum by B-PG and L-PG preparations

Sample	IAP ( $\mu\text{g/ml}$ )
Control	103 $\pm$ 63
B-PG (0.5 mg $\times$ 3)	993 $\pm$ 88
L-PG (5 mg $\times$ 3)	1,043 $\pm$ 112

One day after intradermal injections of samples, serum IAP levels in BALB/c mice were assayed.

以上の結果をまとめると、B-PG 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脾臓中に抗腫瘍作用をもったリンパ球が誘導される。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。

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, 小鎌直子, 村田和子: 乳酸桿菌 (*Lactobacillus bulgaricus* 878 R) の抗腫瘍効果. *Biotherapy* 9: 65-70, 1995.
- 2) Sasaki, T., Fukami, S. and Namioka, S.: Enhancement of cytotoxic activity of lymphocytes in mice by oral administration of peptidoglycan (PG) derived from *Bifidobacterium thermophilum*. *J. Vet. Med. Sci.* 56: 1129-1133, 1994.
- 3) Sasaki, T., Fukami, S. and Namioka, S.: Enhanced resistance of mice to *Escherichia coli* infection induced by administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*. *J. Vet. Med. Sci.* 56: 433-437, 1994.
- 4) 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.
- 5) Ebina, T., Murata, K. and Tamura, K.: Antitumor effect of intratumoral administration of biological response modifiers: Induction of immunosuppressive acidic protein, a type of  $\alpha_1$ -acid glycoprotein, in mice. *Jpn. J. Cancer Res.* 85: 93-100, 1994.

# (1) 大腸癌に対する BRM 局所療法抗腫瘍免疫増強機構解析

海老名卓三郎

## 1. BALB/c マウスを使った BRM 腫瘍内投与における抗腫瘍免疫機構

腫瘍がまだ原発巣しかない場合、手術して摘出すれば問題はないが、すでに遠隔転移巣がある場合、特に肉眼で確認できない微小転移巣がある場合は、手術によって原発巣を摘出すると転移巣が増殖を開始し、癌治療には結び付かない。すなわち、転移巣の治療が癌治療の大きな課題といえる。そこで BRM 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 マウスの右側腹皮内に  $10^6$ 、左側腹皮内に  $2 \times 10^5$  の Meth-A 細胞を移植し、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、左側の遠隔腫瘍(転移巣)も退縮させる系(図1)で BRM のうち蛋白結合多糖体 PSK, 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。

PSK と IL-1 に関してその作用機構を調べた結果、図2のようになった。すなわち、PSK, IL-1 などの BRM を腫瘍内に投与すると IL-8 様因子がまず誘導され、好中球が浸潤し、この活性化された好中球が MCF を産生し、MCF の誘導により細胞障害活性をもった  $M\phi$  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 Lyt-1 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れることがわかった。

次に活性化マクロファージと好中球が産生すること

宮城県立がんセンター研究所免疫学部門  
(〒981-12 名取市愛島塩手字野田山 47-1)

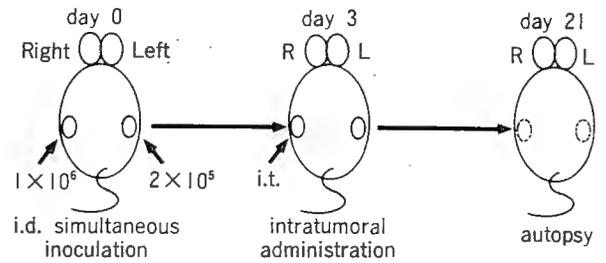


図1 二重移植腫瘍系

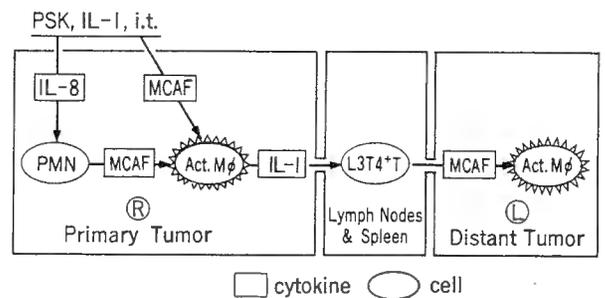


図2 Antitumor Mechanism of PSK and IL-1 in the Double Grafted Tumor System

がわかっている  $\alpha 1$ -acid glycoprotein の一種である IAP の誘導能について調べた。BRM を投与した担癌マウスならびに非担癌対照マウスに BRM 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。また、マウス血清中の IAP の heterogeneity に関して Con A を使った crossed immunoaffino electrophoresis (CIAE) により解析した。その結果、BRM のなかで抗腫瘍効果を示すものは、炎症性 IAP の誘導がみられ担癌末期に表れる腫瘍性 IAP とは糖鎖構造が異なることがわかった(図3)。

## 2. マウス大腸癌 Colon 26 に対する BRM の作用

BALB/c マウスと同系の大腸癌モデルである Colon 26 を使い、1. でわかった PSK の局注投与を行ったところ、図4に示すように有意の延命効果が認

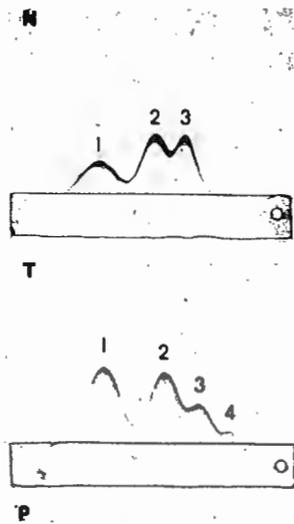


図3 血清 IAP の糖鎖パターン

N: 正常  
T: 腫瘍性  
P: PSK 炎症性

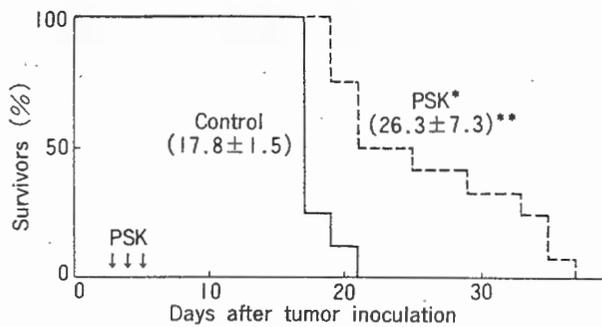


図4 Colon 26 に対する PSK の抗腫瘍効果

められた。

### 3. BRM 投与脾臓リンパ球の抗腫瘍効果

1. で述べた PSK を腫瘍内投与したマウスの脾臓細胞  $2 \times 10^7$  個, 別のマウスの Meth-A 腫瘍内投与と静脈内投与したところ図5のごとく, 腫瘍内投与したマウスで抗腫瘍効果が見られた。すなわち養子免疫療法も局所投与が効果的であることがわかった。

### 4. 養子免疫療法における $\gamma\delta$ T 細胞の役割

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問題となる。T細胞には従来のキラーT細胞などの TCR $\alpha\beta$  を持っているものと, TCR $\gamma\delta$  を持っているものがあり,  $\gamma\delta$ T 細胞は MHC に拘束されない。標的細胞として脳腫瘍培養細胞 3 例, 並びに各患者の新鮮末梢血から分離した白血球, K-562, Daudi 細胞を使用した。エフェクター細胞

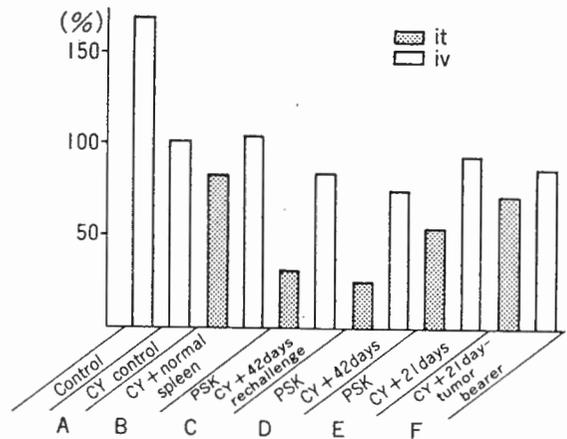


図5 腫瘍内投与と静脈内投与における養子免疫療法の比較

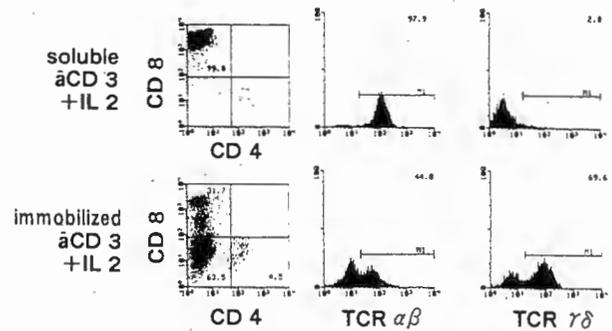


図6 固相化 CD3 抗体と液相 CD3 抗体処理における  $\gamma\delta$ T 細胞の増殖の差異

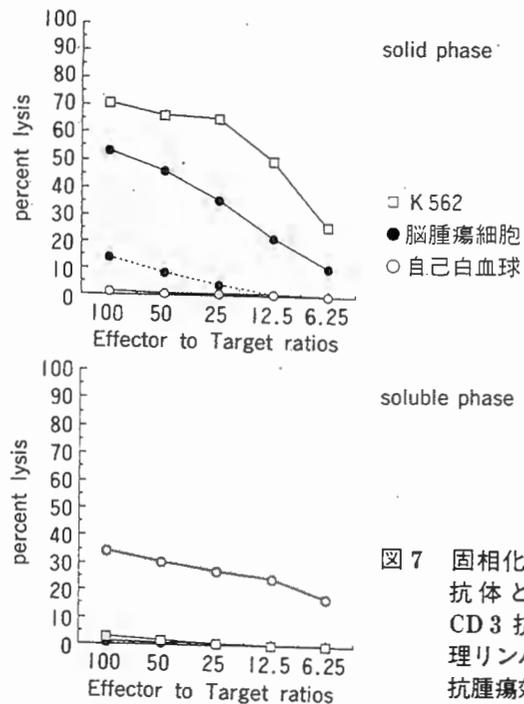


図7 固相化 CD3 抗体と液相 CD3 抗体処理リンパ球の抗腫瘍効果

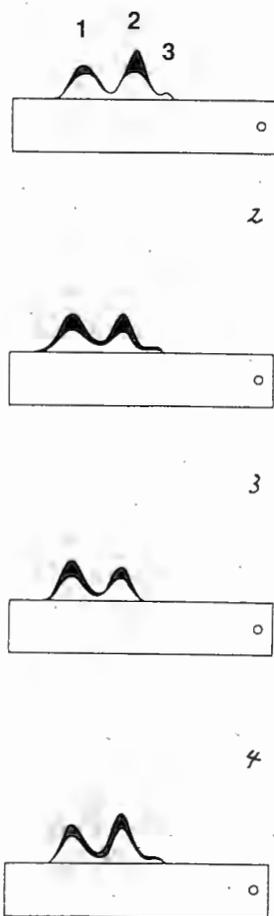


図8 養子免疫療法経過中の血清 IAP 糖鎖パターンの変化

1. 正常人血清
2. 1回投与後
3. 2回投与後
4. 4回投与後

として同患者の末梢血に IL-2 を 700 単位加え、さらに抗 CD3 抗体を  $5 \mu\text{g/ml}$  プレートに固定したもので培養したもの(固相)と培養液中に抗 CD3 抗体を  $10 \text{ ng/ml}$  加えて培養したもの(液相)で比較検討した。その結果、末梢血の固相で 3 週間培養したものはいずれも  $\gamma\delta\text{T}$  細胞の割合が増加し、液相で培養したものは

殆ど  $\alpha\beta\text{T}$  細胞になった(図 6)。固相で  $\gamma\delta\text{T}$  細胞が増加したリンパ球は自己癌細胞を含め腫瘍細胞を殺し、自己白血球は殺さなかった。一方、液相で培養した  $\alpha\beta\text{T}$  細胞は腫瘍細胞を殺さず、自己白血球を殺した(図 7)。すなわち、 $\gamma\delta\text{T}$  細胞を増加させたリンパ球が養子免疫療法で効果があることが示唆された。

#### 5. 大腸癌患者に対する養子免疫療法の pilot study

3. 4. の実験をふまえ、患者さんの了解、希望のもと、大腸癌手術後肝転移例に養子免疫療法を開始した。患者の末梢血を  $20 \text{ ml}$  ずつ採取し、4 日間抗 CD3 抗体(オルソクローン OKT-3)をプレートに  $5 \mu\text{g/ml}$  1 昼夜固定したもので培養を開始し、IL-2 を  $700 \text{ U/ml}$  加え 1 週間培養する。1 週間後から gas-permeable bag に移し変え、リンパ球を平均  $6 \times 10^9$  得る。このリンパ球を 1 時間かけて患者に点滴静注により戻した。さらに活性化リンパ球  $6 \times 10^9/20 \text{ ml}$  を肝動注の局所療法を行った。その結果、副作用は全くなく、血清中の IAP の糖鎖パターンを調べたところ、図 8 のごとく、正常パターンに変化した。CT 上でも肝転移像は全く増大することなく維持しており、癌との共存状態になっている。現在もう 1 例の大腸癌術後の治療を患者さんの希望により行っている。

#### 6. 考察ならびに要望

大腸癌患者に対する新免疫療法を開発したが、さらに抗腫瘍活性を高めることを検討し、臨床効果に結びつけたい。についてはリンパ球の大量培養のため、IL-2 入り培養バッグ、抗 CD3 抗体、新鮮人血漿など 2 回採血、4 回投与で 40 万円研究費がかかるので、特別助成金を助成していただければ、大腸癌治療研究のため大変有意義ですので、是非助成を要望いたします。

\* \* \*

＜特集＞ 癌局所療法研究会

## 活性化リンパ球による局所療法

海老名卓三郎\*1 磯野 法子\*1 村田 和子\*1  
横山 純吉\*2 三國 潤一\*3 大内 清昭\*3

**要旨** 担子菌製剤 PSK をマウス腫瘍内に投与すると、その脾臓細胞が活性化し、別のマウスの腫瘍内に投与する養子免疫療法を行うと明らかな抗腫瘍効果が認められる。この時活性化脾臓細胞を静注するとあまり抗腫瘍効果は認められなかった。

次に固相化 CD3 抗体と IL-2 処理により活性化したリンパ球を大量培養し、 $\gamma\delta$ T 細胞を増加させ約  $5 \times 10^9$  個の BAK (BRM-activated killer) 細胞を informed consent の得られた癌患者に pilot 投与した。大腸癌肝転移の例では肝動注により局所投与を行った。その経過中に血清 IAP の糖鎖パターンを調べたところ、腫瘍パターンから正常パターンに変化していた。上顎癌の 2 例では OK-432 とともに BAK の局注を試みたところ、OK-432 単独より多くの T 細胞、M $\phi$ 、顆粒球の浸潤がみられ、広範囲の壊死を起し抗腫瘍効果が見いだされた。

〔癌と化学療法 23(11):1549-1552, 1996〕

### I. 目 的

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。そこで今回は、担子菌製剤 PSK を腫瘍内投与により活性化したマウス脾臓リンパ球の局所療法と、固相化 CD3 抗体と IL-2 で活性化したヒト末梢血リンパ球の局所療法を試みたので報告する。

### II. 方 法

#### 1. マウス養子免疫療法

PSK 投与により治癒したマウスの脾臓細胞を採取し、 $2 \times 10^7$ 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 cyclophos-

phamide を 2 mg マウス静脈内注射して 1 時間後移入した。

#### 2. ヒトリンパ球の活性化

BRM 活性化キラー細胞 (BAK) を以下のごとく調製した。簡単に述べると、患者末梢血 20 ml を採取しリンパ球分画を抗 CD3 抗体をプレートに  $5 \mu\text{g/ml}$  固定したもので 1 週間培養し、IL-2 ( $700 \text{ U/ml}$ ) を添加して 2～3 週間培養し、 $\gamma\delta$ T 細胞を増殖させたリンパ球を使用した。

#### 3. 血清 IAP 値測定と物性検討

患者血清中の IAP 値を single radial immunodiffusion (SRID) 法を用い測定した。IAP の heterogeneity に関して Con A を使った crossed immunoaffino electrophoresis (CIAE) により解析した。

### III. 結果ならびに考察

#### 1. マウスでのリンパ球局注療法の優位性

養子免疫療法におけるリンパ球の静注療法と局

\*1 宮城県立がんセンター研究所・免疫学部門

\*2 同 耳鼻科

\*3 同 外科

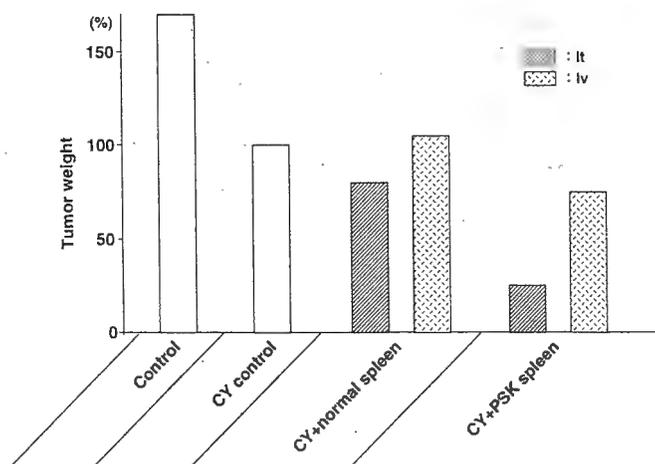


Fig. 1 Antitumor effect of PSK-treated spleen cells by intratumoral or intravenous adoptive transfer

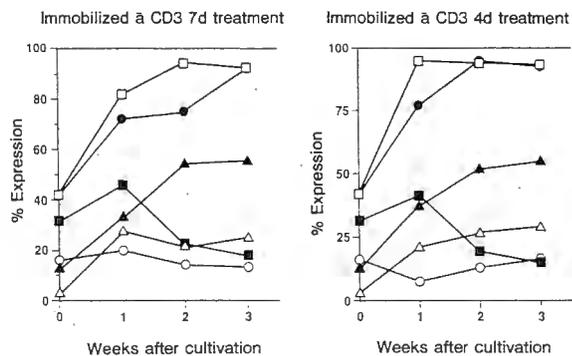


Fig. 2 Change of  $\gamma\delta$  T cells population after cultivation

—□— CD3  
 —●— TCR $\alpha\beta$   
 —▲— CD8  
 —■— CD3  
 —△— TCR $\gamma\delta$   
 —○— CD16

Table 1 Effect antibody treatment on intratumoral transfer with PSK-immunized spleen cells

Group	Tumor free / tested	Tumor weight (g±SD)	Tumor diameter (mm±SD)
Control	0/5	4.5±0.71	23.6±1.17
CY (cyclophosphamide)	0/6	3.1±0.25	22.0±1.05
CY+whole cell	1/5	0.9±0.36	15.0±2.36
CY+ $\bar{a}$ Lyt 1+C	0/5	1.4±0.96	16.0±4.90
CY+ $\bar{a}$ L3T4+C	0/5	1.2±0.79	15.5±4.02
CY+ $\bar{a}$ Lyt 2+C	1/5	0.5±0.27	11.3±3.36

Table 2 Leucocytes infiltration after intratumoral injection of BAK cells

1. Patient: T O, female, 51 y

Present illness: malignant fibrous histiocytoma in maxillary sinus

Intratumoral injection	-	OK-432 (5 KE)	OK-432+BAK	OK-432+BAK+fibrinogen (1 ml)
M $\phi$ infiltration (CD 68)	-	+	++	++
T cell infiltration (UCHL-1)	-	-	++	++
B cell infiltration (L-26)	-	-	-	-
Granulocyte infiltration (CD 15)	-	+	++	++

2. Patient: T Y, male, 44 y

Present illness: maxillary carcinoma (squamous cell cancer)

Intratumoral injection	-	OK-432	OK-432+fibrinogen	OK-432+BAK+fibrinogen
M $\phi$ infiltration	-	+	+	++
T cell infiltration	-	-	+	++
B cell infiltration	-	-	-	-
Granulocyte infiltration	-	±	+	++

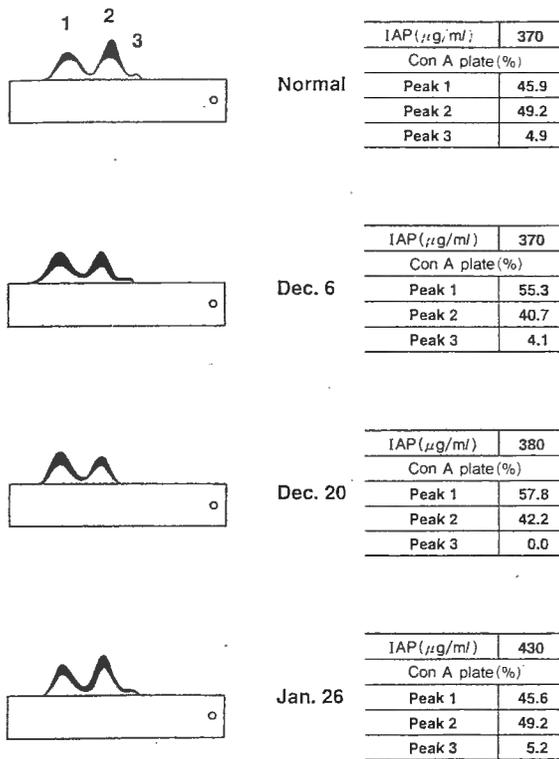


Fig. 3 Change of Con A-crossed immunoelectrophoresis patterns of serum IAP during BAK treatment

注療法の有効性に関する比較を行った。すなわち double grafted tumor system において PSK 5 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、まず PSK 投与により治癒したマウスの脾細胞を採取し、 $2 \times 10^7$  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。その結果 Fig. 1 に示すごとくリンパ球を点滴静注したものではありません。腫瘍内に投与したマウスでは有意に腫瘍の縮小がみられた。

次に脾細胞中のどの細胞が抗腫瘍活性を示すかを Lyt-1, 抗 L3T4, 抗 Lyt-2 抗体処理により検討した結果, Table 1 に示すように Lyt-1 陽性, L3T4 陽性の CD4 系の細胞であることがわかった。

## 2. ヒト活性化リンパ球の養子免疫療法 固相化 CD3 抗体と IL-2 処理により活性化し

たリンパ球を 2~3 週間培養したところ, Fig. 2 に示すごとく, 固相化 CD3 抗体を 4 日処理した時でも, 7 日処理した時でも同様に  $\gamma\delta$ T 細胞が増加することがわかったので, 以後固相化 CD3 抗体は 4 日間処理することにした。固相化 CD3 処理により  $\gamma\delta$ T 細胞が増加したリンパ球集団 (BAK 細胞) は MHC 非拘束的に自己腫瘍細胞を含む癌細胞を殺すことがわかったので<sup>1,2)</sup>, 約  $5 \times 10^9$  の細胞を 1 時間かけて点滴静注をしているが, 1. の結果を踏まえ局注できる症例で局注療法を行った。まず大腸癌, 転移性肝癌の症例では  $6 \times 10^9$  の細胞を 20 ml に溶液にして肝動注を行った。その結果副作用はなく, CT 上転移肝癌の増殖が認められていない。BAK 療法中の血清 IAP の糖鎖パターンを調べたところ Fig. 3 のごとく, 最初 peak 1 が高い腫瘍パターンが, peak 2 の高い正常パターンに変化していた。

次に他の治療法が不能の悪性線維性組織球症と上顎癌の 2 例に OK-432 (5KE) とともに活性化リンパ球を  $5 \times 10^9/8 \text{ ml}$  局注した。その結果, 表 2 に示すごとく局注部位は OK-432 単独投与より多くの T 細胞, M $\phi$ , 顆粒球の浸潤がみられ, 広範囲の壊死を起し抗腫瘍効果が見いだされた。

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:  $\gamma\delta$ T 細胞を多く含む末梢血由来細胞の自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果. 医学のあゆみ 173: 739-740, 1995.
- 2) 海老名卓三郎, 藤宮芳章, 小鎌直子・他: MHC 非拘束性末梢血由来  $\gamma\delta$ T 細胞による自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果. 医学のあゆみ 177: 333-334, 1996.

**Summary**

(*Jpn J Cancer Chemother* 23 (11) : 1549-1552,  
September, 1996)

**REGIONAL ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY USING  
ACTIVATED LYMPHOCYTES**

Takusaburo Ebina\*<sup>1</sup>, Noriko Isono\*<sup>1</sup>, Kazuko Murata\*<sup>1</sup>, Junkichi Yokoyama\*<sup>2</sup>, Jun-ichi Mikuni\*<sup>3</sup> and Kiyooki Ohuchi\*<sup>3</sup>

\*<sup>1</sup>*Division of Immunology, Research Institute Miyagi Cancer Center, \*<sup>2</sup>Division of Otolaryngology and \*<sup>3</sup>Division of Surgery, Miyagi Cancer Center*

The antitumor effect of PSK was analysed with the "double grafted tumor system" in which BALB/c mice received simultaneous intradermal inoculations of Meth-A in the right ( $10^6$  cells) and left ( $2 \times 10^5$  cells) flanks and were then injected with PSK in the right tumor on day 3. PSK inhibited the growth of not only the right but also the left, non-treated tumor. Immunized spleen cells were taken from mice which had been cured by intratumoral administration of 5 mg of PSK. On day 3, one hour after intravenous injection of cyclophosphamide, immunized spleen cells ( $2 \times 10^7$  cells/mouse) were injected into the Meth-A tumor. Adoptive transfer

of PSK immunized spleen cells caused the complete regression of Meth-A tumors. However, the intravenous administration of spleen cells showed no antitumor effect.

Expansion of peripheral blood lymphocytes was stimulated with immobilized anti CD3 antibody plus IL-2 for use in adoptive immunotherapy.  $\gamma\delta$ T cells proliferated in response to immobilized anti CD3. About  $5 \times 10^9$  BRM-activated killer (BAK) cells were treated in cancer patients who gave their informed consent. One patient with colon cancer and metastatic cancer of the liver was treated with BAK cells by transcatheter arterial infusion without side effect. During the course of BAK treatment, serum IAP CIAE (crossed immunoaffino electrophoresis) pattern of patient changed tumor IAP pattern to normal IAP pattern. Two patients with malignant tumor in maxillary sinus were treated with BAK cells and OK-432 intratumorally. BAK treatment induced more infiltration of T cells, M $\phi$  and granulocytes in the tumor than OK-432 treatment alone and showed an antitumor effect with extensive necrosis.

**Key words:** Adoptive immunotherapy,  $\gamma\delta$ T cells, Biological response modifier, Immunosuppressive acidic protein, Intratumoral administration

# がん 最新情報

## 新しい免疫療法

### 「がん」と共生する

海老名卓三郎

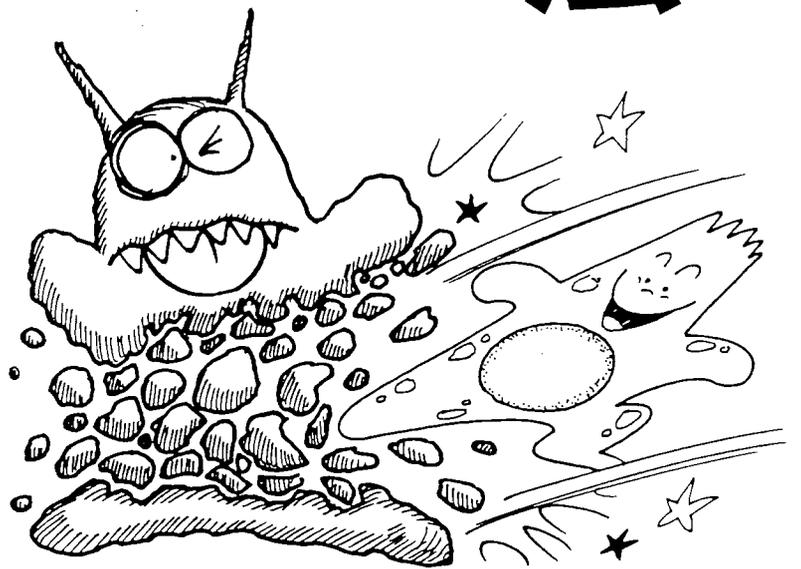
宮城県立がんセンター研究所免疫学部長

がんの治療法は、日々進歩しています。その中でも、進展が目覚ましい「免疫療法」。新しく開発された免疫療法は、がん細胞だけを特異的に攻撃するため、副作用が極めて少なく、QOLの高い治療法として注目されています。

### 免疫療法とは 体内の免疫力を高めて がんの増殖を抑制する治療法

「がんの治療」では、一般的に、外科的療法や放射線療法、化学療法(抗がん剤)などが行われています。基本的には、手術でがんを完全に摘出できればよいのですが、がんが進行している場合には、手術だけでは完全な摘出が難しいケースもあります。そうした場合に、放射線療法や化学療法が行われます。しかし、

これらの治療法は、がん細胞だけでなく正常な細胞の働きも障害する可能性があるため、副作用が問題になります。そこで、副作用が少なく、がんの進行を抑えられる治療法として研究されてきたのが、「免疫療法」です。「免疫」は、細菌やウイルスなどの外敵が体内に侵入したとき、それを異物と認識して排除する、自己防衛システムのことです。がん細胞は、外から侵入した異物ではありませんが、本来の正常な細胞とは異なるため、それを異物と認めて免疫システムが働き、攻

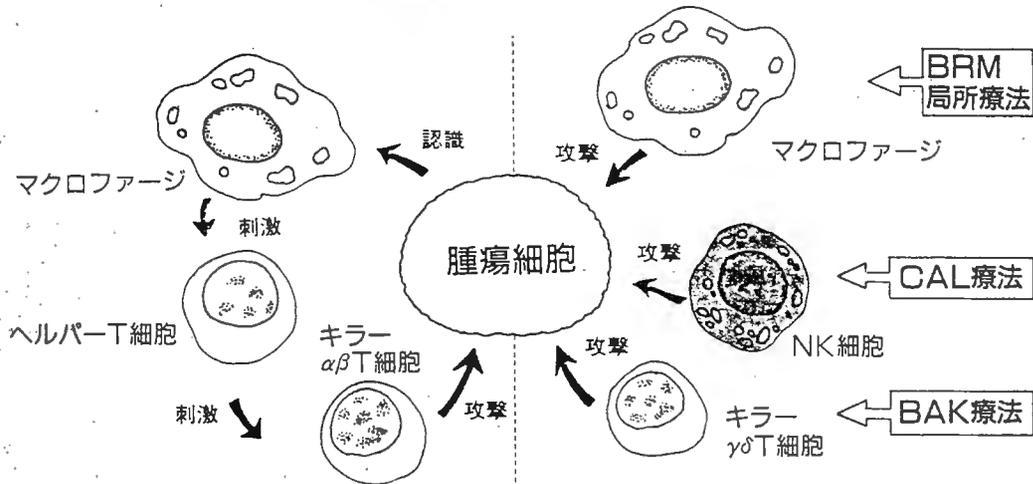


イラスト・さとう有作

撃します。免疫療法は、がん細胞に対する、この免疫力を、人工的に高めることで、がんを治療する方法です。

免疫の仕組みは大変複雑ですが、その働きの中心は白血球が担っています。白血球には、顆粒球(好中球、好酸球など)、マクロファージ、リンパ球(ヘルパーT細胞、キラー $\alpha$  T細胞、キラー $\beta$  T細胞、ガンマ $\delta$  T細胞、NK細胞など)があり、それらの細胞がそれぞれに免疫に関する役割をもっています(135ページの図参照)。免疫療法の研究では、こうした複雑な免疫

## 免疫細胞と免疫の仕組み



### 従来の免疫療法に用いられていた免疫細胞

**マクロファージ** 外敵の侵入をTリンパ球に知らせる役目を担っている。

**ヘルパーT細胞** T細胞の一種。腫瘍細胞を攻撃するためにキラーT細胞を誘導するなどの司令官的な働きをもつ。ヘルパーT細胞の指令によって、キラー $\alpha\beta$ T細胞が増殖する。

**キラー $\alpha\beta$ T細胞** 腫瘍細胞を実際に攻撃するT細胞の一種。このT細胞を活性化することで攻撃力が高められる。ただし、このT細胞は腫瘍細胞のHLA(自己と非自己を区別する白血球の型)が適合して初めて攻撃を開始するので、HLAを適合させるため免疫療法の技術的な操作が複雑になるという欠点がある。さらに、分裂している正常細胞も殺すため、副作用が現れる危険性がある。

### 新しい免疫療法に用いられる免疫細胞

**マクロファージ** 外敵を食べる働きをもつ貪食細胞。BRMを腫瘍に注入することによって、マクロファージが集まり、腫瘍細胞だけを攻撃することができる。副作用の少ない局所的な効果が得られる。

**NK細胞** リンパ球の一種。単独で外敵を攻撃する働きがある。主にインターフェロンなどのサイトカインを用い、このNK細胞を活性化させることで、腫瘍細胞に対する攻撃力を高めることができる。

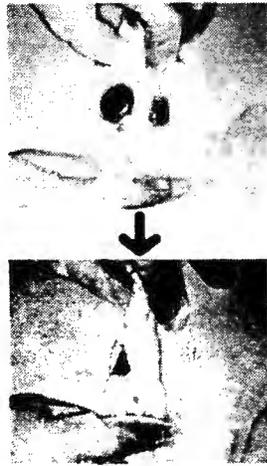
**キラー $\gamma\delta$ T細胞** 新たに発見されたキラーT細胞の一種。このT細胞は白血球の型が適合しなくても腫瘍を攻撃する能力がある。さらに、自分の正常細胞を殺傷しないため、副作用もなく、キラー $\alpha\beta$ T細胞よりも高い効果が期待できる。

システムのかなかの、どの部分をどのように活性化していけば、がんに対する攻撃力が増すのか、などについて探究されてきました。

そして、実際に、いくつかの免疫療法が開発されてきましたが、いずれも、「治療効果が低い、副作用が現れる、医療技術的な面で操

## BRM局所療法の効果

マウスの右側の腹部にできた腫瘍に、PSKという免疫賦活剤を3日間、局所的に接種したところ、右側だけでなく、転移した左側の腫瘍にも縮小が見られた。



## 新しい免疫療法① BRM局所療法 局所的にマクロファージの 活性を高める

BRM(生物学的反応修飾剤)とは、がん細胞に対する生体の反応を変化させて、がんの進行を抑える物質や方法のことです。具体的には、次のようなものがあります。

・免疫賦活剤……カワラタケ由来たんぱく結合多糖体(PSK)、溶連菌製剤(OK-432)、生薬セファランチン、タヒボ茶、ヒメマツタ

作が難しい」などの問題点がありました。しかし最近、これらの欠点をカバーする、新しい免疫療法が開発され、今後の免疫療法の進展に光明が見い出されています。

ケ抽出物など、免疫を活性化する作用のある製剤が、多数知られています。

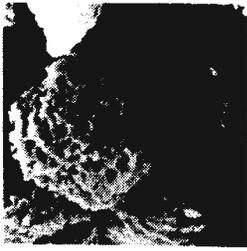
・サイトカイン……T細胞やマクロファージから分泌され、キラーT細胞などを活性化する働きがあります。代表的なものにインターフェロン、インターロイキンなどがあります。

・単クローン抗体……がん細胞に対抗しようとしてつくられる免疫グロブリンの一種です。抗CD3抗体などが含まれます。

・エフェクター細胞……がん細胞を直接殺す能力をもつ、キラーT細胞、NK細胞などが含まれます。

従来の免疫療法でも、これらの物質を全身

## キラー $\alpha\beta$ T細胞      キラー $\gamma\delta$ T細胞



キラー $\alpha\beta$ T細胞の顕微鏡写真。キラー $\alpha\beta$ T細胞は、表面にあるがん細胞抗原とがん細胞の白血球の型が適合すると、攻撃をする。



キラー $\gamma\delta$ T細胞の顕微鏡写真。キラー $\gamma\delta$ T細胞は、白血球の型に関係なく、がんを攻撃する特徴がある。

投与することで免疫力を高める治療が行われていました。しかし、こうした免疫療法を行うと、免疫力が全身的に活性化されるため、正常な細胞まで攻撃され、副作用が起こります。そこで、開発されたのが、がん組織だけにBRMの一種である免疫賦活剤やサイトカインを注入して、マクロファージを活性化する「BRM局所療法」です。BRM局所療法は、

がんのみを攻撃するため、副作用が少ないのです。135ページの写真は、BRM局所療法の効果を示したのですが、マウスの腹部にてきた腫瘍が治療により治癒していることがわかります。

### 新しい免疫療法② BAK療法 キラー $\gamma\delta$ T細胞を培養、 活性化させて体内に戻す

がん細胞を直接攻撃する役割をもつ免疫細胞に、キラーT細胞があります。

このキラーT細胞には、 $\alpha\beta$ T細胞と新しく発見された $\gamma\delta$ T細胞があります。 $\alpha\beta$ や $\gamma\delta$ は、T細胞の表面にある受容体の種類を指します。キラー $\alpha\beta$ T細胞を増殖させて患者さんの体内に戻す治療法は、以前から行われていますが、この免疫療法は、がん細胞と同時に正常細胞も攻撃するため、副作用が起

こるという問題がありました。

そこで注目されているのが、 $\gamma\delta$ 受容体をもつ「キラー $\gamma\delta$ T細胞」です。この細胞は、がん細胞のみを認識し、攻撃します。

ただし、キラー $\gamma\delta$ T細胞は、成人の血中に2〜3%しか存在しません。そこで、患者さんのキラー $\gamma\delta$ T細胞を、2週間ほどかけて増殖させ、50億個のリンパ球を体内に戻す「BAK療法」が開発されました。

BAK療法は、大きく成長したがん細胞を消失させる効果は期待できません。しかし、がんの増殖をある程度抑えることが可能で、副作用が現れることもありません。そのため、がんと共生する、よりQOL(クオリティ・オブ・ライフ)生活の質の高い治療法として注目されています。

### 新しい免疫療法③ CAL療法 NK細胞を活性化し、 患者さんの体内に戻す

どこからも指令を受けず、単独でがん細胞を殺すものに、NK(ナチュラルキラー)細胞があります。「CAL療法」は、このNK細胞を体内から取り出し、活性化させて1日で体内に戻す方法です。

新しく開発された、CAL療法は、血液成

分のうち白血球だけを取り出すことができる、「成分採血機」を利用し、2〜3時間で、NK細胞を含む白血球を50億個採取します。採取されたNK細胞は、インターフェロンなどを加えることによって活性化されます。この活性化されたNK細胞を含む白血球を、翌日患者さんの体内に戻します。

CAL療法は、副作用が少ない治療法です。また、腫瘍マーカーであるIAPの糖鎖パターン(患者さんの生活の質を現す指標となるもの)を調べると、その型が、腫瘍型から正常型に変化することもわかっており、こうした点からもCAL療法は、QOLの高い治療法といえます。

### 治療・予防に効果を発揮する「免疫前向きなプラス志向が、免疫力を高める」

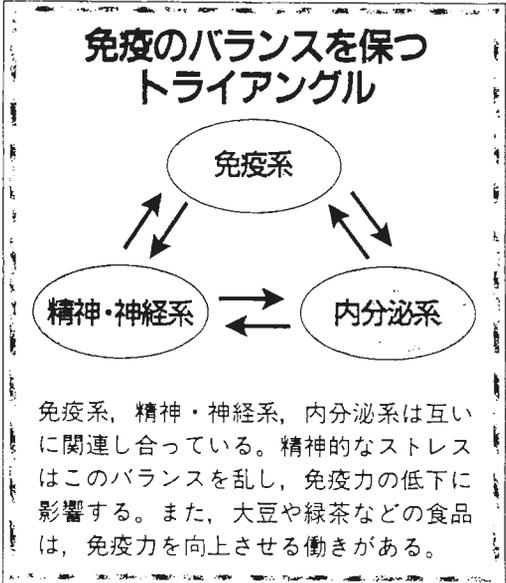
免疫の働きは、がんの治療に効果をもたら



### プロフィール&メッセージ

海老名卓三郎(えびな・たくさぶろう) 昭和16年生まれ。昭和41年東北大学医学部卒業。平成5年より現職。専門は免疫学

●「プラス志向」は免疫力を高める  
「免疫力は精神面と深いかかわりがあります。ですから、「もうダメだ」という否定的



だけでなく、さまざまな病気の治療・予防に影響を与えます。ですから、ふだんから免疫力が低下しないように心がけることが大切です。

免疫系の働きは、精神・神経系や内分泌系などと複雑に関連しています(右図参照)。つまり、免疫力は、心の動きと密接につながっているのです。

免疫系、精神・神経系、内分泌系は互いに関連し合っている。精神的なストレスはこのバランスを乱し、免疫力の低下に影響する。また、大豆や緑茶などの食品は、免疫力を向上させる働きがある。

気持の持ち方が「マイナス志向」と精神・神経系の機能が低下し、ひいては内分泌系、免疫力を低下させてしまいます。逆に、くよくよせずに、前向きに考える「プラス志向」の人は、免疫力の高い状態が保たれるのです。また、免疫力には食生活も関係しています。緑茶や大豆製品などには、免疫力を高める作用があることがわかっています。ふだんからこうした食品をとるよう心がけてください。新しい免疫療法は、まだ研究段階で、ごく限られた医療機関でしか受けられないのが現状です。また、残念ながら、大きく成長してしまっただんを消失させる効果はありません。しかし、たとえがんが治らなくても、新しい免疫療法は、QOLを向上させ、維持することができるといって、たいへん大きな意義があります。また、今後は、化学療法と交互に行うことで治療効果を高めていくことが期待されています。

なマイナス志向は、結果的に精神的ストレスになり、免疫力を低下させてしまいます。逆に、「治療を受けて早く病気を治そう」と肯定的な考え方をすると、精神的に安定し、免疫力も高まります。どんな病気でも、予防や治療には、プラス志向で明るく楽しく生活することが大切

です。否定的な考え方をしないプラス志向の人は、ストレスにうまく対処でき、たとえ病気になっても、治療の経過が非常によいのです。

宮城県立がんセンター研究所  
〒981-12 宮城県名取市愛島塩手宇野田山47



## 解説

# $\gamma$ $\delta$ T細胞による腫瘍細胞傷害\*

海老名卓三郎\*\*

**Key words :**  $\gamma$   $\delta$  T cells, Adoptive immunotherapy, Autologous tumor killing, BRM activated killer, Immunosuppressive acidic protein

### はじめに

人末梢血由来の $\gamma$   $\delta$  T細胞を多く含むリンパ球集団とそれから精製した $\gamma$   $\delta$  T細胞の殺細胞効果について分けて述べる。

### I. $\gamma$ $\delta$ T細胞を多く含むリンパ球の抗腫瘍効果

#### BAK(BRM activated killer)療法の基礎

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問題となる<sup>1)</sup>。一方組織適合性抗原(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<sup>2)</sup>。すなわちT細胞の表層にあつ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細胞がもっている $\alpha$   $\beta$ 鎖と、それとは異なる $\gamma$   $\delta$ 鎖をもっているものがあり、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<sup>3)</sup>。 $\alpha$   $\beta$ または $\gamma$   $\delta$ 二量体はT細胞表層でCD3の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をもっている $\gamma$   $\delta$  T細胞は皮膚や腸管上皮に存在していることは知られているが<sup>4)</sup>、血中にわずかに存在している $\gamma$   $\delta$  T細胞がどのような働きをしているかは知られていなかった。われわれは4例の脳腫瘍患者から腫瘍細胞を培養することに成功したので、それら細胞をtarget

とし、effector細胞として患者末梢血から種々の方法で培養したリンパ球を使い、抗腫瘍活性を調べたところ $\gamma$   $\delta$  T細胞を多く含むリンパ球が自己癌細胞を含む癌細胞を殺すことをまず見出した。

標的細胞(target)として神経膠芽腫培養細胞2例(NT, 38才女; KI, 12才男), 星状膠細胞腫培養細胞2例(TT, 11才女; NO, 17才女)ならびに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, LAK細胞に感受性のあるDaudi細胞を対照として使用した。

リンパ球表面マーカーは $5 \times 10^5$ のリンパ球に、以下に記すFITCまたはPE標識した抗体と4℃20分の反応の後、Becton-Dickinson社製FACScanにて解析した。使用した抗体は次の通り：抗CD3; anti-Leu-4, SK-7: 抗TCR  $\alpha$   $\beta$ ; anti-TCR- $\alpha$ / $\beta$ -1, WT-31: 抗TCR  $\gamma$   $\delta$ ; anti-TCR- $\gamma$ / $\delta$ -1, 11F2: 抗CD4; anti-Leu-3a, SK3: 抗CD8; anti-Leu-2a, SK1: 抗CD16; anti-Leu-11a, B73.1: 抗CD14; anti-Leu-M3, M  $\phi$ -P9(以上Becton-Dickinson社製); 抗CD19; anti HD37, F768(Dako社製)。

まず患者末梢血由来リンパ球を抗CD3抗体(オルソクロンOKT-3)を最初の1週間プレートに5  $\mu$ g/ml固定したもので培養するもの(固相)<sup>5)</sup>と、培養液中に抗CD3抗体を10ng/mlを加えて培養するもの(液相)<sup>6)</sup>の2条件で比較検討した。

\* Autologous tumor killing by  $\gamma$   $\delta$  T cells from cancer patients.

\*\* Takusaburo EBINA, M.D.: 宮城県立がんセンター研究所免疫学〔〒981-12 名取市愛島塩手字野田山47-1〕; Division of Immunology, Research Institute Miyagi Cancer Center, Miyagi 981-12, JAPAN

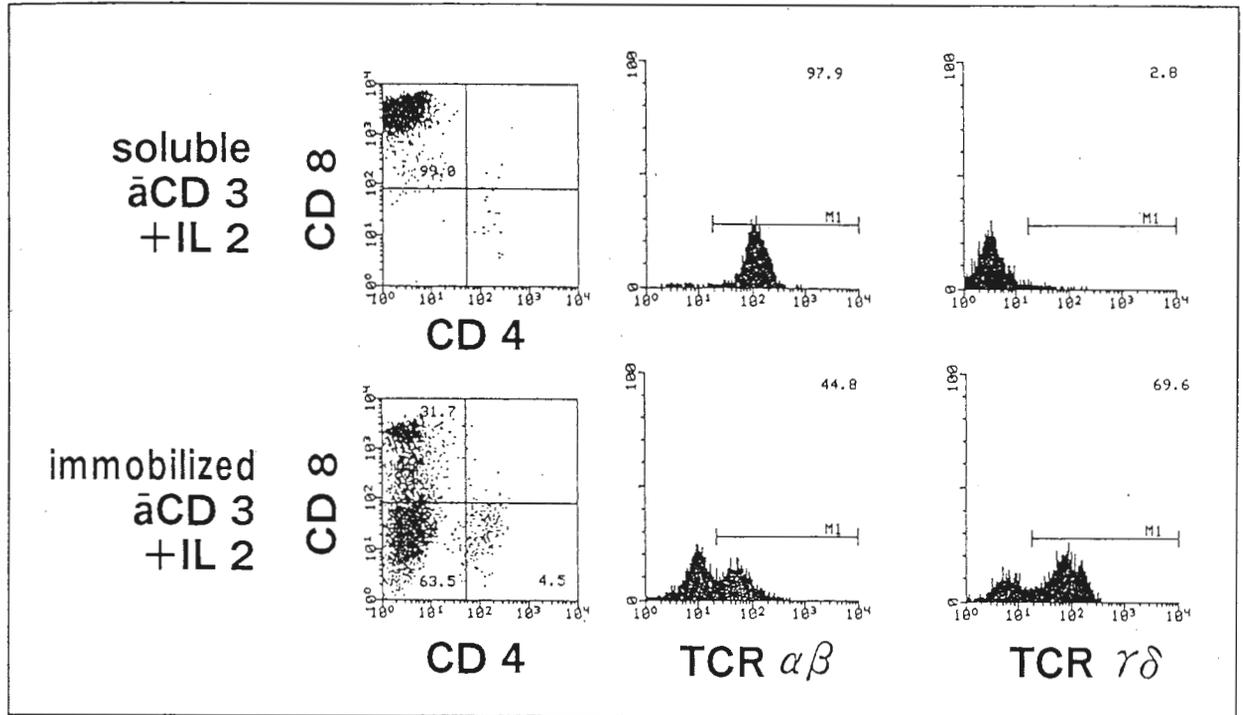


図1 固相化CD3抗体処理と液相CD3抗体処理リンパ球の培養3週間後のFACScan解析(KI例)

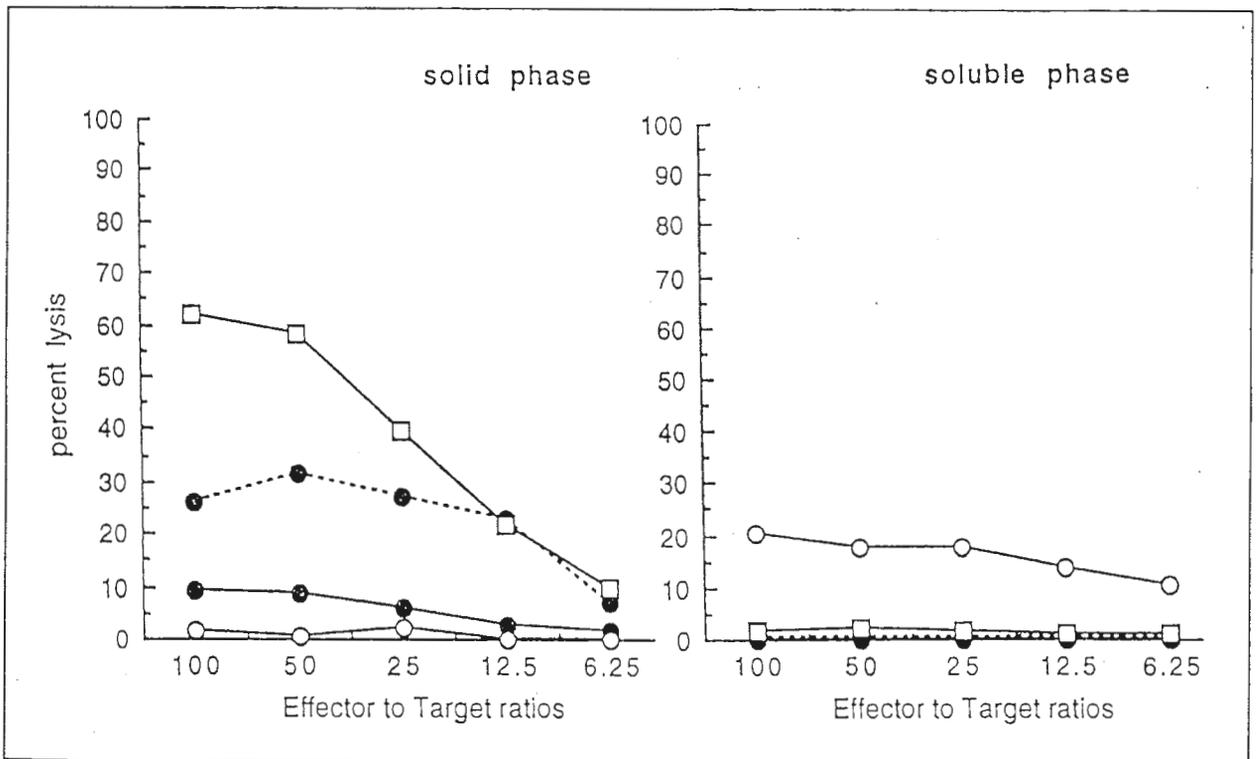


図2 固相化CD3抗体法と液相法による培養3週間後のT細胞細胞障害活性(NT例)

標的細胞：—●—自己グリオーマ細胞(NT), ...●...他人グリオーマ細胞(KI), □ K-562細胞, ○ 自己白血球

KI例とNT例で抗CD3抗体を液相で培養したものと、固相で培養したものを2週間後にTCR  $\alpha\beta$ とTCR  $\gamma\delta$  保持細胞の比率を調べたところ、 $\gamma\delta$  T細胞がKI例では液相で2.8%に減少しているのに対し、固相では69.6%に増加していること

がわかった(図1)。またNT例では液相で1.5%と変わらないのに対し、固相では15.3%と増加していた。一方抗CD3抗体を液相で培養したものは $\alpha\beta$  T細胞がNT例では15.0%から98.2%に、KI例で36.2%が97.9%に増加し、液相培養が $\alpha\beta$  T

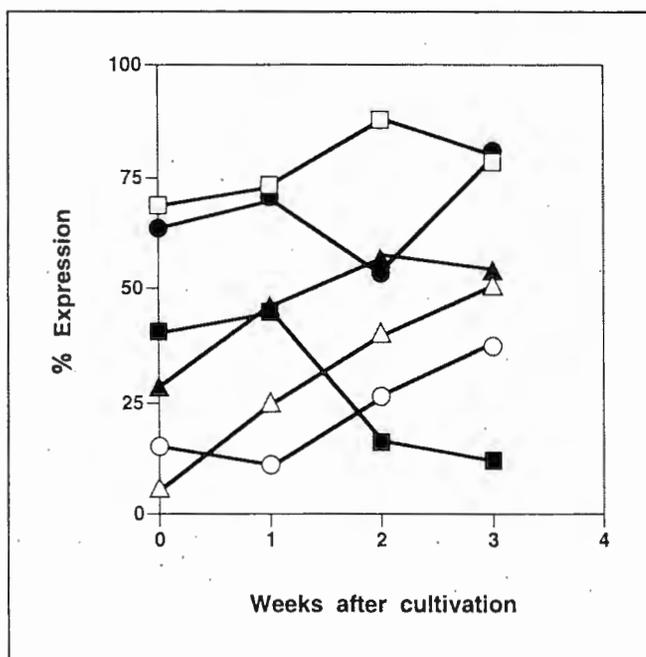


図3 直腸癌患者由来リンパ球の培養による  
 $\gamma\delta$  T細胞割合の増加  
 △ TCR  $\gamma\delta$ , □ CD3, ○ CD16, ▲ TCR  $\alpha\beta$ , ■ CD4, ▲ CD8

細胞の増殖に関与していることがわかった。

次に固相ならびに液相で培養したときのNT例, KI例で自己glioma細胞, 他人のglioma細胞, K-562細胞, 自己末梢血白血球細胞に対する殺細胞効果を調べたところ図2に示すようにKI例, NT例とも固相で培養し,  $\gamma\delta$  T細胞が増加したものは自己癌細胞を含め腫瘍細胞を殺しているのに対し, 液相で培養しほとんど $\alpha\beta$  T細胞になったものは, 自己の白血球だけを殺し, 自己癌細胞を殺していないことがわかった。すなわち従来の免疫療法であるLAK, CTL, TIL療法はいずれも $\alpha\beta$ 型のキラー細胞を増殖させる方法だが, このキラー細胞は自己白血球も殺し, 副作用が出る可能性を示唆したことになる。

さらに, われわれは固相化CD3抗体とIL-2で培養したリンパ球を最後のharvest 1時間前にIL-2を1000U/ml加えると, K-562, Daudi両細胞に対するlytic unitが増強されることがわかったので, 現在われわれはLAK療法にかわる以下のBAK (BRM activated killer)療法を考案した。

#### BAK療法の培養

部屋全体をオゾンで殺菌した培養室内のクリーンベンチ内で以下の操作を行う。

(1)患者さんからヘパリン加注射器で20ml採

血する。

- (2) Ficoll-Paque 350g 25分遠心で単核細胞を採取。
- (3)前夜から225cm<sup>2</sup>培養フラスコに抗CD3抗体 (OKT3, オルソ社製)を5 $\mu$ g/ml加え固相化していたものに単核細胞を加え, 10%ヒトAB型血清とIL-2(700U/ml)が入ったRPMI1640+7培地(日研製)で培養開始。4日間培養。
- (4)3フラスコに継代し2~3日培養。
- (5)2%ヒトAB型血清とIL-2(175U/ml)が入ったHyMedium 930 B-10(Nipro社製)ILを含むガス透過型バックに継代。
- (6)2~3日培養後2バックに, さらに2~3日後に4バックまで継代する。
- (7)無菌試験, エンドトキシン検査を行う。
- (8)IL-2(1000U/ml)1時間処理。
- (9)2.5%のヒトアルブミンの入った200mlの生理食塩水中に約5 $\times$ 10<sup>6</sup>のリンパ球をharvestする。
- (10)輸血用バックに入れ, 1時間かけて患者さんに点滴静注で戻す。

以上の方法でBAK細胞を培養すると図3に示すように $\gamma\delta$  T細胞がきれいに増加することが

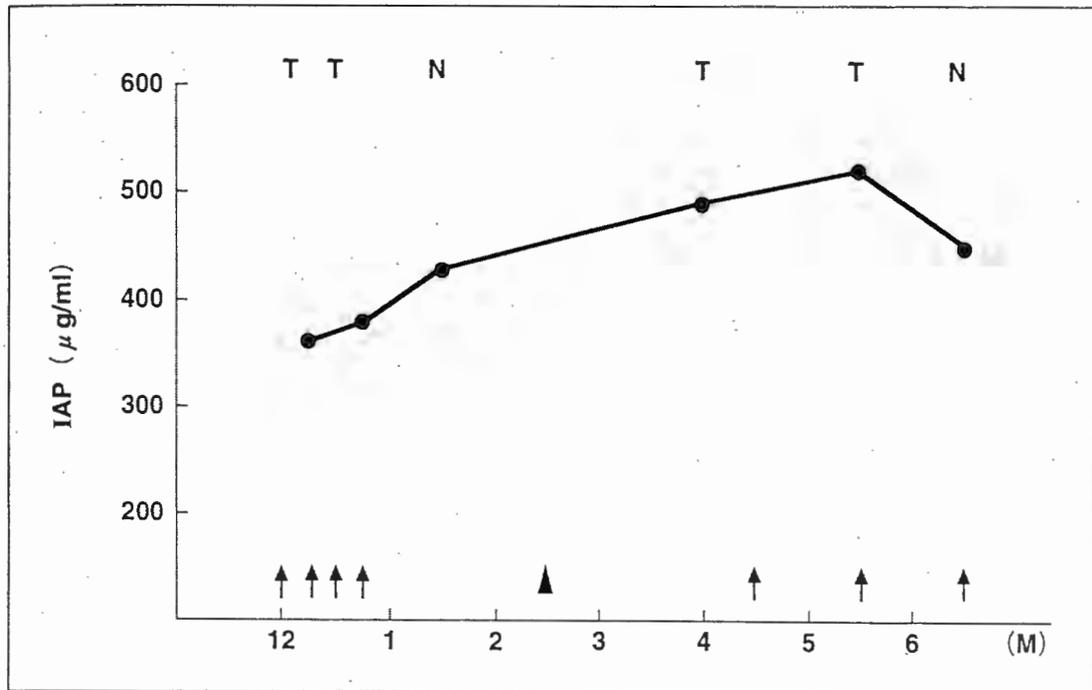


図4 大腸癌肝転移患者のBAK療法の経過

↑：点滴静注，▲：肝動注， T：IAP腫瘍パターン， N：IAP正常パターン

わかる。

現在癌の治療法としては手術療法，放射線療法，化学療法，免疫療法の4種類がある。癌が原発巣だけであれば，手術で取り除けばいいが，すでに遠隔転移巣がある場合は放射線や化学療法剤で全身の癌細胞をたたくことになる。しかし放射線や化学療法剤は癌細胞を殺すことが出来るが，分裂している正常細胞，特に骨髄系の細胞も殺すため副作用がひどくなりQOLに問題がある。そこで考えられたのが体の免疫能を高める免疫療法であるが，免疫療法は副作用が少ない長所があるが，今まで効き目が今一つというところだった。

ところが，われわれが見出した $\gamma\delta$ T細胞を中心とするBAK療法は癌細胞を殺し，正常細胞を殺さない特徴をもっていることから，手術不能で化学療法を断る患者さんのinformed consentを得てpilot試験に入った。患者さんにとっては20mlの採血と2，3週後に1時間かけての点滴静注だけなので，まったく副作用なくQOLからも良い結果を得ている。大腸癌の肝転移例の経過を示すと図4に示すように1995年12月に週1回，その後月1回の投与を行っているが，肝転移像が7ヶ月経過して，CT上ではやや大きく

なっている程度でかなり大きな癌の増殖も抑えているようだ。ただし化学療法剤のように癌細胞を殺す縮小効果は認められない。BAK療法がQOL上，効果を上げている示標としてわれわれのところで見出した免疫抑制酸性蛋白IAPの糖鎖パターンの変化がある<sup>7)</sup>。血清IAP値は腫瘍マーカーとして臨床検査として認められているが<sup>8)~10)</sup>，その糖鎖パターンを図5に示すようにCon A crossed affinity immunoelectrophoresis (CAIE)で調べると，正常人ではpeak 2が高いパターンを取り，癌患者ではpeak 1が高いパターンになる。図4に示した大腸癌肝転移例ではBAK療法を続けると癌組織がやや大きくなっているにもかかわらず，IAPが正常パターンに変化していることがわかった。すなわち化学療法の臨床評価ではNC(不変)であっても免疫療法でQOLがよい状態で癌と共生していることになり，今後癌の免疫療法のめざすところは“がん共生しよう”ということになると考えている。なお，最近BAK細胞にIL-2だけでなくIL-12を併用するとさらにNK，LAK活性が増強することがわかってきている。

もう一つ末梢血中の $\gamma\delta$ T細胞が癌発生を抑えているのではないかと思われる状況証拠として，末梢血単核球での子供と大人での $\gamma\delta$ T細胞

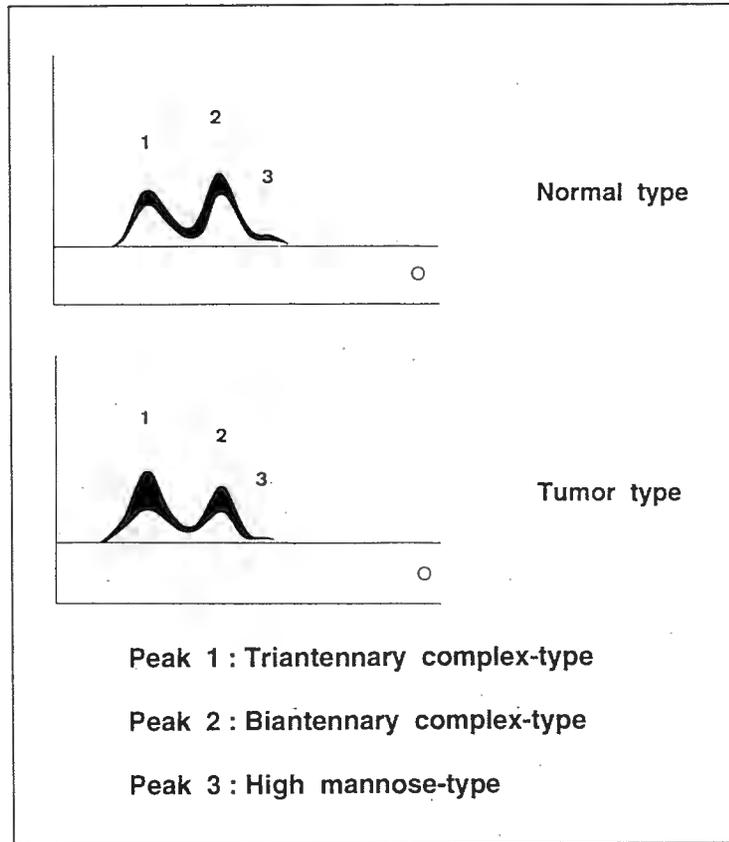


図5 人血清IAPのConA-crossed affinity immunoelectrophoresis (CAIE)パターン

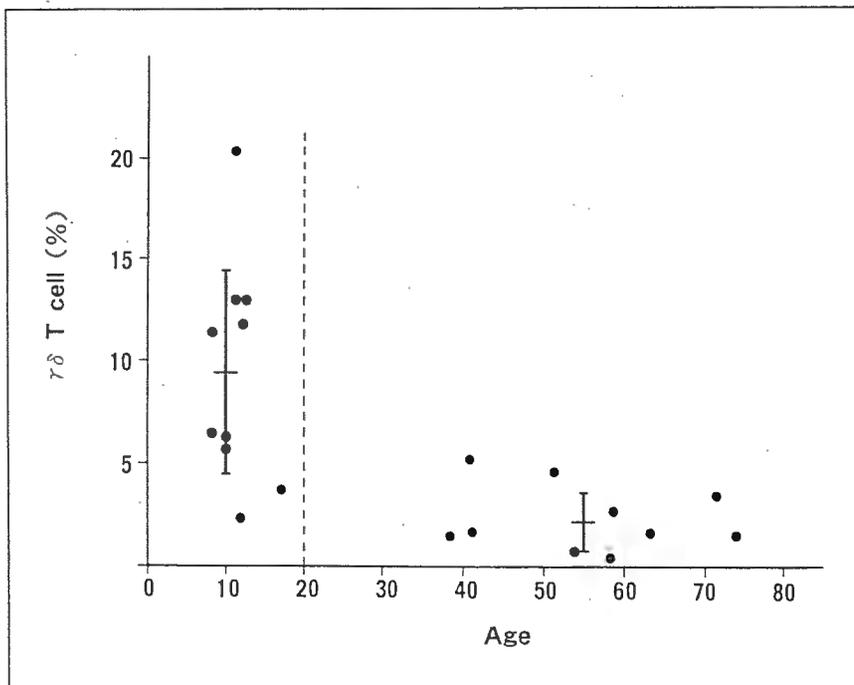


図6 子供並びに大人における末梢血中 $\gamma\delta$ T細胞の割合

胞の割合の違いがある。図6に示すように平均10才の小児10名の $\gamma\delta$ T細胞の比率は $9.43 \pm 5.19\%$ に対し、平均55才の大人10名の $\gamma\delta$ T細胞

の比率は $2.44 \pm 1.52\%$ で、有意に小児の $\gamma\delta$ T細胞が高かった。小児で多く、大人になると減少することから、小児の時は癌が発生しても $\gamma\delta$

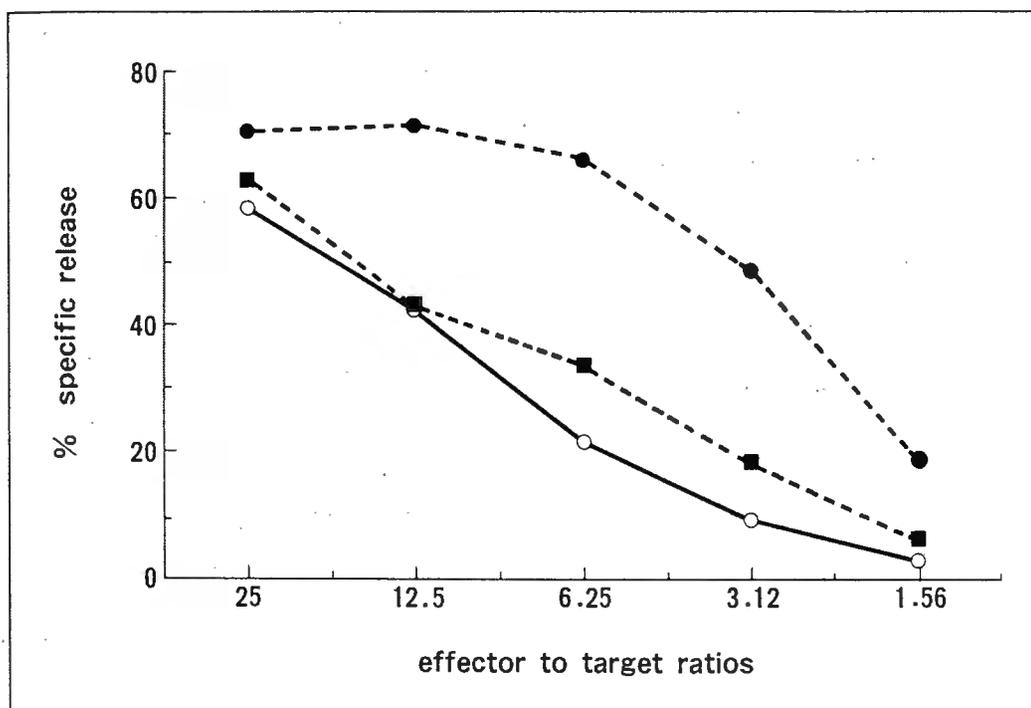


図7 MHCの異なる三種の癌細胞に対する $\gamma\delta$ T細胞の細胞障害活性

○ 自己癌細胞(NO), ■ K-562細胞, ● Daudi細胞

T細胞が殺し、大人になると $\gamma\delta$ T細胞が減少し、癌細胞を殺すことができなくなり、大人で癌が多いことが示唆された。また、鶏、羊、牛などは末梢血中に15から50% $\gamma\delta$ T細胞存在していることから<sup>3)</sup>、これら動物で癌が少ないことも示唆された。

## II. 精製 $\gamma\delta$ T細胞の細胞障害活性

I. で述べたように従来のIL-2と液相抗CD3抗体で増殖させた大部分が $\alpha\beta$ T細胞になったLAK細胞は自己癌細胞を殺さず、かえって自己白血球を殺していることがわかった<sup>11)</sup>。一方固相化抗CD3抗体とIL-2で増殖させた $\gamma\delta$ T細胞を多く含むBAK細胞は自己癌細胞を殺し、自己白血球を殺さないことを示した。そこで次に $\gamma\delta$ T細胞を精製し、その細胞障害活性について調べた。

標的細胞としてHLA class I抗原(+) class II抗原(-)の星状膠細胞腫(NO, 18才女性)の培養細胞, HLA class I(-) class II(+ )のK-562細胞, HLA-A<sup>-</sup>B<sup>-</sup>C<sup>+</sup>DRw6のDaudi細胞を使用した。MHC拘束性を調べるため、抗HLA class I(2 $\mu$ g/ml) 2時間処理したNO細胞も使用した。

Effector細胞として患者NOの末梢血に抗CD3抗

体をプレートに5 $\mu$ g/ml固定したもので1週間培養し、IL-2(700U/ml)を添加し2週間培養したものを使用した。 $\gamma\delta$ T細胞を精製するため抗CD4, 抗CD8 coated Dynabeadsを処理して、CD4, CD8T細胞を除き、抗CD16抗体coated beads処理によりCD16陽性NK細胞を除いた。

細胞障害活性はtarget細胞を<sup>51</sup>Crで標識し、effector細胞のリンパ球と各種比で混合し37℃ 4時間反応後、遊離してきた<sup>51</sup>Cr量で測定した。

FACScan上98%精製された $\gamma\delta$ T細胞を使い殺細胞効果を調べたところ図7に示すようにHLA抗原の表現に関係なく、すべての腫瘍細胞を殺した。そのlytic unitsはK-562に対し181, Daudiに対し468, NOに対し114であった。なお正常白血球に対してはまったく細胞障害活性はなかった。さらにMHC非拘束性を調べるために、NO標的細胞を抗class I抗体で処理して殺細胞効果を調べたところ、抗class I抗体で処理したものが殺細胞効果が上昇し、MHCの非拘束性が確かめられた。

次にFACScan上98%が $\gamma\delta$ T細胞になったものと、IL-2と液相抗CD3抗体により98%が $\alpha\beta$ T細胞になったリンパ球の表面構造を走査電顕で調べたところ、細胞表面絨毛が $\alpha\beta$ T細胞では

粗なものに対し、 $\gamma\delta$ T細胞は精細であり、 $\gamma\delta$ T細胞が腫瘍細胞などにより接着しやすいことが示唆された<sup>12)</sup>。

以上 $\gamma\delta$ T細胞はNK細胞と同様MHC非拘束的に癌細胞を殺し、生体内での有力な抗腫瘍活性を示し、臨床での養子免疫療法に期待がもたれる。

さらに最近この $\gamma\delta$ T細胞はTH1細胞が産生し抗腫瘍性サイトカインと思われるIFN- $\gamma$ やTNF- $\alpha$ を産生することを見出している。

またI<sub>h</sub>のBAK細胞と同様精製 $\gamma\delta$ T細胞もIL-12を併用することにより自己癌細胞に対する殺細胞効果が増強されることも見出した。IL-2R $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ならびにIL-12Rの発現との関係は現在投稿中である。

最後に精製 $\alpha\beta^+CD8^+$ T細胞はIL-12による自己リンパ球細胞に対する細胞障害活性を上昇させることも見出しているので副作用が十分考えられ精製 $\gamma\delta$ T細胞とはまったく異なることを指摘しておきたい。

この研究は宮城県立がんセンター研究所・免疫学部門、藤宮芳章、磯野法子、山口智宏、小鎌直子、佐々木裕子；脳外科、鈴木洋一、片倉隆一；外科、三國潤一、大内清昭；耳鼻咽喉科、横山純吉、西條茂ならびに呼吸器科小犬丸貞裕、松田堯との共同研究である。

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) Rosenberg, S.A., et al.: A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high dose interleukin-2 alone. *N. Engl. J. Med.*, 316 : 889, 1987.
- 2) Brenner, M.B., McLean, J., Dialynas, D.P., et al.: Identification of a putative second T-cell receptor. *Nature*, 322 : 145, 1986.
- 3) Haas, W., Pereira, P. & Tonegawa, S.: Gamma/Delta cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 11 : 637, 1993.
- 4) Mombaerts, P., Mizoguchi, E., Ljunggren, H.G., et al.: Peripheral lymphoid development and function in TCR mutant mice. *Int. Immunol.*, 6 : 1061, 1994.
- 5) 関根暉彬：固相化CD3抗体により活性化したT cell (CD3-AT)を用いた養子免疫療法. *Biotherapy*, 4 : 1606, 1990.
- 6) Ochoa, A.C., et al.: Lymphokine-activated killer activity in long-term cultures with anti-CD3 plus interleukin 2: Identification and isolation of effector subsets. *Cancer Res.*, 49 : 963, 1989.
- 7) Ebina, T., Murata, K. & Tamura, K.: Antitumor effect of intratumoral administration of biological response modifiers: Induction of immunosuppressive acidic protein, a type of  $\alpha$ 1-acid glycoprotein, in mice. *Jpn. J. Cancer Res.*, 85 : 93, 1994.
- 8) Sakita, M., Torii, T., Imaki, S., et al.: Immunosuppressive activity of sera from gastric cancer patients. *Jpn. J. Cancer Res.*, 14 : 127, 1984.
- 9) Tamura, K., Shibata, Y., Matsuda, Y., et al.: Isolation and characterization of an immunosuppressive acidic protein from ascitic fluids of cancer patients. *Cancer Res.*, 41 : 3244, 1981.
- 10) Shibata, Y., Tamura, K. & Ishida, N.: *In vivo* analysis of the suppressive effects of immunosuppressive acidic protein, a type of  $\alpha$ -1 acid glycoprotein, in connection with its high level in tumor-bearing mice. *Cancer Res.*, 43 : 2889, 1983.
- 11) 海老名卓三郎： $\gamma\delta$ T細胞を多く含む末梢血由来細胞の自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果：医学のあゆみ, 173 : 730, 1995.
- 12) 海老名卓三郎, 藤宮芳章, 小鎌直子, ほか：MHC非拘束性末梢血由来 $\gamma\delta$ T細胞による自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果：医学のあゆみ, 177 : 333, 1996.

## 原 著

養子免疫療法における  $\gamma\delta$ T 細胞の役割

宮城県立がんセンター研究所・免疫学部門

海老名卓三郎

要旨 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し、正常細胞を殺さないかが問題となる。患者末梢血由来リンパ球を液相抗 CD3 抗体 (10 ng/ml) 処理すると  $\alpha\beta$ T 細胞が増加し、固相化抗 CD3 抗体 (5  $\mu$ g/ml) 処理すると  $\gamma\delta$ T 細胞が増加した。液相で培養したリンパ球は癌細胞を殺さず、正常白血球を殺し、固相で培養したリンパ球は癌細胞を殺し、正常細胞を殺さなかった。そこで固相化 CD3 抗体と IL-2 処理による BRM activated killer (BAK) 細胞を調製し、患者に約  $5 \times 10^9$  個のリンパ球を点滴静注により戻す養子免疫療法の pilot 研究に入った。QOL の示標として血清 IAP の糖鎖パターンの腫瘍型から正常型への変換をめざした。

**Summary** ROLE OF  $\gamma\delta$ T CELLS ON ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY, Takusaburo Ebina, *Division of Immunology, Research Institute Miyagi Cancer Center*

When peripheral blood mononuclear cells were immobilized with anti-CD3 antibody, peripheral blood  $\gamma\delta$ T cells proliferate in response to immobilized anti-CD3 antibody (3% to 30%). On the other hand, when peripheral blood mononuclear cells were treated with soluble anti-CD3 antibody, most leukocytes became  $\alpha\beta$ T cells. By increasing the ratio of  $\gamma\delta$ T cells, which usually exist only in small amounts in fresh peripheral blood, T cells could selectively kill the autologous cancer cells, but did not harm autologous normal lymphocytes. The  $\alpha\beta$ T cells did not kill any autologous cancer cells, but did kill normal autologous leukocytes. The new adoptive immunotherapy method applying  $\gamma\delta$ T cells, BRM activated killer (BAK) immunotherapy, was devised. As QOL is by nature a mental state for patients, it was difficult to objectively determine the present QOL state. However, we noticed that an immunosuppressive acidic protein (IAP) is produced mainly by macrophages, and hence could be used as a QOL marker. The patient with colon cancer and metastatic liver cancer who refused chemotherapy and gave informed consent was administered  $5 \times 10^9$  BAK cells by intravenous infusion, at first every week for a month, and then every month. The sugar chain pattern of serum IAP changed from tumor pattern to normal pattern during the course of treatment. According to image analysis, the tumor size initially remained constant and then gradually increased during the later stages. However, the general conditions of the patient were very good, suggesting that favorable overall QOL was maintained.

**Key words:** Adoptive immunotherapy,  $\gamma\delta$ T cells, Biological response modifier, Immunosuppressive acidic protein, BRM activated killer

**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 December 20, 1996/Accepted December 27, 1996)

[*Biotherapy* 11 (2): 181-186, February, 1997]

## はじめに

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問題となる。T細胞には従来のキラーT細胞などの TCR $\alpha\beta$  をもっているものと、TCR $\gamma\delta$  をもっているものがあり、 $\gamma\delta$ T 細胞は MHC に拘束されない。われわれは、この  $\gamma\delta$ T 細胞が養子免疫療法にとって重要な役割を果たしていることを見いだしたので報告する。

### I. 材料と方法

#### 1. 標的細胞

脳腫瘍培養細胞 (NT, KI) ならびにそれぞれの新鮮末梢血から分離した単核球細胞, NK 細胞に感受性の白血病細胞 K-562, LAK 細胞に感受性の EB ウイルス誘発 B リンパ腫細胞 Daudi 細胞を使用した。

#### 2. effector 細胞

患者の末梢血由来白血球に IL-2 を 700 U/ml 加え、さらに抗 CD3 抗体を 5  $\mu$ g/ml プレートに固定したもので培養したもの (固相) と培養液中に抗 CD3 抗体を 10 ng/ml 加えて培養したもの (液相) で比較検討した。

#### 3. 白血球表面マーカー

Becton-Dickinson 社製 FACScan にて解析した。使用した抗体は次のとおりである。抗 CD3 ; anti-Leu-4, SK-7 ; 抗 TCR $\alpha\beta$  ; anti-TCR- $\alpha/\beta$ -1, WT-31 ; 抗 TCR $\gamma\delta$  ; anti-TCR- $\gamma/\delta$ -1, 11F2 ; 抗 CD4 ; anti-Leu-3a, SK3 ; 抗 CD8 ; anti-Leu-2a, SK1 ; 抗 CD16 ; anti-Leu-11a, B73.1。

#### 4. $\gamma\delta$ T 細胞の精製

抗 CD4, 抗 CD8 coated Dynabeads を処理して, CD4, CD8 T 細胞を除き, 抗 CD16 抗体 coated beads 処理により CD16 陽性 NK 細胞を除いた。

#### 5. 血清 IAP の測定

患者血清中の IAP 値は single radial immunodiffusion (SRID) 法を用い測定した。

#### 6. 血清 IAP の糖鎖パターン

腫瘍性 IAP と正常・炎症性 IAP の物性の違

いを Con A を使った crossed immunoaffinity electrophoresis (CIAE) により解析した。

### 7. 養子免疫療法の pilot study

informed consent を得られた化学療法を拒否している 2 転移癌患者に対して,  $\gamma\delta$ T 細胞を増加させた BAK (BRM activated killer) 細胞を投与して経過を観察した。

## II. 実験結果

### 1. 固相化 CD3 抗体処理と液相 CD3 抗体処理の違い

患者白血球を固相化 CD3 抗体で処理すると, 図1に示すように, 多い場合には3週間培養で  $\gamma\delta$ T 細胞が 70% 近くまでなった。一方, 液相 CD3 抗体では大部分が  $\alpha\beta$ T 細胞になった。この時自己癌, 他人癌ならびに自己白血球に対する細胞障害活性を調べると, 図2のごとく, 固相化 CD3 抗体処理リンパ球では自己癌細胞を含む癌細胞を殺し, 自己白血球は殺さなかった。一方, 液相 CD3 抗体処理リンパ球は癌細胞を殺さないのに対し, 自己白血球を殺した。すなわち, 従来の  $\alpha\beta$ T キラー細胞が副作用を起こすことが示唆された<sup>1)</sup>。別の患者 (NY) でも固相化 CD3 抗体 4 日間の処理で, その後  $\gamma\delta$ T 細胞が増加することを確かめた (図3)。

### 2. 精製 $\gamma\delta$ T 細胞と $\alpha\beta$ T 細胞細胞表面構造の差異

液相 CD3 抗体処理で得た精製  $\alpha\beta$ T 細胞とビーズ法で得た精製  $\gamma\delta$ T 細胞とを走査電顕で調べたところ, 細胞表面絨毛が  $\alpha\beta$ T 細胞では粗なのに対し,  $\gamma\delta$ T 細胞は精細であり,  $\gamma\delta$ T 細胞が腫瘍細胞などにより接着しやすいことが示唆された<sup>2)</sup>。

### 3. 末梢血単核球での小児と成人での $\gamma\delta$ T 細胞の割合

年齢の違いによる新鮮末梢血単核球中の  $\gamma\delta$ T 細胞の比率を確かめたところ, 平均 10 歳の小児 10 名の  $\gamma\delta$ T 細胞の比率は  $9.43 \pm 5.19\%$  に対し, 平均 55 歳の成人 10 名の  $\gamma\delta$  細胞の比率は  $2.44 \pm 1.52\%$  で, 有意に小児の  $\gamma\delta$ T 細胞が高かった<sup>2)</sup>。

### 4. BAK 療法の考案

$\alpha\beta$ T 細胞を中心とする従来の LAK 療法と異なり,  $\gamma\delta$ T 細胞を中心とする新たな BRM acti-

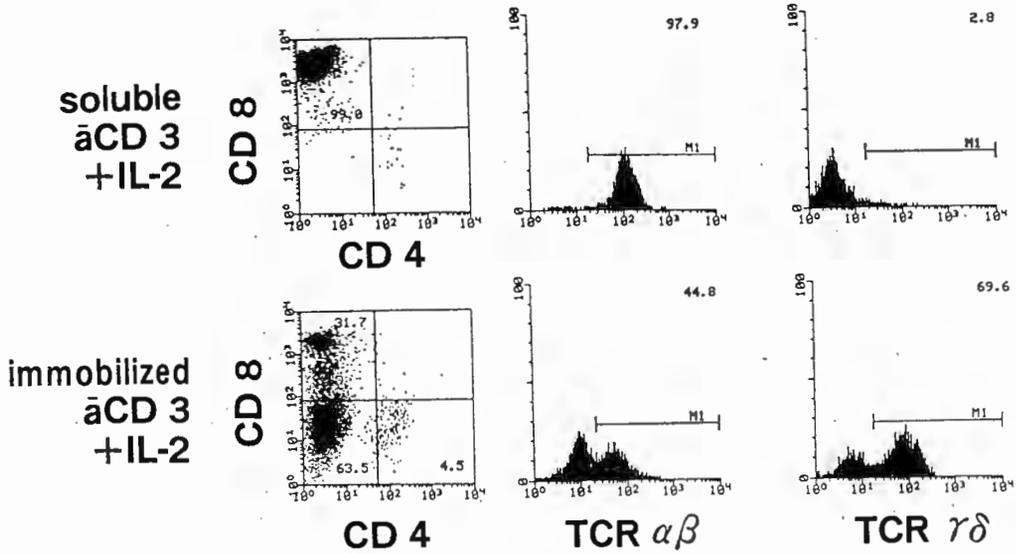


図1 液相抗 CD3 抗体処理と固相抗 CD3 抗体処理患者リンパ球の培養3週間後の表面マーカー

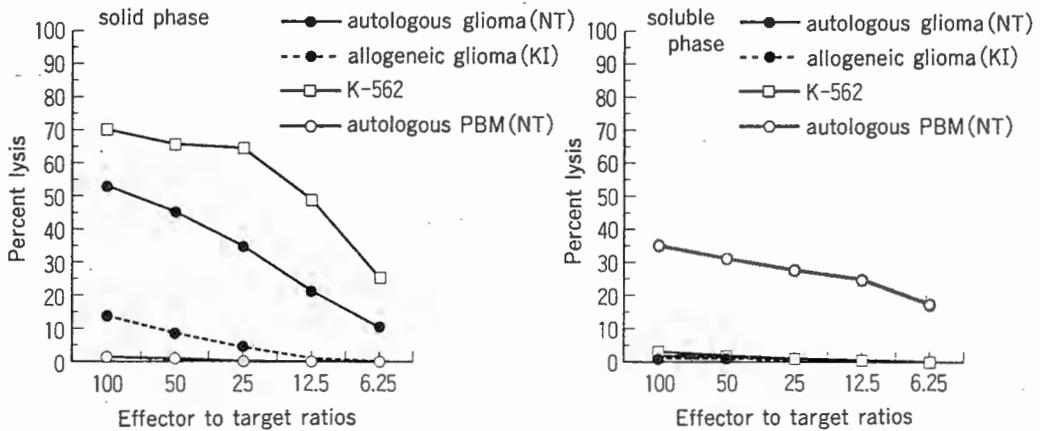


図2 固相化 CD3 抗体処理ならびに液相 CD3 抗体処理リンパ球の細胞障害活性

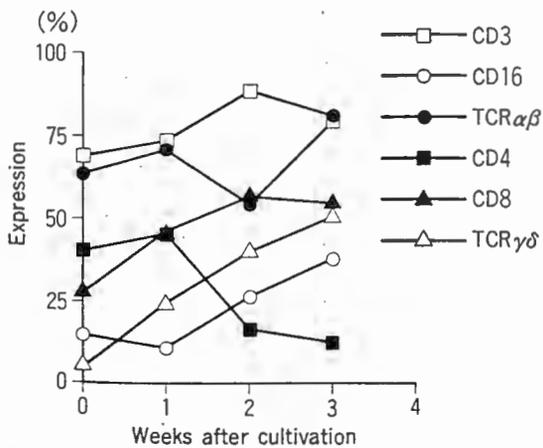


図3 固相化 CD3 抗体処理後のリンパ球の  $\gamma\delta$ T 細胞集団の増加

表1 BAK 細胞の最終採取時の IL-2 処理における NK, LAK 活性の増強

treatment	target cell	
	K-562	Daudi
control (4 days culture)	135.98	47.3
IL-2 (1,000 U/ml), one hour	192.04	108.9
IL-2 (1,000 U/ml), one day	101.71	82.2

(LU30)

vated killer (BAK) 療法を考案した。すなわち、固相化抗 CD3 抗体処理とリンパ球の最後の集積段階で表1に示すように IL-2 を 1,000 U/ml で1時間処理することにより NK 活性, LAK 活

表 2 BAK (BRM activated killer) 細胞の調製法

20 ml of patients' heparinized peripheral blood  
 ↓  
 Ficoll-Paque centrifugation at 350 g for 25 min  
 ↓  
 Peripheral blood mononuclear cells (PBMC, 10<sup>6</sup>/ml) in RPMI-1640+7 (Nikken Biomedical Lab) containing 10 % human AB serum plus rh IL-2 (700 U/ml)  
 ↓  
 The 225 cm<sup>2</sup> culture flask was incubated with anti-CD 3 antibody (OKT 3, Ortho Diagnostics, 5 μg/ml) overnight at r.t.  
 ↓  
 30 ml of PBMC were added to the coated flask and cultured in CO<sub>2</sub> incubator at 37 °C for 2 days  
 ↓  
 20 ml of RPMI-1640+7 medium were added and cultured for 2-3 days  
 ↓  
 Split to 3 flasks and culture for 2-3 days  
 ↓  
 Transfer into gas-permeable bag containing 1 l of HyMedium 930 B-10 (Nipro) with 175 U of IL-2 and 2 % human AB serum  
 ↓  
 Culture for 2-3 days and split 2 bags  
 ↓  
 Culture for 2-3 days and split 4 bags  
 ↓  
 Sterilization test and endotoxin assay  
 ↓  
 Treatment of IL-2 (1,000 U/ml) for 1 hr  
 ↓  
 Harvest lymphocytes (5×10<sup>9</sup>) in 200 ml of saline with 2.5 % human albumin

性とも増加することから、以下のような BAK 療法を考案した。表 2 に示す。

5. QOL の指標

現在の医療は QOL をよい状態を保ちながら治療することが大切である。QOL に関係した精神神経系は、体内で免疫系と内分泌系の三角関係にあり、密接に関係している (図 4)。そこで、一般に BRM 投与は精神神経系によい方向に働いていることが示唆されている。ただ QOL は患者の

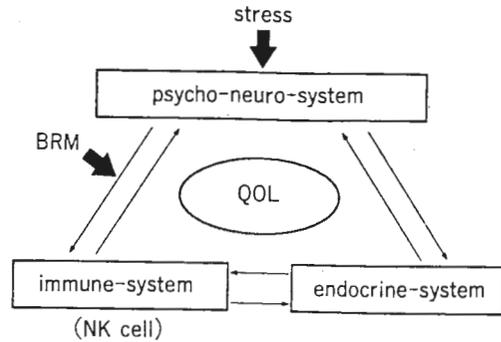


図 4 QOL にかかわる生体のトライアングル

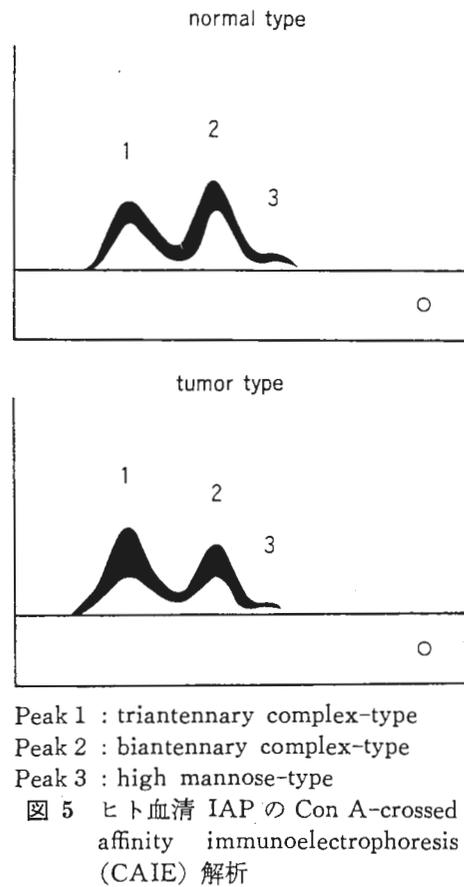


図 5 ヒト血清 IAP の Con A-crossed affinity immunoelectrophoresis (CAIE) 解析

気持ちの問題で、客観的に評価することが難しい。そこでわれわれは、腫瘍マーカーとして検査で認められている血清中 immunosuppressive acidic protein (IAP) が主にマクロファージが産生していることに注目し、癌が大きくなると、その癌を認識して、正常とはわずかに異なる糖鎖パターンの IAP を産生していることを認めた<sup>3)</sup>。図 5 に示すように、Con A-CAIE 電気泳動を行うと、マンノース糖鎖の違いから、正常のヒトは peak 2 (biantennary complex-type) の糖鎖を作り、癌が増殖すると peak 1 (triantennary complex-

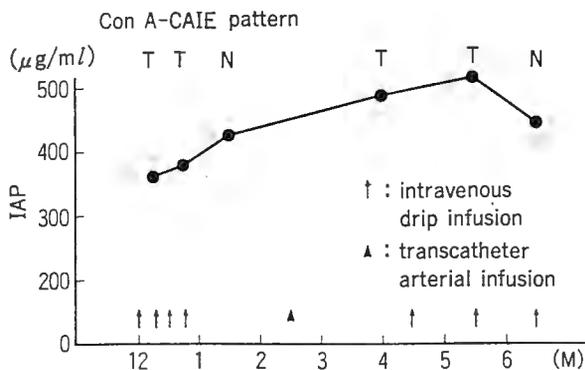


図 6 大腸癌の肝転移例における BAK 療法の経過 (52歳, 男性)

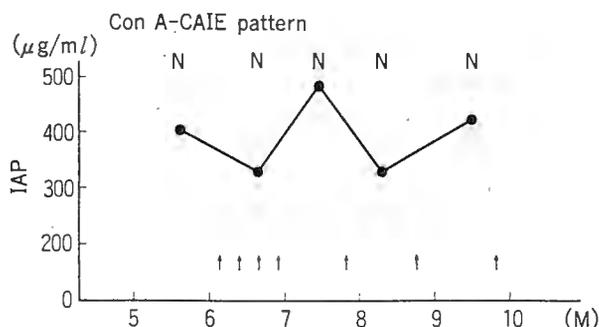
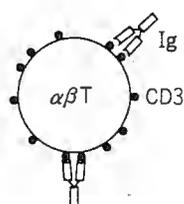


図 7 腎細胞癌の肺転移例の BAK 療法の経過 (65歳, 男性)

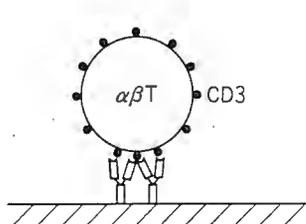
soluble anti-CD3 Ig



single signal

$\alpha\beta T \rightarrow$  proliferation  
 $\gamma\delta T \rightarrow$  decrease

immobilized anti-CD3 Ig



double signal

$\alpha\beta T \rightarrow$  apoptosis  
 $\gamma\delta T \rightarrow$  proliferation

図 8 固相化 CD3 抗体処理における  $\gamma\delta T$  細胞増加機構仮説

type) の糖鎖を作っていることが示唆された。すなわち、癌があっても、今増大していなければ正常タイプの IAP を作っており、癌が増大すると初めて腫瘍タイプになることになる。そこで、免疫療法を行うことによる IAP の糖鎖パターンにより QOL の状態を把握しようと試みた。

### 6. BAK 療法の経過

大腸癌ですでに肝臓に転移があり、手術不能例で図6に示すように最初の1か月は週1回ずつ4回、それぞれ約  $5 \times 10^9$  個の BAK 細胞を点滴静注したところ、血清 IAP の腫瘍パターンが正常パターンに変化した。少し BAK 療法を休んだところ、また腫瘍タイプに変化したので、今度は月1回ずつ投与したところ、また正常タイプに変化し、癌は少しずつ大きくなっているにもかかわらず、QOL がよい状態で過している。

次に腎細胞癌で肺に多数の転移がある例では、図7に示すように IAP が正常パターンを維持していることがわかり、さらに経過を観察中である。

以上 BAK 療法はこの療法自体では発熱などの副作用がまったくなく、QOL のよい療法としてさらに発展が期待されると思う。

### III. 考 察

何ゆえ固相化 CD3 抗体処理によって  $\gamma\delta T$  細胞が増殖してくるのかに関してはまだ推測の域を脱しないが、CD3-TCR 複合体のわずかの結合様式の違いから、図8のように固相化 CD3 抗体では大部分の  $\alpha\beta T$  細胞に double signal が入り、apoptosis を起こし、結果的に  $\gamma\delta T$  細胞が増加するのではないかと考えている。

一方、BAK 療法の問題点は、ヒトによっては  $\gamma\delta T$  細胞が増えないことで、リンパ腫の患者では  $\gamma\delta T$  細胞が増えず、CD8 細胞が増加した。この CD8 細胞は PHA 刺激した自己白血球を殺し、従来の CTL 療法は副作用が考えられ、養子免疫療法には MHC 非拘束性の  $\gamma\delta T$  細胞が重要な役割を演じていると考えられた。

本研究は宮城県立がんセンター研究所免疫学部門藤宮芳章, 小鎌直子, 佐々木裕子, 磯野法子, 菊地由美, 山口智宏, 脳神経外科鈴木洋一, 片倉隆一, 外科三國潤一, 大内清昭, 呼吸器科小犬丸貞裕, 松田 堯, 耳鼻科横山純吉, 内科鈴木雅貴との共同研究である。

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:  $\gamma\delta$ T 細胞を多く含む末梢血由来細胞の自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果. 医学のあゆみ 173: 739-740, 1995.
- 2) 海老名卓三郎, 藤宮芳章, 小鎌直子・他: MHC 非拘束性末梢血由来  $\gamma\delta$ T 細胞による自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果. 医学のあゆみ 177: 333-334, 1996.
- 3) Ebina, T., Murata, K. and Tamura, K.: Antitumor effect of intratumoral administration of biological response modifiers: Induction of immunosuppressive acidic protein, a type of  $\alpha_1$ -acid glycoprotein, in mice. *Jpn. J. Cancer Res.* 85: 93-100, 1994.

## 特集

● 第9回 日本BRM学会学術集会総会 ●

末梢血由来  $\gamma\delta$  T細胞とNK細胞を使った  
BRM 活性化キラー (BAK) 養子免疫療法

宮城県立がんセンター研究所・免疫学部門

海老名卓三郎

**要旨** 癌患者末梢血由来単核球 ( $5 \times 10^6$ ) を固相化 CD3 抗体で4日間、IL-2で2~3週間培養した。この培養により末梢血中2~3%しかなかった  $\gamma\delta$ T 細胞が20~30%に増加した。この BRM 活性化キラー (BAK) 細胞  $5 \times 10^9$  個を informed consent の得られた癌患者に点滴静注により養子免疫療法を行った。大腸癌の肝転移例で最初は週1回ずつ4回、後月1回ずつ8回投与し、副作用なく経過した。QOL のマーカーとして血清 IAP の Con A-crossed immunoaffino 電気泳動を行い、腫瘍パターンから正常パターンへの変換を認めた。BAK 療法は培養に2~3週間かかる難点があるので、もう一つ新しい養子免疫療法としてサイトカイン活性化白血球 (CAL) 療法を考案した。成分採血機を使い  $5 \times 10^9$  の白血球を得て、IFN- $\alpha$  と IL-2 で1日だけ処理してNK, LAK 活性を増強させて点滴静注した。肺癌の骨転移例で月1回ずつ投与し、副作用なく10か月経過した。

**Summary** BRM-ACTIVATED KILLER (BAK) ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY USING PERIPHERAL BLOOD  $\gamma\delta$  T AND NK CELLS, Takusaburo Ebina, *Division of Immunology, Research Institute, Miyagi Cancer Center*

Peripheral blood mononuclear cells ( $5 \times 10^6$ ) were immobilized with anti-CD3 antibody for 4 days and cultured with IL-2 for 2-3 weeks. Peripheral blood  $\gamma\delta$ T cells proliferate in response to immobilized anti-CD3 antibody (3% to 30%). About  $5 \times 10^9$  BRM-activated killer (BAK) cells were treated to cancer patients by intravenous drip infusion. One patient with colon cancer and metastatic cancer of the liver was treated with BAK cells by transcatheter arterial infusion without side effect. During the course of BAK treatment, the serum IAP CIAE (crossed immunoaffino electrophoresis) pattern of a patient changed its tumor IAP pattern to a normal IAP pattern. Two patients with malignant tumor in maxillary sinus were treated with BAK cells and OK-432 intratumorally. BAK treatment induced more infiltration of T cells, M $\phi$  and granulocytes in the tumor than OK-432 treatment alone and showed antitumor effect with extensive necrosis. The immobilized anti-CD3 method took 2-3 weeks to obtain  $5 \times 10^9$  activated T cells. We developed another BAK immunotherapy which took only 1 day. About  $5 \times 10^9$  peripheral blood leukocytes were collected by the COBE spectra apheresis system (Cobe Laboratories Inc., USA). These leukocytes were activated by 500 U/ml of IFN- $\alpha$  and 700 U/ml of IL-2 for 24 hrs, and assayed for NK and LAK activities and 2.5 A synthetase activity. Enhancement of NK and LAK activities and increase of 2.5 A synthetase of BAK cells were observed. One patient with lung cancer and metastatic cancer of the bone was treated with BAK cells by intravenous drip infusion once a month without side effect for 8 months. Because both  $\gamma\delta$ T cells and NK cells have a MHC-nonrestrictive killing activity against autologous tumor cells, such BAK adoptive immunotherapy might be effective for some advanced tumors without side effects.

**Key words:**  $\gamma\delta$ T cells, NK cells, Adoptive immunotherapy, Immunosuppressive acidic protein (IAP), Biological response modifier (BRM)

**Address request for reprints to:** Dr. Takusaburo Ebina, Division of Immunology, Research Institute, Miyagi

〈示説〉

Cancer Center, 47-1, Nodayama, Medeshima-shiode, Natori, Miyagi 981-12, Japan

(Biotherapy 11(3) : 347-349, March, 1997)

## I. 目的

臨床での効果的な癌養子免疫療法の確立をめざして、われわれは固相化 CD3 抗体と IL-2 により MHC 非拘束的に自己癌細胞を殺すことができる  $\gamma\delta$ T 細胞を増殖させる養子免疫療法を行っている。ただこの BRM-activated killer (BAK) 療法はリンパ球の培養に最低 2~3 週間かかる難点がある。そこで成分採血機を使い白血球を大量に採取し、24 時間 IFN と IL-2 処理により NK, LAK 活性を増強して患者に戻す CAL (cytokine-activated leukocytes) 療法も開発したので、MHC 非拘束的な  $\gamma\delta$ T と NK 細胞を中心とした養子免疫療法の確立をめざす。

## II. 方法

### 1. BAK 療法

Table 1 に示すように患者末梢血 20 ml を採取し、リンパ球分画を抗 CD3 抗体をプレートに 5  $\mu$ g/ml 固定したもので 4 日間培養し、IL-2 (700 U/ml) を添加して 2~3 週間培養し、 $\gamma\delta$ T 細胞を増殖させたリンパ球を使用した。

### 2. CAL 療法

Table 2 に示すように、COBE 社製の成分採血機を使用して白血球を  $6 \times 10^9$  採取し、IFN- $\alpha$  を 500 U/ml, IL-2 を 175 U/ml を 1 昼夜処理した白血球を使用した。

### 3. 血清 IAP の物性検討

ヒト血清中の IAP 値を single radial immunodiffusion (SRID) 法を用い測定した。ヒト血清中の IAP の heterogeneity に関して Con A を使った crossed immunoaffino electrophoresis (CIAE) により糖鎖の違いについて解析した。

## III. 結果ならびに考察

### 1. QOL マーカーとしての IAP 糖鎖パターン

腫瘍患者と正常人の血清を採取し、IAP 値と IAP の Con-A-CIAE を行い、糖鎖の違いについ

Table 1 BRM activated killer (BAK) cell preparation

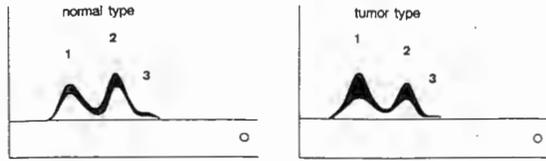
20 ml of patients' heparinized peripheral blood
↓
Ficoll-Paque centrifugation at 350 g for 25 min
↓
Peripheral blood mononuclear cells (PBMC, $10^6$ /ml) in RPMI-1640+7 (Nikken Biomedical Lab) containing 10% human AB serum plus rIL-2 (700 U/ml)
The 225 cm <sup>2</sup> culture flask was incubated with anti-CD3 antibody (OKT3, Ortho Diagnostics, 5 $\mu$ g/ml) overnight at rt
↓
30 ml of PBMC were added to the coated flask and cultured in CO <sub>2</sub> incubator at 37°C for 2 days
↓
20 ml of RPMI-1640+7 medium were added and cultured for 2-3 days
↓
Split to 3 flasks and culture for 2-3 days
↓
Transfer into gas-permeable bag containing 1 l of HyMedium 930 B-10 (Nipro) with 175 U of IL-2 and 2% human AB serum
↓
Culture for 2-3 days and split 2 bags
↓
Culture for 2-3 days and split 4 bags
↓
Sterilization test and endotoxin assay
↓
Treatment of IL-2 (1,000 U/ml) for 1 hr
↓
Harvest lymphocytes ( $5 \times 10^9$ ) in 200 ml of saline with 2.5% human albumin

Table 2 Cytokine activated leukocytes (CAL) preparation

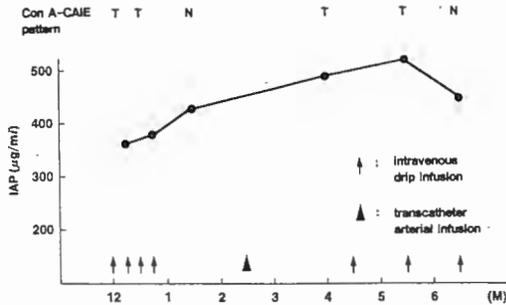
Leukocytes ( $6 \times 10^9$ /200 ml) are collected by the COBE Spectra Apheresis System
↓
Washed 3 times by centrifugation at 1,600 rpm for 10 min at 4°C in saline with 0.1% human albumin
↓
Transfer into Nipro gas-permeable bag containing 500 ml of RPMI-1640+7 medium with IFN- $\alpha$ (500 U/ml) plus IL-2 (175 U/ml) and 10% human same blood type FFP
↓
Cultured in CO <sub>2</sub> incubator at 37°C overnight
↓
Washed 3 times by centrifugation in saline with 0.1% human albumin
↓
Transfer into Terumo transfusion bag containing 200 ml of saline with 2% albumin

て調べたところ、Fig. 1 に示すように正常人が peak 2 の biantennary complex-type が大きい のに対し、腫瘍患者では peak 1 の triantennary complex-type が大きいことがわかった。すなわち、IAP は主にマクロファージが産生しているので、体内で腫瘍が大きくなると、それを認識したマクロファージが糖鎖が少し異なった IAP を産生することになり、IAP は炎症や手術侵襲によっ

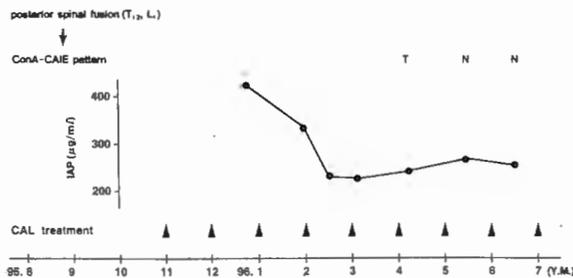
<示説>



**Fig. 1** Con A-crossed affinity immunoelectrophoresis (CAIE) patterns of human serum IAP  
 peak 1: triantennary complex-type  
 peak 2: biantennary complex-type  
 peak 3: high mannose-type



**Fig. 2** Course of BAK treatment  
 Patient: KO, male, 52 y.o.  
 Present illness: colon cancer, metastatic cancer of the liver



**Fig. 3** Course of CAL treatment  
 Patient: KI, male, 43 y.o.  
 Present illness: lung cancer, metastatic cancer of the bone

でも高値になるので、定量だけではなく電気泳動による定性により現在の QOL が客観的にわかるようになるものと考えた。

**2.  $\gamma\delta$ T 細胞を中心とした BAK 療法**  
 固相化 CD3 抗体と IL-2 による培養で  $\gamma\delta$ T 細

胞が増加し、この  $\gamma\delta$ T 細胞は自己癌細胞は殺すが、自己白血球は殺さないことがわかっている<sup>1,2)</sup>。そこで informed consent の得られた化学療法を拒否した大腸癌の肝転移例に最初は週1回ずつ、後月1回ずつ  $5 \times 10^9$  の BAK 細胞を1時間かけて点滴静注を行った。その結果、Fig. 2 に示すようにその経過中に血清 IAP の糖鎖パターンを調べたところ、腫瘍パターンから正常パターンに変化していた。すなわち、画像上の腫瘍の大きさは NC の状態が続き、後半では少しずつ大きくなっているが、一般状態は非常によく QOL がよい状態で過ごすことができたと思っている。

**3. NK 細胞を中心とした CAL 療法**

2. の BAK 療法はヒトによって  $\gamma\delta$ T 細胞が増加しないことがあることと、培養に2~3週間かかる難点がある。そこで成分採血機を使い2~3時間で  $5 \times 10^9$  の白血球を得て、IFN- $\alpha$  500 U/ml と IL-2 175 U/ml を加えて1日だけ培養したところ NK, LAK 活性とも増強し、さらに血球の 2.5 A 合成酵素も有意に上昇し、活性化が起こっていることがわかった。そこで Fig. 3 に示すように、informed consent の得られた肺癌の骨転移例にこの活性化した CAL 細胞を毎月1回点滴静注で投与し、8か月経過しているが、IAP が減少し、糖鎖パターンが正常パターンに戻り、QOL がよい状態にあることを示した。BAK, CAL 療法とも今のところまったく副作用がない点の特徴である。

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:  $\gamma\delta$ T 細胞を多く含む末梢血由来細胞の自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果. 医学のあゆみ 173: 739-740, 1995.
- 2) 海老名卓三郎, 藤宮芳章, 小鎌直子・他: MHC 非拘束性末梢血由来  $\gamma\delta$ T 細胞による自己腫瘍細胞に対する殺細胞効果. 医学のあゆみ 177: 333-334, 1996.

<示説>

特集

## 糖鎖は生物の機能をどう決めているか

## シアリダーゼとがん転移

宮城妙子

細胞のがん化時にみられるシアル酸の質的および量的変化は、がん細胞の浸潤・転移能と深く関連している。糖鎖の非還元末端からシアル酸を離脱するシアリダーゼは、シアル酸転移酵素とともにこのシアル酸量を調節している。本稿では、シアリダーゼ活性ががん転移能と逆相関している例、シアリダーゼ遺伝子を高転移細胞に導入すると著しい転移抑制がもたらされた例を紹介する。

key words

シアリダーゼ、がん転移、遺伝子導入

## はじめに

細胞のがん化すると、必ず表層膜糖鎖の異常がみられる。このがん性変化のうち、糖タンパク質糖鎖については、アスパラギン結合型糖鎖(N-結合型糖鎖)の側鎖分岐が増加すること、ポリラクタサミン構造が増加すること、その非還元末端にはシアル酸(ノイラミン酸のアシル誘導体の総称)の付加が必要であることなどがほぼ普遍的な現象として認められている<sup>1)~5)</sup>。そしてこの変化は、がん細胞の浸潤・転移能と深く関連していることもわかってきた<sup>6),7)</sup>。しかしながら、膜糖タンパク質糖鎖の非還元末端を占めるシアル酸の変化については従来から注目され、多くの観察がなされてきたにもかかわらず、いまだ明確な方向性は得られておらず、またその変化の機構や意義についても不明の点が多い。これらを解決するには、これまで用いられてきた構造解析的な手法のみならず、ダイナミックな観点からの解析が要求されている。シアル酸変化は、糖鎖にシアル酸を付加するシアル酸転移酵素、およびシアル酸を脱離するシ

アリダーゼの活性変化を基盤としており、両酵素の動的平衡によって制御されていると考えられる。本稿では、がん転移と密接するシアル酸変化がシアル酸転移酵素よりはむしろシアリダーゼ発現に大きく依存している例を紹介し、その機構と意義を論じてみたい。

## I. シアル酸とがん転移

シアル酸は、生体内ではそのほとんどが糖タンパク質や糖脂質として糖鎖の非還元末端に結合した形で存在している。シアル酸は分子のコンホメーションに影響を与え、また認識決定基として、あるいは逆に認識部位を隠蔽することにより、シアロ複合糖質(シアル酸をもつ糖タンパク質や糖脂質、オリゴ糖)のもつ生理機能を調節している<sup>8)</sup>。具体的には、その陰性荷電は気道や消化管などの粘液の粘度形成に寄与し、細菌やウイルスなどによる感染経路や免疫機構、レセプターによる認識機構、さらに細胞接着性などに関わっている。

このシアル酸が細胞の増殖やがん化に伴って鋭敏

Sialidase and Cancer Metastasis

MIYAGI Taeko 宮城県立がんセンター研究所 生化学部門

に変化することは、おもに膜タンパク質糖鎖の分析によって明らかにされてきた。Warrenら<sup>11)</sup>は悪性転換細胞を標識し、緩和なトリプシン処理後に遊離した糖ペプチドを調べると、対照細胞に比べて分子量のより大きいところに溶出され、これがシアリダーゼ処理により消失する現象を見だし、悪性化細胞にはシアル酸がより多く結合するものと考えた。このシアル酸増加はがん転移や浸潤に関連する現象とされ、細胞表層シアル酸量や総シアル酸量が転移能と相関するという報告も多い<sup>4), 6), 9), 10)</sup>。しかしながら、シアル酸の量的な変化ではなく、ある種のシアロ複合糖鎖の糖鎖ががん転移と関係があるとする報告もある<sup>11), 12)</sup>。

もし、質的であるにせよ量的であるにせよシアル酸の変化ががん転移に関わっているとすれば、転移のどのような過程に関わっているのであろうか。がんの転移の過程には、がん細胞の原発巣からの離脱、脈管系への浸入、転移臓器の血管内皮細胞への接着と脈管からの離脱、転移臓器での着生とがん細胞の増殖という多くの過程が考えられている。E-セレクトチンのリガンドであるシアリルLe<sup>x</sup><sup>13)~15)</sup>やシアリルLe<sup>a</sup><sup>16)</sup>は、がんの血行性転移においてがん細胞の血管内皮細胞への接着のステップに重要な役割を果たしているといわれている。これらのリガンドからシアル酸を除くと接着性が失われることから、シアル酸がこの接着に不可欠であることがわかっている。シアリルLe<sup>x</sup><sup>17)</sup>はヒト大腸がんの進行、転移に伴って高発現することも明らかになった。これらの例を除くと、転移に関与すると考えられているシアロ複合糖質の機能はほとんどわかっていないのが実状である。

一方、シアル酸変化をもたらす1つの酵素であるシアル酸転移酵素活性ががん転移と密接して変化するという報告がある。すなわち、Gal $\beta$ 1,4GlcNAc $\alpha$ 2,6シアル酸転移酵素活性が大腸がんの悪性化と転移の進行に伴い上昇し、担がん患者血清の同酵素も転移とともに上昇するという<sup>18)</sup>。ところが、シアル酸の脱離を担っているシアリダーゼについての研究は、筆者らのものを除くとこれまでほとんどみられていない。動物シアリダーゼの真の種類や性状がそれほどわかっていなかったことによるのであろう。以下に、近年明らかにされてきた動物シアリダーゼの種類や

性状について簡単に触れたい。

## II. 動物シアリダーゼの種類と性状

動物起源のグリコシダーゼの中では、とりわけシアリダーゼの研究が遅れている。それはシアリダーゼは活性が低く、不安定であり、分離・精製が困難であるためであった。筆者らはおもにラット組織を酵素源として、細菌やウイルス、原虫などのシアリダーゼとは性質の異なる4種のシアリダーゼが存在することを見だししてきた。これらは、それぞれリソソーム内腔<sup>19)</sup>、リソソーム膜<sup>20)</sup>、細胞膜<sup>20)</sup>、細胞質<sup>21)</sup>に局在し、基質特異性などの酵素学的な性状が異なるだけでなく、免疫学的にも互いに区別される。

主要な活性であるリソソーム内腔性シアリダーゼは、オリゴ糖や糖ペプチド、4-メチルウンベリフェリル-シアル酸 (4-methylumbelliferyl sialic acid; 4MU-NeuAc) などの低分子基質には働くが、糖タンパク質やガングリオシドには働かない酵素である。リソソーム膜性および細胞膜性シアリダーゼはガングリオシドを優先的に水解する酵素であり、リソソーム内腔性シアリダーゼと同様、至適pHは酸性にある。一方、細胞質性シアリダーゼは中性pH付近で働き、オリゴ糖、ガングリオシド、糖タンパク質を基質とする。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<sup>22)</sup>。N-アセチルノイラミン酸 (NeuAc, 2mM) や2-デオキシ-2,3-デヒドロ-N-アセチルノイラミン酸 (NeuAc2en, 0.1mM) によってリソソ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、細胞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<sup>2+</sup> (0.5mM) などの重金属イオンや4-ヒドロキシマーキュリア安息香酸 (10mM) は細胞質性および細胞膜性シアリダーゼ活性を阻害し、SH基が活性発現に必須であることを推察させる。

これらのシアリダーゼのうち、細胞質性シアリダーゼについてはラット骨格筋から均一精製品が得られ、動物シアリダーゼでは初めてcDNAがクローン化され、一次構造が決定された<sup>23)</sup>。ゲノム構造も解析され<sup>24)</sup>、機能についてもcDNAをプローブとして明らかにされつつある。この酵素の発現をアンチセンスオリゴマーで阻害すると、骨格筋細胞の筋管形成が阻害された<sup>25)</sup>。骨格筋細胞の分化や発達に関与して

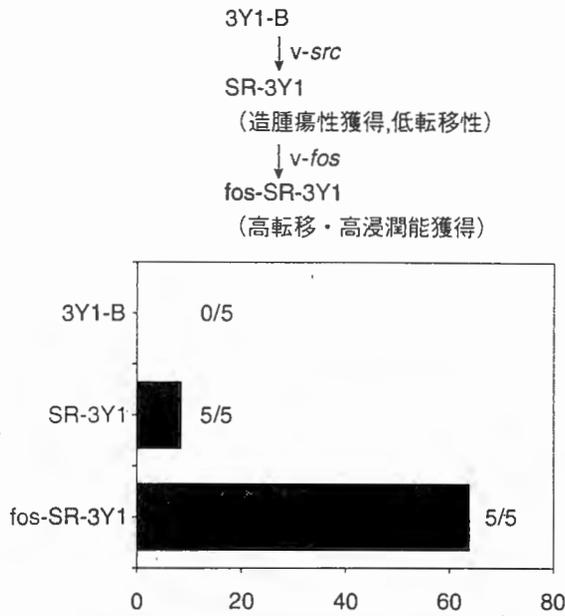


図1 ● 実験に用いられた悪性転換3Y1細胞の自然転移能と造腫瘍性

図中の分数は腫瘍形成率を示している。文献27)より改変。横軸は肺転移の度合(肺におけるコロニー数)。

いるらしい。他の三者については、構造も明確な機能もわかっていない。2つのリソソーム性シアリダーゼについては、リソソームにおいて老廃物処理酵素としての役割が容易に推察されるが、それだけの単純なものでないらしいことは次項「Ⅲ. 高転移細胞のシアリダーゼ」で述べることにする。また、細胞膜性シアリダーゼはガングリオシド以外のシアロ複合糖質にはほとんど働かないことから、細胞外からのシグナルを受ける細胞膜にあって、ガングリオシドを介した情報伝達などの機構に関わっている可能性が考えられる。

以上のシアリダーゼのうち、現在、がん転移に関わっている間接的証拠が得られているのは、リソソーム内腔性シアリダーゼと細胞質性シアリダーゼの2つである。

### Ⅲ. 高転移細胞のシアリダーゼ

転移能の異なる2種の細胞系、すなわちマウスB16メラノーマ細胞系および悪性転換ラット3Y1線維芽細胞系を用いて、シアリダーゼとシアリダーゼ活性レベルを比較した。マウスB16メラノーマ細胞系については、高転移性で自然転移能が高い細胞株が他の低転移細胞に比べ、各種シアリダーゼ活性

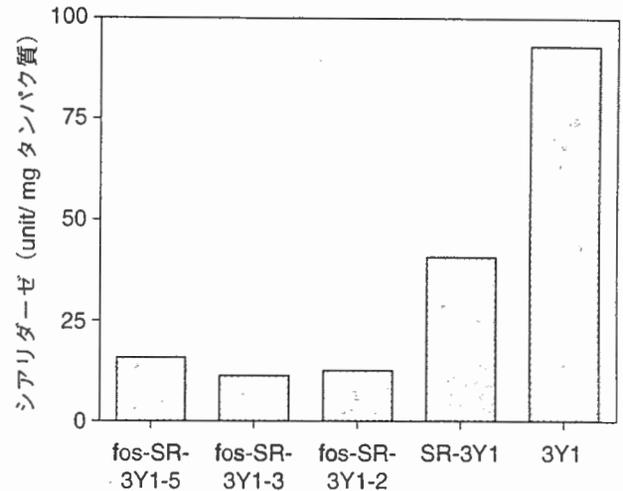


図2 ● 3Y1細胞とその悪性転換細胞におけるシアリダーゼ活性

対照3Y1細胞のシアリダーゼ活性に比べ、がん化したSR-3Y1細胞のそれは34%、さらに高転移能を獲得したfos-SR-3Y1細胞の3種のクローンでは10~20%に減少し、転移能とシアリダーゼ活性は逆相関している。

が高く、シアリダーゼ活性には明らかな相違は認められないという結果が得られた。一方、悪性転換ラット3Y1線維芽細胞系については、高転移・高浸潤能をもつ細胞株にみられた主要な変化はシアリダーゼ活性ではなく、シアリダーゼの側にあった。自然転移能や浸潤能がシアリダーゼ活性と関わっている可能性がこれらの結果によっても推察できる。以下に悪性転換ラット3Y1線維芽細胞系の例<sup>26)</sup>を詳しく紹介する。

ラット3Y1線維芽細胞にラウス肉腫ウイルスを感染させ、造腫瘍性を獲得させたSR-3Y1を受容細胞としてv-fosを導入すると、このfos-SR-3Y1細胞は肺への自然転移能が上昇する(図1)<sup>27)</sup>。転移能の増強の要因を調べると、浸潤能が増強していることがわかった。転移能の異なるこれらの細胞を用いて、シアリダーゼ活性、およびその変化をもたらすシアリダーゼとシアリダーゼ活性レベルを比較した。総シアリダーゼ活性、表層シアリダーゼ活性を比べると、造腫瘍性がない3Y1細胞ではmgタンパク質あたりそれぞれ13.41, 3.42 $\mu$ gであって、悪性転換細胞では総シアリダーゼ活性が24~26 $\mu$ g、表層シアリダーゼ活性が5~6 $\mu$ gと3Y1細胞の約2倍に増加していた。しかし、転移能による相違はみられていない。このシアリダーゼ活性の差は、コムギ胚芽凝集素(wheat germ agglutinin; WGA)レクチンを用

表1 ● 3Y1 およびその悪性転換細胞におけるリソソーム酵素活性

	3Y1	SR-3Y1-2	fos-SR-3Y1-2
シアリダーゼ	84.4	29.1	12.6
グリコシダーゼ		(nmol/時間/mgタンパク質)	
β-ガラクトシダーゼ	15.1	18.6	11.4
β-N-アセチルグルコサミダーゼ	24.9	28.3	22.5
フコシダーゼ	10.9	9.7	8.3
酸性ホスファターゼ	149.6	138.8	120.4
カタプシンD	25.7	26.7	19.5

シアリダーゼ以外には著しい変化はみられない。文献26)より改変。

いたフローサイトメトリーの結果によっても裏づけられた。悪性転換細胞では、シアル酸が密になっている構造を認識するといわれるこのレクチンに反応性がより高いことがわかった。

これらの細胞を用いて、前述した4種のタイプのシアリダーゼ活性を4MU-NeuAcあるいはガングリオシドを基質として鑑別測定した。細胞膜性およびリソソーム膜性シアリダーゼ活性はほとんど検出できなかったが、4MU-NeuAcを酸性pHで水解する顆粒画分の活性が主要活性として検出された。この活性は基質特異性などの性状の解析により、リソソーム内腔性シアリダーゼと同定された。悪性転換細胞におけるこの活性について、3Y1細胞のそれと比較したところ、図2に示すように、SR-3Y1細胞で対照3Y1細胞の34%、fos-SR-3Y1細胞では10~20%と、転移能と逆相関していることが明らかとなった。そこでリソソームそのものが悪性転換によってなんらかの変化を受けている可能性の有無を調べる目的で、他種のリソソーム酵素活性を測定した(表1)。興味深いことに、4種のグリコシダーゼとカタプシンD活性には著しい変化は認められず、悪性転換細胞でみられた著しい酵素活性の低下はシアリダーゼにほぼ特異的であることがわかった。このようなシアリダーゼの変化と異なり、シアル酸転移酵素のほうには大きな変化はみられなかった。各種ガングリオシド合成酵素活性は悪性化により減少傾向を示すのに対し、糖タンパク質糖鎖をアクセプターとしたものでは、N-結合型糖鎖へのシアリル化がやや亢進していた。シアリダーゼ活性の結果と合わせると、造腫瘍性や

転移能の獲得に伴って膜タンパク質糖鎖シアル酸増加の方向へと変化することが推察された。

実際、リソソーム内腔性シアリダーゼの著しい活性低下は、膜糖タンパク質糖鎖シアル酸の蓄積をもたらすのであろうか。この実験例ではリソソーム内腔性シアリダーゼが他のグリコシダーゼと異なった挙動をとるため、単に老廃物処理のみに携わっているとは考えにくい。

リソソーム内腔性シアリダーゼが細胞表層シアル酸量を制御する可能性を示す興味深い報告がある。Landolfi<sup>28)</sup>によると、Tリンパ球の酸性シアリダーゼを欠くマウスでは、Tリンパ球の細胞表層の主要組織適合抗原(major histocompatibility complex; MHC)クラスI抗原のN-結合型糖鎖結合シアル酸量が低下しているという。したがって、悪性転換3Y1細胞のシアリダーゼもがん化や転移に関わるシアロ糖タンパク質の機能を脱シアリル化により積極的に調節している可能性がある。おそらく、エンドサイトーシスによってリソソームに到達した膜糖タンパク質は、分解の律速を担っているであろうシアリダーゼのレベルに従って、脱シアリル化を受ける程度が決定されるのかもしれない。そして、この活性レベルが低くて脱シアリル化を免れたものは、リサイクルされて表層へと戻され、再び機能分子として働くのであろう。

#### IV. シアリダーゼ遺伝子導入によるがん転移抑制

シアル酸とがん転移の関係を明らかにし、転移抑制を目的として、高転移細胞にシアリダーゼ遺伝子導入を行った(徳山ら;投稿中)。シアリダーゼの強制発現

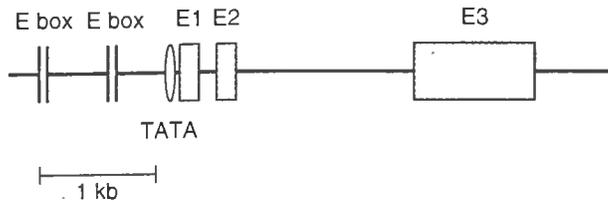


図3 ● ラット細胞質性シアリダーゼの遺伝子構造

E1~E3はエキソン, E-boxは筋特異的転写因子が結合する配列, TATAはTATAボックスを示す。

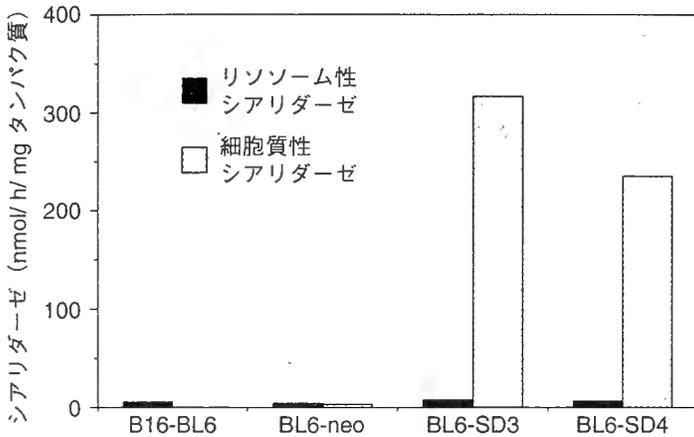


図4 ● シアリダーゼ遺伝子導入によって発現したシアリダーゼ活性

細胞質性およびリソソーム性シアリダーゼ活性を測定した。母細胞 (B16-BL6) やneo耐性遺伝子のみが導入された細胞 (BL6-neo) では、細胞質性シアリダーゼ活性は検出できないが、シアリダーゼ遺伝子導入細胞 (BL-SD3およびBL-SD4) では高活性が検出された。

によって、シアル酸量の低下を導き、転移能がどのような影響を受けるかを調べた。マウスB16メラノーマ細胞のうち高転移、高浸潤能をもつBL6細胞株を対照細胞とした。導入遺伝子は、動物シアリダーゼのうち唯一cDNAが得られている細胞質性シアリダーゼを用いた。図3はその遺伝子構造の模式図である。

この遺伝子は3つのエキソンから構成され、全長3.4kbであること、転写開始点の5'末端上流域にはMyoDやミオゲニンなどの筋特異的転写因子が結合する2対のE-box配列があること、この領域の転写活性は線維芽細胞などでは検出できないものの、筋芽細胞では高く認められることなどの性質をもつ<sup>24)</sup>。すなわち、この遺伝子のコードするタンパク質は骨格筋に高発現し、骨格筋細胞の分化に重要な役割を果たすシアリダーゼであることが最近明らかになってきた<sup>23)</sup>。

このシアリダーゼの全翻訳領域を含むcDNA (1.3kb)を、アクチンプロモーター高発現ベクターに挿入し、pSVneoとともにリポフェクション法<sup>注1)</sup>によってBL6細胞に導入した。G418耐性のシアリダーゼ発現細胞を選別し、発現するシアリダーゼ活性を検定した。4MU-NeuAcを基質としてpH6.0で細胞質画分のシアリダーゼ活性を測定すると、母細胞やneoのみが

導入された細胞 (BL6-neo) ではこのシアリダーゼ活性はまったく検出できなかったが、陽性トランスフェクタント (BL6-SD) では内因性リソソームシアリダーゼの30~50倍の活性が検出された (図4)。これら高発現株の抽出液をウエスタンブロット解析すると、骨格筋からの精製酵素に対する抗体により、精製酵素と同様の4.3kDaに1本のバンドとして確認された。

細胞の総シアル酸量は、導入細胞では対照細胞の約60~70%と減少していたが、表層シアル酸量には差異はみられなかった。これらの陽性細胞をC57BL/6マウスの尾静脈から注入し、肺におけるコロニー形成数を調べ、実験的転移率の変化を観察した (図5)。BL6-neoでは母細胞 (B16-BL6) の場合とほとんど変わらず、多数のコロニーが形成されたが、導入細胞ではコロニー数が10個以下で著しく肺転移が抑制された。この現象が免疫系の関与によって起こっている可能性を調べるため、同様の実験がヌードマウスを用いて行われたが、同様の傾向が得られたので、免疫系の影響は除外された。また、陽性トランスフェクタントをC57BL/6マウスに皮下注入することにより、自然転移能を調べた。実験的転移にみられたような著しい変化は起こらなかったが、転移抑制傾向は認められた。

A

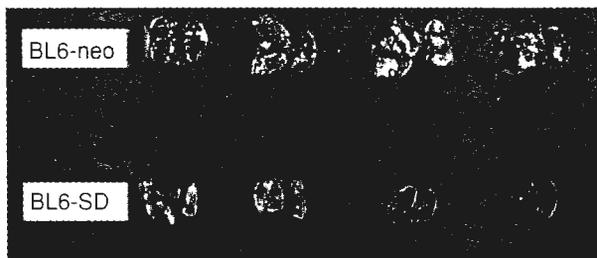


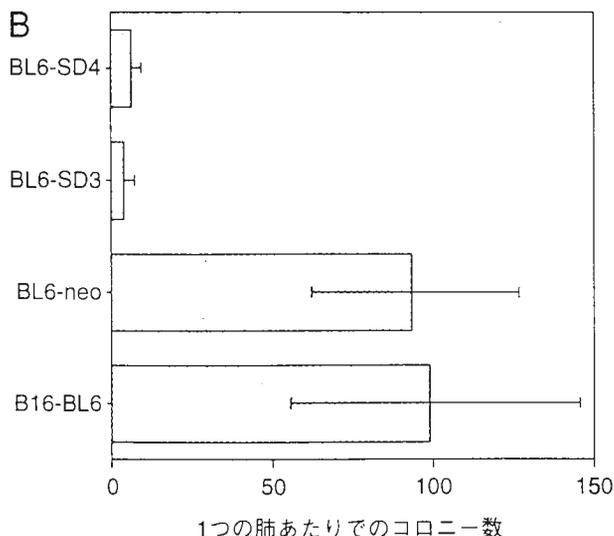
図5 ● シアリダーゼ遺伝子導入による実験的転移抑制

シアリダーゼ高発現細胞を静脈注射したマウスの肺にはほとんどコロニーが認められない。母細胞 (B16-BL6), neoのみが導入された細胞 (BL6-neo), 陽性トランスフェクタント (BL-SD3, BL-SD4)。

次に、転移抑制の要因を検索した。細胞の増殖速度や腫瘍の増大速度を調べたが、シアリダーゼの発現によって影響を受けなかった。マトリゲル (EHS 腫瘍由来の細胞外基質成分) をコートした boyden chamber を用いて浸潤能を調べたところ、浸潤能が低下する傾向を示したが必ずしも明らかな有意差は認められなかった。ラミニン、フィブロネクチン、コラーゲンIVへの接着にもシアリダーゼの発現は影響しないことがわかった。そこで、糖タンパク質や糖脂質に質的な変化が起こっているかどうか、細胞表面および細胞内シアロ複合糖質分子の検索を行った。細胞表面シアロ酸の存在様式については、シアロ酸を認識する3種のレクチンを用いたフローサイトメトリーによって分析した。 $\alpha$ 2,6シアリル結合を認識するニワトコレクチン (*Sambucus sieboldiana* agglutinin; SSA),  $\alpha$ 2,3結合認識のイヌエンジュレクチン (*Maackia amurensis* mitogen; MAM), コムギ胚芽レクチンのいずれによっても対照細胞と相違する結果は得られなかった。細胞内シアロ糖タンパク質分子については細胞抽出液のレクチンブロッキングによって調べたが、ここでも明らかな差異は観察されなかった。

さらに糖脂質成分については、薄層クロマトグラフィーによってガングリオシド分析を行った。母細胞では、シアリダーゼのよい基質となるGM3が主成分であったが、シアリダーゼ遺伝子導入細胞では対照細胞に比べ、GM3の減少、そして逆にラクトシル

B



セラミドの増加が見いだされた。このときGM3合成酵素の活性レベルはほとんど同程度であった。発現したシアリダーゼは、細胞内GM3からシアロ酸を脱離することによって、ラクトシルセラミドを増加させていたのである。それでは、GM3にはどのような働きがあるのだろうか。表層GM3には接着因子としての働きがあり<sup>29)</sup>、また、細胞内GM3は細胞骨格の中間フィラメントに結合して存在しているという証拠<sup>30)</sup>もあがっている。細胞骨格に結合するガングリオシドのレベルを調節する可能性をもつこの発現シアリダーゼは、骨格筋細胞の分化に重要な役割を果たしている分子でもあるのである。今後、GM3の発現低下が転移抑制に関与しているという直接的な証明が必要であろう。

## おわりに

がん転移に関わるシアリダーゼの研究は、今はじまったばかりである。転移に特異的に関わるシアリダーゼが存在するとは考えにくい、転移現象に密接してその発現が制御されるシアリダーゼが存在する可能性は強い。3Y1細胞の例で推察されるように、糖タンパク質糖鎖に結合するシアロ酸を質的にあるいは量的に変化させるシアリダーゼ、またB16メラノーマの例のようにガングリオシドの発現の調節を介して肺への接着を変化させているであろうシアリダーゼが、転移現象と関連して観察された。シアリダーゼに着目した解析をさらに進める必要がある。

そして、転移に際してみられるシアル酸変化の意味の  
 解明には、各シアリダーゼの機能、およびシアリダー  
 ゼ多様性の生理的意義が解明されねばならない。

注1 リポフェクチン法  
 合成ポリカチオン脂質を用いて、リボソーム核酸複  
 合体をつくり、負に荷電している細胞膜と融合さ  
 せ、細胞内に核酸を導入する。試薬としてリポフェ  
 クトアミン (GIBCO BRL 社) などの製品がある。

## ■ 文献 ■

- 1) Warren, L., Buck, C. A. & Tuszynski, G. P. : *Biochem. Biophys. Acta* 516, 97-127 (1978)
- 2) Yamashita, K., Ohkura, T., Tachibana, Y. et al. : *J. Biol. Chem.* 259, 10834-10840 (1984)
- 3) Pierce, M. & Arango, J. : *J. Biol. Chem.* 261, 10772-10777 (1986)
- 4) Bolscher, J. G. M., Van der Bijl, M. M. W., Neefjes et al. : *EMBO J.* 7, 3361-3369 (1988)
- 5) Santer, U. V., DeSantis, R., Hard, K. J. et al. : *Eur. J. Biochem.* 181, 249-260 (1989)
- 6) Collard, J. G., Schijven, J. F., Bikker, A. et al. : *Cancer Res.* 46, 3521-3527 (1986)
- 7) Dennis, J. W., Laferte, S., Waghone, C. et al. : *Science* 236, 582-585 (1987)
- 8) Schauer, R. : *Trends Biochem. Sci.* 10, 357-360 (1985)
- 9) Yogeewaran, G. & Salk, P. : *Science* 212, 1514-1516 (1981)
- 10) Fogel, M., Altevogt, P. & Schirrmacher, V. : *J. Exp. Med.* 157, 371-376 (1983)
- 11) Raz, A., McLellan, W. L., Hart, I. R. et al. : *Cancer Res.* 40, 1645-1651 (1980)
- 12) Passaniti, A. & Hart, G. W. : *J. Biol. Chem.* 263, 7591-7603 (1988)
- 13) Low, J. B., Stoolman, L. M., Nair, R. P. et al. : *Cell* 63, 475-484 (1990)
- 14) Phillips, M. L., Nudelman, E., Gaeta, F. C. A. et al. : *Science* 250, 1130-1135 (1990)
- 15) Waiz, G., Aruffo, A., Kolanus, W. et al. : *Science* 250, 1132-1135 (1990)
- 16) Takada, A., Ohmori, K., Takahashi, N. et al. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 179, 717-719 (1991)
- 17) Hoff, S. D., Matsushita, Y., Ota, D. M. et al. : *Cancer Res.* 49, 6883-6888 (1989)
- 18) Gassner, P., Riedl, S., Quentmaier, A. et al. : *Cancer Lett.* 75, 143-149 (1993)
- 19) Miyagi, T. & Tsuiki, S. : *Eur. J. Biochem.* 141, 75-81 (1984)
- 20) Miyagi, T., Sagawa, J., Konno, K. et al. : *J. Biochem.* 107, 787-793 (1990)
- 21) Miyagi, T. & Tsuiki, S. : *J. Biol. Chem.* 260, 6710-6716 (1985)
- 22) Miyagi, T., Hata, K., Hasegawa, A. et al. : *Glycoconjugate J.* 10, 45-49 (1993)
- 23) Miyagi, T., Konno, K., Emori, Y. et al. : *J. Biol. Chem.* 268, 26435-26440 (1993)
- 24) Sato, K. & Miyagi, T. : *Glycobiology* 5, 511-516 (1995)
- 25) Sato, K. & Miyagi, T. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (印刷中)
- 26) Miyagi, T., Sato, K., Hata, K. et al. : *FEBS Lett.* 349, 255-259 (1994)
- 27) Taniguchi, S., Kawano, T., Mitsudori, T. et al. : *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)* 77, 1193-1197 (1986)
- 28) Landolfi, N. F., Leone, J., Womach, J. E. et al. : *Immunogenetics* 22, 159-167 (1985)
- 29) Kojima, N. & Hakomori, S. : *J. Biol. Chem.* 266, 17552-17558 (1991)
- 30) Gillard, B. K., Thurmon, L. T. & Marcus, D. M. : *Cell Motil. Cytoskel.* 21, 255-271 (1992)

## For Beginners

- ・「糖鎖と細胞接着とがん転移」 入村達郎 : 「糖鎖. II 糖鎖と病態」, pp. 12-27, 東京化学同人 (1994)
- ・「動物シアリダーゼ — その性状と遺伝子クローニング —」 宮城妙子 : 細胞工学 12, 733-739 (1993)
- ・“Sialic acids and their role as biological masks” Schauer, R. : *Trends Biochem. Sci.* 10, 357-690 (1985)

## 2-1-6 シアリダーゼ遺伝子

シアリダーゼ (EC3.2.1.18) は、糖タンパク質、糖脂質、オリゴ糖など複合糖質糖鎖の非還元末端からシアル酸 (ノイラミン酸のアシル誘導体の総称) を遊離させる *exo* 型  $\alpha$ -グリコシダーゼで、以下の反応を触媒する。



“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、生物界に広く見出される。ウイルスや細菌など微生物由来のシアリダーゼについては高度に精製され、早くから構造研究が進んでおり、そのいくつかはX線結晶構造解析によって高次構造やシアル酸との結合様式も明らかになっている。一方、動物シアリダーゼについては、極端な不安定性や低活性が災いして分離・精製が容易ではなく、分子レベルの研究が遅れている。現在、分離・精製によって、動物シアリダーゼには微生物シアリダーゼとは性質の異なる少なくとも4種のシアリダーゼが存在することがわかってきた。これらは、それぞれリソソーム内腔、リソソーム膜、形質膜、細胞質に局在し、基質特異性などの酵素学的な性状が互いに異なるだけでなく、免疫学的にも区別される。このうち、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ているにすぎない。本稿では、主に動物シアリダーゼを対象とした実験について記述する。

### C1. 活性測定法

多くの活性測定法があるが、どの方法にもそれなりの長所と短所がある。酵素の純度や活性の程度、測定目的などを踏まえたうえで、最適の方法を選択すべきである。以下に主な方法を挙げ、そのなかでもよく使用されている2方法について詳述する。

#### 1) 遊離するシアル酸を定量する方法

過ヨウ素酸チオバルビツール酸法<sup>1),2)</sup>、遊離シアル酸の高速液体クロマトグラフィーによる同定 (DMB化による蛍光検出など)。

#### 2) アイソトープ標識基質を用い、反応産物を分離する方法

ガングリオシドのセラミド部分標識<sup>3)</sup> など。

#### 3) 合成基質を用いる方法

4-メチルウンベリフェリルシアル酸 (半井化学, #4MU-NeuAc) など。

#### 4) その他

反応生成物の検出にモノクローナル抗体やレクチンを用いる方法。

## 準備

### 試薬

- 緩衝液  
酢酸ナトリウム緩衝液など (pH 4.5 あるいは pH 5.5)
- 基質\*<sup>1</sup>  
オリゴ糖 (シアリルラクトースなど)  
シアロ糖タンパク質 (フェトイン, オロソムコイド, 顎下腺ムチンなど)  
ガングリオシド  
4MU-NeuAc (2~4 mM)
- 界面活性剤  
TritonX-100, コール酸, デオキシコール酸など
- 遊離シアル酸定量試薬 (過ヨウ素酸チオバルビツール酸法の場合)  
メタ過ヨウ素酸ナトリウムを 9M リン酸に溶かし, 0.2M とする (metaperiodate sol.).  
亜ヒ酸ナトリウムを, 0.1N 硫酸を含む 0.5M 硫酸ナトリウム溶液に 10% に溶かす (arsenite sol.).  
2-チオバルビツール酸を 0.5M 硫酸ナトリウムに 0.6% に溶かす (TBA reagent).  
シクロヘキサノン
- AG1-X2 (酢酸型) ミニカラム (Bio-Rad)
- 0.25 M グリシン-NaOH (pH 10.4)

### 器具・装置

- 有機溶媒耐性の試験管 (ガラス製などで, 130×10mm 位のサイズ, 低速遠心可能のもの.)
- 低速遠心機
- 分光光度計
- 蛍光分光光度計
- 恒温振盪槽\*<sup>2</sup>

## 方法

### ◆ 1. Assay with ganglioside substrates

- 1) Place the reaction mixture in a 130×10 mm test tube.

the reaction mixture :

sodium acetate buffer (pH 4.5)	20 $\mu\text{mol}$ * <sup>3</sup>
gangliosides (releasable sialic acid site)	50 nmol
Triton X-100 or sodium cholate	0.2 mg* <sup>4</sup>
bovine serum albumin	0.2 mg* <sup>5</sup>
enzyme (~1 mg protein)	
	0.2 ml in total

↓

- 2) Incubate for 1~2 hr at 37°C.
- ↓
- 3) Terminate the reaction by adding 0.1 ml metaperiodate solution \*6.
- ↓
- 4) Stand for 20 min at RT.
- ↓
- 5) Add 1ml arsenite solution and vortex the tube until a yellow-brown colour disappears.
- ↓
- 6) Add 3 ml TBA solution and vortex.
- ↓
- 7) Heat in a boiling water bath for 15 min.
- ↓
- 8) Place in cold water for 5 min.
- ↓
- 9) Add 4 ml cyclohexanone and vortex.
- ↓
- 10) Centrifuge at 3,000 rpm for 10 min.
- ↓
- 11) Measure the upper phase at 549 nm \*7.

## ❖ 2. Assay with 4MU-NeuAc

- 1) Place the reaction mixture in a test tube.

the reaction mixture :

sodium acetate buffer (pH 4.5)	20 μmol
4MU-NeuAc	40 nmol
bovine serum albumin	0.2 mg
enzyme (~1 mg protein)	

---

0.2 ml in total

- ↓
- 2) Incubate at 37 °C.
- ↓
- 3) Terminate the reaction by addition of 2.5 ml 0.25 M glycine-NaOH (pH 10.4) .
- ↓
- 4) Measure fluorometrically 4-methylumbelliferylone (4-MU) released.  
(emission 448 nm, excitation 365 nm) \*8

### ⚠ 注意事項

- \*1 天然基質については、あらかじめ酸処理 (0.1N硫酸, 80°C, 1時間) または市販の細菌やウイルスシアリダーゼによって遊離しうるシアル酸量を定量しておく。
- \*2 膜画分を酵素源として使用する場合には、反応中、振盪した方がよい。

- \* 3 シアリダーゼのタイプによって至適pHが異なる。リソソーム性および膜性シアリダーゼについてはpH4.5で、細胞質性シアリダーゼについてはpH5.5~6.0で測定する。
- \* 4 ガングリオシドを基質とするときには、最大活性を得るのに界面活性剤の添加が必要である。
- \* 5 酵素の安定化に加熱処理したウシ血清アルブミンが添加されるが、酵素源が粗抽出液であるときには添加効果はない。
- \* 6 粗酵素標品が用いられた時には、TBA試薬による呈色反応がシアル酸以外の物質(デオキシ糖類、シヨ糖など)によって干渉されるので、TBA反応の前にAG1-X2カラム処理が必要である。反応液に0.05M硫酸0.8 mlを加えた後、遊離のシアル酸をAG1-X2カラム(酢酸型、0.5×3cm)に吸着させ、6mlの蒸留水で洗い、0.1~0.2M酢酸緩衝液(pH4.6) 2mlで溶出する。この溶出液をTBA反応に供するが、この場合は過ヨウ素酸試薬の添加量が0.1 mlの代わりに0.4 mlとなる。
- \* 7 呈色反応に対するシアル酸以外の物質の干渉を補正するため、532 nmにおける吸光度をも測定し、次式でシアル酸量を算出することがある。

$$\mu \text{ Moles NeuAc} = 0.084 \times \text{O.D.}_{549} - 0.031 \times \text{O.D.}_{532}$$

- \* 8 4MUについての標準曲線を作成しておく。

## コメント

シアリダーゼ活性は非常に不安定であるので、酵素標品の調製はすべて4℃で行い、長期間の保存は一般的には-20℃で行う。特にリソソームタイプは、4℃でも数時間で活性が半減することがある。過ヨウ素酸チオバルビツール酸法の原法を紹介したが、Aminoffによる改良法も使用される。原法の2倍程度感度が高い。

## 2. 遺伝子クローニングの特徴

ウイルスや細菌など微生物由来のシアリダーゼについては、精製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、構造解析がかなり進んでいる。一次構造について比較すると、同種間でも必ずしも一次構造全体の相同性はそれほど高くなく、細菌シアリダーゼ間のそれは高々35%程度である。ウイルス-細菌間においても一次構造全体に対する有意の相同性は認められない。しかしながら、詳細な比較検索により、いくつかの短い共通配列が見出され、その代表的なものとしてAsp-box (Ser-X-Asp-X-Gly-X-Thr-Try)の存在が明らかになった。この配列は細菌シアリダーゼに4~5個、インフルエンザA型ウイルスに不完全な形で1個見出される。特に2番目と3番目のAsp-box間の距離は、60~70アミノ酸残基で保存されていることが多い。動物シアリダーゼのうち、一次構造が明らかになっている細胞質性シアリダーゼについて微生物シアリダーゼと比較すると、一次構造全体の有意の相同性はないが、2個のAsp-boxが存在することがわかった。

以上の状況によって、動物シアリダーゼのcDNAクローニングに一次構造の相同性を利用することはできない。Asp-box配列をプライマーとしたPCR法もその共通アミノ酸の不連続性によって、良い手段とはなりえない。したがって、細胞質性シアリダーゼの例のように、高い活性を含む組織から精製酵素標品を得て<sup>4)</sup>、そのペプチドシーケンスをもとにプライマーを作成し、PCRによって得られた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<sup>5)</sup>が最も確実であろう。しかし、低活性で不安定なシアリダーゼの精製は容易ではなく、細胞質性シアリダーゼ以外の動物シアリダーゼのクローニングもまだ成功例がない。発現クローニングも利用できる可能性があるが、活性や反応産物の特異性の高い鋭敏な同定法の開発が課題である。

### ◎3. シアリダーゼ遺伝子導入実験例

シアル酸変化が、がん転移と密接に関わっていることが知られている。そこで、高転移能を有するがん細胞にシアリダーゼ遺伝子を導入し、シアリダーゼを高発現することによって、細胞シアル酸量を変化させ、転移能に対する影響を調べた。その結果、高活性を獲得した細胞では明らかな転移抑制が認められた。リポフェクション法によって安定形質導入株を得た例を紹介する。

#### 準備

##### 試薬

- ・シアリダーゼcDNA (全翻訳領域 1.3 kb を含む)
- ・発現ベクター pCY4B (chicken  $\beta$  actin promotor を含む)
- ・pCV107 (Neomycin 耐性遺伝子発現プラスミド)
- ・lypofectamin (GIBCO BRL)
- ・G418 sulfate (Geneticin, GIBCO BRL)
- ・細胞および培地
  - B16-BL6 cells (高転移性マウスメラノーマ細胞)
  - DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) -10% FBS
  - Opti-MEM I (GIBCO BRL)
- ・シアリダーゼ活性測定用試薬

##### 器具・装置

- ・超音波破碎器
- ・細胞培養用器具
- ・CO<sub>2</sub>インキュベーター
- ・クリーンベンチ

#### 方法

- 1) Construct the sialidase expression plasmid (pCY4B-SD) by inserting 1.3 kb cDNA fragment encoding the entire open reading frame into *Eco* RI site of the vector.  
↓
- 2) Cotransfect the expression plasmid with pCV107 into B16-BL6 cells by lipofectamine \* 1.  
↓
- 3) Select G418 resistant clones.  
↓

- 4) Confirm the sialidase expression by Western blot and sialidase activity assay.
- ↓
- 5) Inject the positive transfectants intravenously into C57BL mice.
- ↓
- 6) Observe pulmonary metastasis.

### 注意事項

\*1 トランスフェクションの条件については lipofectamin の使用説明書に詳述されている。以下にシアリダーゼの実験例を記す。

- 1) Plate  $1 \times 10^5$  cells / 35 mm dish in 2 ml DMEM-10% FBS.
- ↓
- 2) Incubate the cells at 37°C until the cells are 30~50% confluent.
- ↓
- 3) Wash the cells with Opti MEM I twice.
- ↓
- 4) Overlay the DNA and lipofectamine mixture (1ml) .  
 pCY4B 3  $\mu$ g + pCV107 0.3  $\mu$ g + lipofectamine 10  $\mu$ l in Opti MEM I or  
 pCY4B-SD 3  $\mu$ g + pCV107 0.3  $\mu$ g + lipofectamine 10  $\mu$ l in Opti MEM I
- ↓
- 5) Add 1 ml DMEM-20% FBS after 8 hr-incubation at 37°C.
- ↓
- 6) Incubate further for 48 hr.
- ↓
- 7) Subculture the cells at 1 : 5 ratios into selection medium containing G418 (600  $\mu$ g/ml) .

### コメント

シアリダーゼ遺伝子導入はB16-BL6細胞の細胞増殖には影響を及ぼさなかったが、悪性転換3Y1ラット繊維芽細胞では増殖抑制を示した。対象となるベクターや細胞の種類によって、シアリダーゼ発現量や細胞に対する影響が異なるのは当然である。

### ◆文献

- 1) Warren L : Thiobarbituric acid assay of sialic acids. in Methods in Enzymology, ed. Colowick SP, Kaplan NO, Vol.6, p.463, Academic Press, New York (1963)
- 2) Aminoff D : Methods for the quantitative estimation of *N*-acetylneuraminic acid and their application to hydrolysates of sialomucoids. Biochem. J. 81, 384-391 (1961)
- 3) Scheel G, Acevedo E, Conzelmann E et al. : Model for the interaction of membrane-bound substrates and enzymes. Hydrolysis of Ganglioside GD1a by sialidase of neuronal membranes isolated from calf brain. Eur. J. Biochem. 127, 245-253 (1982)
- 4) Miyagi T, Tsuiki S : Purification and characterization of cytosolic sialidase from rat liver. J. Biol. Chem. 260, 6710-6716 (1985)
- 5) Miyagi T, Konno K, Emori Y et al. : Molecular cloning and expression of cDNA encoding rat skeletal muscle cytosolic sialidase. J. Biol. Chem. 268, 26435-26440 (1993)

宮城県立がんセンター研究所 生化学部 宮城妙子

# シアル酸とがん転移

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

細胞ががん化すると、ほとんど例外なく表層膜糖鎖の異常が起こる。そのなかでも、とくに表層膜シアル酸が鋭敏に変化すること、このシアル酸変化はがん転移と密

接に関わっていることが早くから指摘されてきた。しかしながら、これまでの解析には、主に構造解析的手法が用いられてきており、シアル酸変化の実体はいまだわかっていない。われわれは、がん転移におけるシアル酸変化の分子機構と意義を明らかにし、その結果を転移抑制に応用する目的で、転移に密接するシアル酸変化を代謝的な観点から解析している。はじめにシアル酸の生理的役割について、つぎにシアル酸のがん化との関連について簡単に解説し、最後にわれわれの最近の研究結果を紹介する。

## 1. シアル酸の生理的役割

シアル酸は、炭素原子9個を含むアミノ糖であるノイラミン酸のアシル誘導体の総称で、図1に示すように、5番目の炭素がN-アセチル化されたN-アセチルノイラミン酸 (NeuAc) が自然界で最も代表的である。1936年にスウェーデンのブリックスがウシ顎下線ムチンに見い出して以来、動物界に広く分布することが知られてきた。シアル酸は生体内ではそれ自身が遊離の形で存在することはほとんどなく、糖蛋白や糖脂質、オリゴ糖などの非還元末端に局在し、この形で血液や外分泌液中に、また細胞表層に多く見いだされる。細胞表層にあるシアル酸は、細胞膜の最外側を占める糖鎖の末端に位置するので、外界からのシグナルに最初に接する場とも考えられ、環境の変化に鋭敏に対応できる。

一般に糖鎖の分解は、シアリダーゼによるシアル酸の除去によって開始し、糖鎖の合成はシアル酸転移酵素によるシアル酸の付加によって終了する。シアル酸変化は従って、主にシアリダーゼとシアル酸転移酵素の活性変化を基盤とした両酵素の動的均衡によって制御されている (図2)。シアル酸は分子のコンホメーションに影響を与え、たとえばその陰性荷電によって気道、口腔、消化管などの粘膜の粘度形成に寄与することが知られている。また、とくに重要と思われるのは“recognition”と“masking”機構であって、シ

アル酸が認識部位であったり、あるいはシアル酸が他の認識部位を隠蔽することによってシアル酸をもつ糖質分子の生理機能を制御している可能性である。たとえば、細菌やウイルスなどによる感染過程には、宿主細胞の表層シアル酸がこれら病原体によって認識される必要があり、循環血中の細胞や血清糖蛋白質の寿命がシアル酸の除去によって著しく短縮される現象は、シアル酸によって隠蔽されていたガラクトースなどの残基が露出し肝細胞にトラップされるためである。異物や病原体を生体細胞から区別し破壊する免疫監視機構の一つである補体系の活性化機構や、リンパ球のhomingにシアル酸残基が関与することも知られている。また、細胞接着に与える各種因子のほとんどがシアロ糖蛋白 (シアル酸をもつ糖蛋白) やガングリオシド (シアル酸を含む糖脂質) であることも注目すべきことで、とくに神経細胞接着因子であるN-CAMは $\alpha 2 \rightarrow 8$ シアリルポリマーを含み、フィブロネクチン受容体はシアル酸残基が減少すると、細胞接着性が低下する。

## 2. がんシアル酸

シアル酸はまた、細胞の分化や増殖・がん化に伴って変化する。分化に際して種々の糖蛋白結合シアル酸が減少する傾向が見い出される一方、がん関連抗原にシアル酸含有物が多い (図3a)。とくに膜表層シアル酸が細胞の増殖やがん化に伴って、鋭敏に変化することは、これまで糖蛋白糖鎖の分析によって明らかになってきた。米国のWarrenらは悪性転換細胞を標識し、緩和なトリプシン処理後に遊離した糖ペプチドを調べると、対照細胞に比べて分子量のより大きいところに溶出され、これがシアリダーゼ処理により消失する現象を見出し、悪性化細胞にはシアル酸がより多く結合するものと考えた。このシアル酸増加は癌転移や浸潤に関連する現象とされ、細胞表層シアル酸量やシアル酸量が転移能と相関するという報告も多い。しかし、シアル酸の量的な変化ではなく、ある種のシアロ糖蛋白が癌転移と関係があるとする報告もある。その後、木幡のグループやカナダのDennisらの精力的な研究の結果、がん細胞の糖蛋白には図3bに示すような糖鎖が増加し、それは高転移細胞の特徴でもあることがわかってきた。即ち、アスパラギン糖鎖の側鎖分岐が増加すること、ポリラクトサミン構造が増加

すること、その非還元末端にはシアル酸の付加が必要であることなどが現在ではほぼ普遍的な現象として認められている。

がん化に伴うガングリオシドの変化もとくに箱守のグループによって広範に調べられている。一般的には、より短い糖鎖をもつガングリオシド (GM2やGM3)が増加し、比較的長い糖鎖のガングリオシドが減少するという糖鎖不全現象と、それに伴う前駆体糖脂質の蓄積があり、それに加えて、正常対照細胞にはみられない新しい糖脂質の出現がある。しかし、細胞種が違えば糖脂質組成が異なるので、実際の様相はきわめて複雑となる。

シアル酸の変化が質的であるにせよ、量的であるにせよ癌転移に関わっているとすれば、転移のどのような過程に関わっているのであろうか。癌の転移の過程には、癌細胞の原発巣からの離脱、脈管系への侵入、転移臓器の血管内皮細胞への接着と脈管からの離脱、転移臓器での生着と癌細胞の増殖という多くの過程が考えられている。E-セレクトインのリガンドであるシアリル Le<sup>x</sup> やシアリル Le<sup>a</sup> は癌の血行性転移において、癌細胞の血管内皮細胞への接着のステップに重要な役割を果たしていると言われている。これらのリガンドからシアル酸を除くと、接着性が失われることから、シアル酸がこの接着に不可欠であることがわかっている。シアリル Le<sup>x</sup> はヒト大腸癌の進行、転移に伴って高発現することも明らかになった (図4)。これらの例を除くと、転移に関与すると考えられているシアロ複合糖質の機能に関してはほとんどわかっていないのが実状である。

一方、シアル酸変化をもたらすひとつの酵素であるシアル酸転移酵素活性が癌転移と密着して変化するという報告がある。即ち、Gal $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcNAc $\alpha$ 2 $\rightarrow$ 6シアル酸転移酵素活性が大腸癌の悪性化と転移の進行に伴い上昇し、担癌患者血清の同酵素も転移と共に上昇するという。ところが、シアル酸の脱離を担っているシアリダーゼについての研究はこれまでほとんど行われていない。動物シアリダーゼの真の種類や性状がそれほどわかっていなかったことに困るのであろう。以下に、近年われわれが明らかにしてきた動物シアリダーゼの種類や性状について簡単に触れ、そのがん転移との関わりについて考えてみたい。

### 3. シアリダーゼとがん転移

#### (1) 動物シアリダーゼの種類と性状

動物起源の糖分解酵素では、とりわけシアリダーゼの研究が遅れている。それは活性が低く、不安定であっ

て、分離・精製が困難であるためであった。長い間シアリダーゼは、異化分解に関わる単なるリソゾーム酵素のひとつと考えられがちであった。われわれは主にラット組織を酵素源として酵素の分離・精製を進め、細菌やウイルス、原虫などのシアリダーゼとは性質の異なる4種のシアリダーゼが存在することを見いだしてきた (表1)。これらは、細胞内ではそれぞれリソゾーム内腔、リソゾーム膜、形質膜、細胞質に局在し、基質特性などの酵素学的な性状が異なるだけでなく、互いに免疫学的にも区別される。

主要な活性であるリソゾーム内腔性シアリダーゼは、オリゴ糖や糖ペプチド、合成基質である4-メチルウンベリフェリルシアル酸 (4MU-NeuAc) などの低分子基質には働くが、糖蛋白やガングリオシドには働かない酵素である。シアル酸をもつ糖質分子のすべてを基質とするのではない点が微生物シアリダーゼとは非常に異なる点である。リソゾーム膜性および形質膜性シアリダーゼはガングリオシドを優先的に水解する酵素であり、リソゾーム内腔性酵素と同様、至適pHは酸性にある。一方、細胞質に局在するシアリダーゼは中性pH付近で働き、オリゴ糖、ガングリオシド、糖蛋白を基質とする。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。NeuAc (2mM) や2-デオキシ-2,3-デヒドロ-N-アセチルノイラミン酸 (NeuAc2en, 0.1mM) 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<sup>2+</sup> (1mM) などの重金属イオンや4-ヒドロキシマーキュリア安息香酸 (10mM) は細胞質性および形質膜性シアリダーゼを阻害することはない。

これらのシアリダーゼのうち、細胞質性シアリダーゼについてはラット骨格筋から均一精製品を得ることができ、動物シアリダーゼでは世界で初めてcDNAのクローン化に成功し、一次構造を決定した。ゲノム構造の解析も行い、機能についてもcDNAをプローブとして明らかにしつつある。この酵素の発現をアンチセンスオリゴマーで阻害すると骨格筋細胞の筋管形成が阻害され、骨格筋細胞の分化や発達に関与していることがわかった。他の3者については構造も、明確な機能も不明のままである。リソゾーム性シアリダーゼについては、リソゾームにおいて老廃物処理酵素としての役割が容易に推察されるが、それだけの単純なものでないらしいことは次項で述べることにする。また形質膜性シアリダーゼはガングリオシド以外のシア

ロ複合糖質にはほとんど働かないことから、細胞外からのシグナルを受ける形質膜にあって、ガングリオシドを介した情報伝達などの機構に関わっている可能性が考えられる。

以上のシアリダーゼのうち、現在、癌転移に関わっている間接的証拠が得られているのは、リソゾーム内腔性シアリダーゼと細胞質性シアリダーゼの2つである。

## (2) 高転移細胞のシアリダーゼ

ラット3Y1繊維芽細胞にラウス肉腫ウイルスを感染させ、造腫瘍性を獲得させたSR-3Y1細胞を受容細胞として、*v-fos* 癌遺伝子を導入すると、このfos-SR-3Y1細胞は肺への自然転移能が上昇する。転移能の増強の要因を調べると、浸潤能が増強していることがわかった。転移能の異なるこれらの細胞を用いて、シアル酸量、およびその変化をもたらすシアリダーゼとシアル酸転移酵素活性レベルを比較した。総シアル酸量、表層シアル酸量を比べると、造腫瘍性がない3Y1細胞では、mg蛋白当たりそれぞれ13.41、3.42 $\mu$ gであったが、悪性転換細胞では総シアル酸量が24~26、表層シアル酸量が5~6 $\mu$ gと3Y1細胞の約2倍に増加していた。しかし転移能による相違は見られていない。このシアル酸の差は小麦胚芽凝集素(WGA)レクチンを用いたフローサイトメトリーの結果によっても裏づけられた。悪性転換細胞では、シアル酸が密になっている構造を認識するといわれるこのレクチンに反応性がより高いことがわかった。

これらの細胞を用いて、前述した4種のタイプのシアリダーゼ活性を4MU-NeuAcあるいはガングリオシドを基質として鑑別測定した。膜局在のガングリオシドを基質とするシアリダーゼ活性や細胞質に局在するシアリダーゼ活性はほとんど検出できなかったが、4MU-NeuAcを酸性pHで水解する顆粒画分の活性が主要活性として検出された。この活性は基質特異性などの性状の分析により、リソゾーム内腔性シアリダーゼと同定された。悪性転換細胞におけるこの活性について、3Y1細胞のそれと比較したところ、図5に示すように、SR-3Y1細胞で対照3Y1細胞の約30%、fos-SR-3Y1細胞では10~15%と転移能と逆相関していることが明らかになった。そこでリソゾームそのものが悪性転換によって何らかの変化を受けている可能性を調べる目的で、他種のリソゾーム酵素活性を測定したが、シアリダーゼに見られるような著しい変化は認められず、この変化はシアリダーゼにほぼ特異的であることが推察された。シアリダーゼの

場合と異なり、シアル酸転移酵素の方には大きな変化はみられなかった。リソゾーム内腔性シアリダーゼの著しい活性低下は、膜蛋白糖鎖シアル酸の蓄積をもたらすのであろうか。この実験例ではシアリダーゼが他の糖分解酵素と異なった挙動をとるため、単に老廃物処理機能のみを有しているとは考えにくい。おそらく、エンドサイトーシスによって、リソゾームに到達した膜糖蛋白は分解の律速を担っているであろうシアリダーゼのレベルに従って脱シアリル化を受ける程度が決定されているのかもしれない。そしてこの活性レベルが低くて脱シアリル化を免れたものはリサイクルされて表層へと戻され、再び機能分子として働くのであろう。

## (3) シアリダーゼ遺伝子導入による癌転移抑制

シアル酸と癌転移の関係を明らかにし、転移抑制を目的として、高転移細胞にシアリダーゼ遺伝子導入を行った。シアリダーゼの強制発現によって、シアル酸量の低下を導き、転移能がどのような影響を受けるかを調べた。マウスB16メラノーマで高転移、高浸潤能を持つBL6細胞を対象細胞とした。導入遺伝子は、動物シアリダーゼのうち唯一cDNAが得られている細胞質性シアリダーゼを用いた。このシアリダーゼの遺伝子(全翻訳領域を含むcDNA)を高発現ベクターに挿入し、BL6細胞に導入した。シアリダーゼ発現細胞を選別し、そのシアリダーゼ活性を検定した。4MU-シアル酸を基質としてpH6.0で細胞質画分のシアリダーゼ活性を測定すると、母細胞やベクターのみが導入されている偽陽性細胞株ではこのシアリダーゼ活性は全く検出できなかったが、陽性株では内因性リソゾームシアリダーゼの30-50倍の活性が検出された。細胞の総シアル酸量は、導入細胞では対照細胞の約60~70%と減少していたが、表層シアル酸量には差異はみられなかった。これらの細胞をC57BL/6マウスの尾静脈から注入し、肺におけるコロニー形成数を調べ、実験的転移能を観察した。偽陽性細胞では母細胞BL6の場合とほとんど変わらず、多数のコロニーが形成されたが、陽性細胞ではコロニー数が10個以下で著しく肺転移が抑制された(図6)。この現象が免疫系の関与によって起こっている可能性を調べるため、同様の実験をヌードマウスを用いて行ったが、やはり転移抑制が認められたので、免疫系の影響は除外された。また、陽性細胞をC57BL/6に皮下注入することにより、自然転移能を調べると、実験的転移にみられたような著しい抑制は起こらなかったが、転移抑制傾向は認められた。

つぎに、転移抑制の要因を検索した。細胞の増殖速度や腫瘍の増大速度はシアリダーゼの発現によって影響を受けなかった。また、マトリゲルをコートした Boyden chamber を用いて浸潤能を調べたところ、浸潤能が低下する傾向を示した。ラミニン、フィブロネクチン、コラーゲンIVへの接着にもシアリダーゼの発現は影響しないことがわかった。そこで、糖蛋白や糖脂質に質的な変化が起こっているかどうか、細胞表面および細胞内シアロ糖質分子の検索を行った。細胞表面シアロ糖の存在様式については、シアロ糖を認識する3種のレクチンを用いたフローサイトメトリーによって分析した。 $\alpha 2 \rightarrow 6$  シアリル結合を認識するニワトコレクチン (SSA)、 $\alpha 2 \rightarrow 3$  シアリル結合認識のイヌエンジュレクチン (MAM)、小麦胚芽レクチン (WGA) のいずれによっても対照細胞と相違する結果は得られなかった。細胞内シアロ糖蛋白分子について、細胞抽出液のレクチンブロッティングを行った。ここでも明らかな差異は観察されなかった。つぎに糖脂質成分について、薄層クロマトグラフィによってガングリオシド分析を行った。その結果、シアリダーゼ導入細胞では対照細胞に比べガングリオシド GM 3 の減少、そして逆に、GM 3 からシアロ糖が脱離されて生ずるラクトシルセラミドの増加が見いだされた。このとき GM 3 合成酵素の活性レベルには変化はみられなかった。GM 3 には接着因子としての働きがあり、また、細胞内で細胞骨格の中間フィラメントに結合して存在しているという報告もある。前述したように、このシアリダーゼは骨格筋細胞の分化に重要な役割を

果たしているという事実が明らかになっているので、この発現シアリダーゼはガングリオシドからシアロ糖を除去することによって細胞骨格の機能を調節し、転移抑制をもたらしている可能性がある。今後、GM 3 が転移抑制に関与しているという直接的な証明が必要である。

#### おわりに

以上の結果によって、転移現象に密接して発現が変化するシアリダーゼ分子が存在することが明らかになった。シアロ糖量そのものの解析よりは、シアリダーゼの解析を通じていっそう明確なシアロ糖変化が把握できそうである。つぎの段階として、ヒトのがん転移例でのシアリダーゼの検索が必要とされるが、そのためにはヒトシアリダーゼ遺伝子のクローニングと構造解明が先決であろう。また、シアリダーゼがヒトや動物ではなぜ多様であるのか、それぞれのシアリダーゼ分子はどんな機能を有しているのか、表面シアロ糖の質的および量的変化を促すのは主にどのシアリダーゼ分子種であるのかなど多くの問題が山積している。そして、シアロ糖の調節を担っているこのシアリダーゼについて、遺伝子発現のレベルで、あるいは活性発現のレベルで、人工的にシアリダーゼ発現を制御することによって、がん転移を抑制できる可能性は少なくないと信じている。

最後に、以上の研究は主に宮城県立がんセンター研究所生化学部門における共同研究であることをつけ加えさせていただきます、共同研究者に感謝したい。

表 1. 動物シアリダーゼの種類と性状

	形質膜 シアリダーゼ	リソソーム膜 シアリダーゼ	リソソーム内腔 シアリダーゼ	細胞質 シアリダーゼ
至適 pH	5.0	4.8	4.7	6.5
基 質	ガングリオシド	ガングリオシド シアリルラクトース 4 MU-シアロ糖 オロソムコイド 顎下腺ムチン	シアリルラクトース 4 MU-シアロ糖 糖ペプチド	シアリルラクトース 4 MU-シアロ糖 オロソムコイド フェツイン ガングリオシド (G <sub>M1</sub> , G <sub>M2</sub> を除く)
阻 害				
Cu <sup>2+</sup> (1 mM)	+	-	-	+
NeuAc2en (0.1 mM)	-	-	±	+
免疫沈降試験				
抗形質膜酵素抗体	+	-	-	-
抗リソソーム膜 酵素抗体	-	+	-	-
抗細胞質酵素抗体	-	-	-	+
癌性変化	上昇	低下	上昇	低下

(宮城著、シアリダーゼ遺伝子「グリコジーンとその世界」より)

図1. シアル酸 (N-アセチルノイラミン酸)

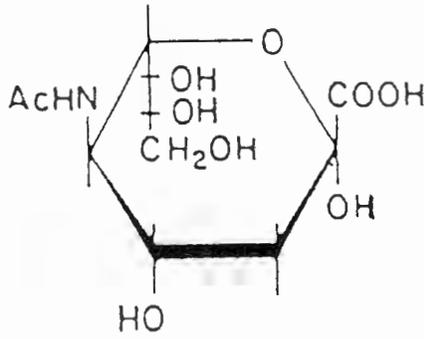


図2. 糖鎖のシアリル化と脱シアリル化

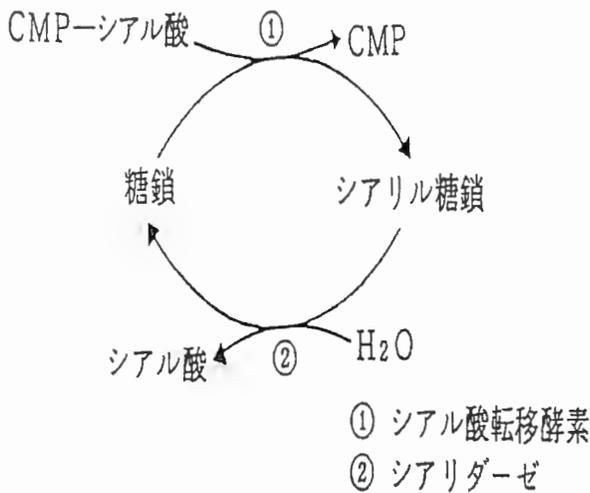


図3. シアル酸を持つがん関連糖鎖抗原 (a) とがん細胞に増加する多分岐糖鎖 (b)

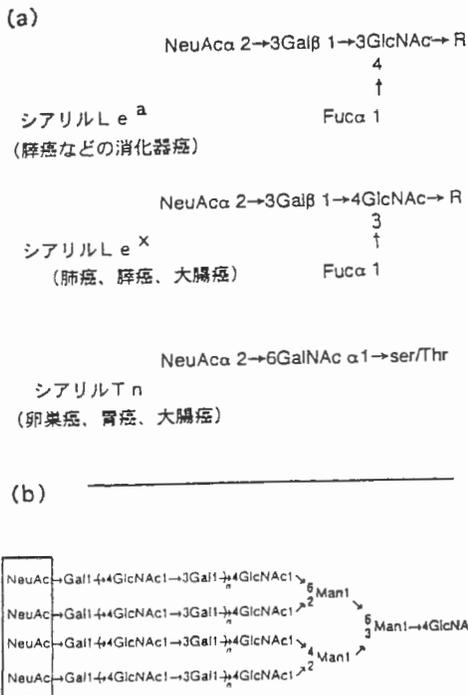
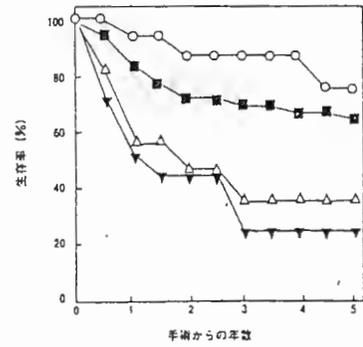


図4. シアリルLe<sup>a</sup>発現とヒト大腸がん患者の手術後生存率の比較 (入村著「糖鎖と病態」より改変)



○はがん細胞の0-5%, ■は5-30%, △は30-60%, ▼は60%以上がシアリルLe<sup>a</sup>を発現していることを示す

図5. 3Y1細胞とその悪性転換細胞におけるシアリダーゼ活性

転移能が高い細胞ほどシアリダーゼ活性が低い

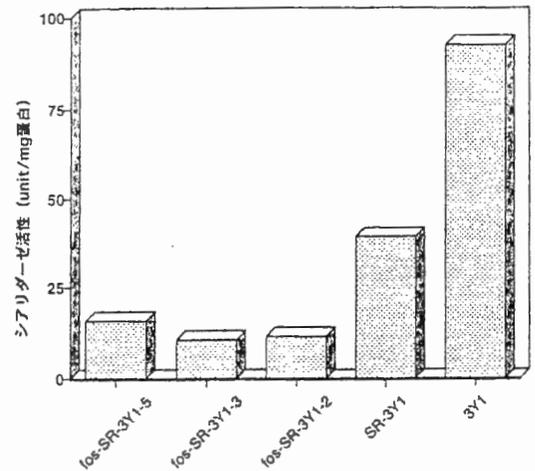
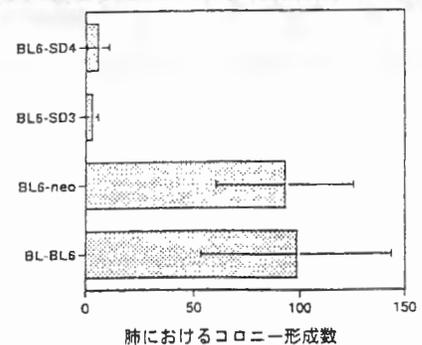


図6. シアリダーゼ遺伝子導入による転移抑制  
シアリダーゼ高発現細胞 (BL-SD)を静注したマウスの肺には、母細胞 (B16-BL6)やベクターのみ導入した細胞 (BL-Neo)の場合に比べ、ほとんどコロニー形成が認められない。



# シアリダーゼ発現によるシアル酸糖鎖の改変

宮城 妙子

宮城県立がんセンター研究所生化学部門

●シアル酸量は細胞の分化や増殖・癌化にさいして変化する。この調節に関与するシアリダーゼを遺伝子導入し細胞シアル酸を改変したところ、増殖や癌転移の抑制が起こった。

\*

キーワード：シアリダーゼ、癌転移、シアル酸

シアリダーゼは、生体内において糖蛋白や糖脂質糖鎖の非還元末端からシアル酸残基を除去する糖分解酵素である。シアリダーゼはこれら生体分子の異化分解の初発反応をつかさどるだけでなく、分子のコンフォメーションやレセプターによる認識機構、細胞接着や免疫機構などに影響を与えて多くの重要な細胞機能に関与することが推察されている<sup>1,2)</sup>。しかし、生体内でシアル酸がどのように脱離されるのかについてはほとんどわかっていない。それは動物シアリダーゼの分子レベルの研究が遅れており、その構造や発現機構に不明の点が多いためである。

本稿ではシアリダーゼの遺伝子導入を通じて明らかになった細胞機能へのシアリダーゼのかかわり方について、著者らの実験例を紹介しつつ概説したい。

## ■シアリダーゼの種類と性状

動物起源のシアリダーゼは活性が低く、不安定であって分離・精製が容易ではない。長い間シアリダーゼは異化分解にかかわるたんなるリソソーム酵素のひとつと考えられがちであった。ところが、ラット組織などを酵素源として酵素の分離・

● Taeko MIYAGI

*Remodeling of sialo-glycoconjugates by sialidase gene transfection*

精製が進むと、細菌やウイルス、原虫などのシアリダーゼとは性質の異なる、すくなくとも4種のシアリダーゼが存在することがわかってきた。これらは、細胞内ではそれぞれリソソーム内腔<sup>3)</sup>、リソソーム膜<sup>4)</sup>、形質膜<sup>4)</sup>、細胞質<sup>5)</sup>に局在し、基質特異性などの酵素学的な性状が異なるだけでなく、たがいに免疫学的にも区別される<sup>6)</sup>。

主要な活性であるリソソーム内腔性シアリダー

### サイドメモ

#### シアル酸とその生理的役割

シアル酸は炭素原子9個を含むアミノ糖であるノイラミン酸のアシル誘導体の総称で、5番目の炭素がN-アセチル化されたN-アセチルノイラミン酸が自然界でもっとも代表的である。シアル酸は生体内ではそれ自体が遊離の形で存在することはほとんどなく、糖蛋白や糖脂質、オリゴ糖などの非還元末端に局在し、この形で血液や外分泌液中に、また細胞表層に多く見出される。一般に糖鎖の分解はシアリダーゼによるシアル酸の除去によって開始し、糖鎖の合成はシアル酸転移酵素によるシアル酸の付加によって終了する。シアル酸変化はしたがって、おもにシアリダーゼとシアル酸転移酵素の活性変化を基盤とした両酵素の動的均衡によって制御されている。シアル酸は分子のコンフォメーションに影響を与え、種々の認識機構に関与する。たとえば、循環血中の細胞や血清糖蛋白質の寿命がシアル酸の除去によって著しく短縮される現象は有名であり、いくつかの接着分子の機能糖でもある。

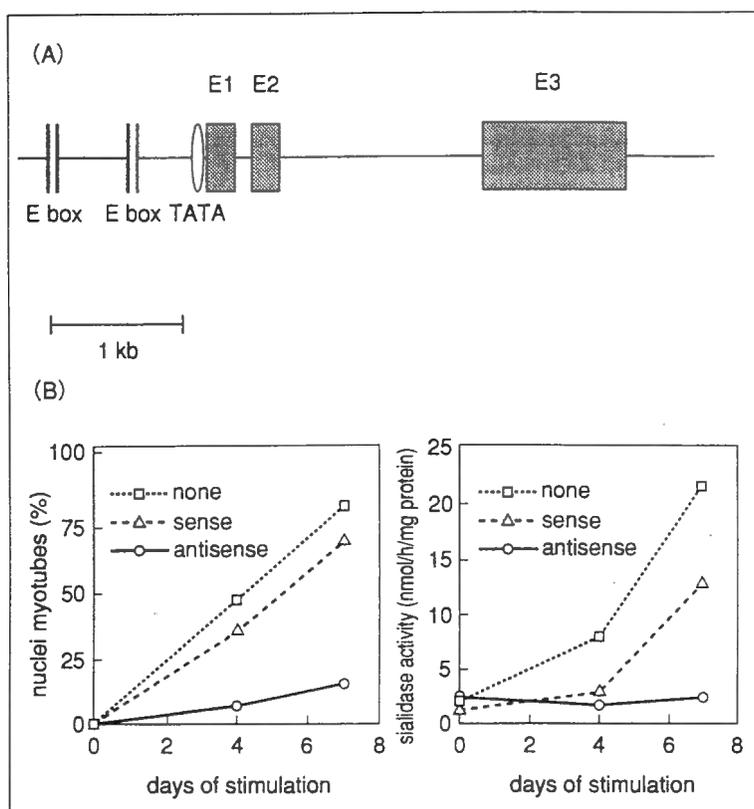


図1 細胞質性シアリダーゼ遺伝子構造 (A) とその骨格筋細胞分化への関与 (B)

Bにおいてはシアリダーゼのアンチセンスオリゴマーの培地への添加によってシアリダーゼの発現が抑制され(右図)、筋芽細胞の分化マーカーとなる筋管形成も抑制される(左図)ことを示している。

ぜは、オリゴ糖や糖ペプチド、合成基質である4-メチルウンベリフェリル-シアル酸(4MU-NeuAc)などの低分子基質には働くが、糖蛋白やガングリオシドには働かない酵素である。シアル酸をもつ糖質分子のすべてを基質とするのではない点、微生物シアリダーゼとは非常に異なる点である。リソソーム膜性および形質膜性シアリダーゼはガングリオシドを優先的に加水分解する酵素であり、リソソーム内腔性酵素と同様、至適pHは酸性にある。

一方、細胞質に局在するシアリダーゼは中性pH付近で働き、オリゴ糖、ガングリオシド、糖蛋白を基質とする。4種のシアリダーゼはシアル酸や2-デオキシ-2,3-デヒドロ-N-アセチルノイラミン酸などの活性阻害薬によっても区別できる。リソソーム性シアリダーゼについてはリソソームにおいて老廃物処理酵素としての役割が容易に推察され、シアリダーゼ欠損症であるシアリドーシスのターゲット分子であるが、他2種については

明確な機能はわかっていない。形質膜性シアリダーゼは、ガングリオシド以外のシアロ複合糖質にはほとんど働かないことから、細胞外からのシグナルを受ける形質膜にあってガングリオシドを介した情報伝達などの機構にかかわっている可能性が考えられるが、まだ実験的証拠は得られていない。これらのうち、細胞質性シアリダーゼについてはラット骨格筋から均一精製品が得られ、動物シアリダーゼでははじめてcDNAがクローン化され、一次構造が決定された<sup>7)</sup>。ゲノム構造も解析され<sup>8)</sup>、機能についてもcDNAをプローブとして明らかにされつつある<sup>9)</sup>。

## ■シアリダーゼの発現とシアロ糖鎖の変化

### 1. 導入実験に用いたシアリダーゼ遺伝子の構造と機能

細胞質性シアリダーゼ遺伝子については、3つのexonから構成され全長3.4kbであること、転写開始点の5'-上流域にはMyoDやミオゲニンなどの筋特異的転写因子が結合する2対のE-box

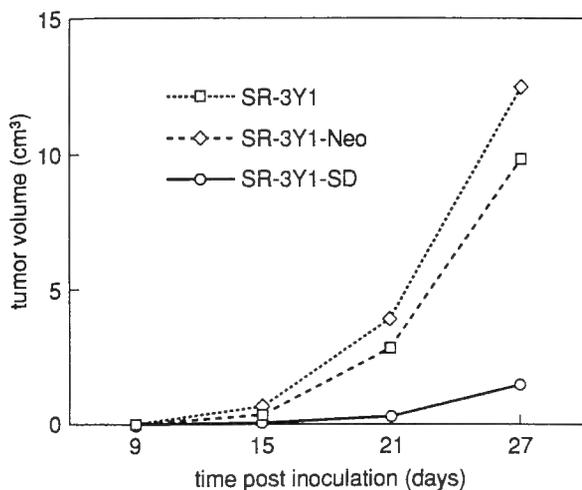


図2 悪性転換3Y1細胞へのシアリダーゼ遺伝子導入による腫瘍増大抑制

悪性転換3Y1細胞(SR-3Y1)にシアリダーゼを高発現させた細胞(SR-3Y1-SD)では、母細胞やベクターのみが導入された細胞(SR-3Y1-Neo)に比較し、腫瘍増大の程度が著しく抑制されている。

表1 B16メラノーマ高転移細胞へのシアリダーゼ遺伝子導入による癌転移抑制

細胞株	肺におけるコロニー形成数	平均値±SD
B16-BL6	125,76,60,78	84.8±28.1
BL6-neo	64,117,88,28,138,33,72	71.1±40.8
BL6-SD3	1,0,4,6,3,1,8,0	2.9±28.1
BL6-SD4	4,2,9,12,0,12,2	6.4±4.91

シアリダーゼ高発現細胞(BL-SD3,4)を静注したマウスの肺には、母細胞(B16-BL6)やベクターのみが導入された細胞(BL-Neo)の場合に比べ、ほとんどコロニー形成が認められない。

行った。細胞増殖速度を測定したところ、ベクターのみの偽陽性細胞では未処理細胞と同様な増殖曲線を示したが、陽性細胞では増殖抑制傾向が認められた。そこで、同系ラットの皮下に細胞を移植して腫瘍増大の程度を観察した。陽性株では明らかな抑制がみられ、18日目の移植腫瘍の体積は対照細胞のその約1/10であった(図2)。増殖抑制をもたらす機構を検索している。

### 3. シアリダーゼ遺伝子導入による癌転移抑制

シアル酸が癌化<sup>10)</sup>や癌転移にかかわっていることは古くから指摘されてきた。シアル酸量が癌転移能と相関するという報告は多いが、逆の結果もあっていまだ統一の見解は得られていない。シアル酸と癌転移の関係を明らかにし、転移抑制を目的として高転移細胞にシアリダーゼ遺伝子導入を行った。シアリダーゼの強制発現によってシアル酸量の低下を導き、転移能がどのような影響を受けるかを調べた。

はじめに、マウスB16メラノーマで高転移、高浸潤能をもつBL6細胞を対象細胞とした。細胞の総シアル酸量は、導入細胞では対照細胞の約60~70%と減少していたが、表層シアル酸量には差異はみられなかった。陽性株をC57BL/6マウスの尾静脈から注入し、肺におけるコロニー形成数を調べ、実験的転移能を観察した。偽陽性細胞では母細胞BL6の場合とほとんど変わらず、多数のコロニーが形成されたが、陽性細胞ではコロニー数が10個以下で著しく肺転移が抑制された(表1)。この現象が免疫系の関与によって起こっている可能性を調べるため、同様の実験をヌードマウスを用いて行ったが、やはり転移抑制が認められたので、免疫系の影響は除外された。また、

配列があること、この領域の転写活性は線維芽細胞などでは検出できないものの筋芽細胞では高いことなどがわかっている(図1-A)。骨格筋に高発現し、骨格筋細胞の分化に重要な役割を果たすことが最近明らかになってきた<sup>9)</sup>。ラットL6筋芽細胞は血清除去による分化誘導刺激により筋管を形成するようになる。このときミオゲニンの発現とほぼ同時にこのシアリダーゼのmRNAの発現と酵素活性が上昇することがわかった。培地にこのシアリダーゼのN末端8コドンに相補的なアンチセンスオリゴマーを添加し、シアリダーゼの発現を阻害したところ、筋管形成が認められなくなった(図1-B)。この現象はシアリダーゼの発現が筋管形成に必要なことを示している。

### 2. シアリダーゼ遺伝子導入による細胞増殖抑制

シアリダーゼの全翻訳領域を含むcDNA(1.3kb)をアクチンプロモーター高発現ベクターに挿入し、PSVneoとともにリポフェクション法によって細胞に導入した。G418耐性のシアリダーゼ発現細胞を選別し、発現するシアリダーゼについて活性およびWestern blot解析により検定した。

ラット3Y1線維芽細胞にラウス肉腫ウイルスを感染させ造腫瘍性を獲得させたSR-3Y1細胞を対象細胞として、シアリダーゼ遺伝子導入を

陽性細胞を C57 BL/6 に皮下注入することにより自然転移能を調べると、実験的転移にみられたような著しい抑制は起こらなかったが、転移抑制傾向は認められた。

つぎに、転移抑制の要因を検索した。この細胞の場合、増殖速度や腫瘍の増大速度はシアリダーゼの発現によって影響を受けなかった。また、マトリゲルをコートした Boyden chamber を用いて浸潤能を調べると、陽性株では対照細胞に比べ低い浸潤能を示した。浸潤能に影響を与える重要な因子である運動能を金コロイド法によって調べると、シアリダーゼ高発現によって運動能が低下していることがわかった。ラミニン、フィブロネクチン、コラーゲンIVへの接着にも、シアリダーゼの発現は影響を与えなかった。そこで、糖蛋白や糖脂質に質的な変化が起こっているかどうか、細胞表層および細胞内シアロ糖質分子の検索を行った。細胞表層シアロ酸の存在様式については、シアロ酸を認識する3種のレクチンを用いた flow cytometry によって分析した。 $\alpha 2 \rightarrow 6$  シアリル結合を認識するニワトコレクチン (SSA)、 $\alpha 2 \rightarrow 3$  シアリル結合認識のイヌエンジュレクチン (MAM)、小麦胚芽レクチン (WGA) のいずれによっても対照細胞と相違する結果は得られなかった。

細胞内シアロ糖蛋白分子について細胞抽出液のレクチンプロットングを行った。ここでも明らかな差異は観察されなかった。つぎに糖脂質成分について薄層クロマトグラフィによってガングリオシド分析を行った。その結果、シアリダーゼ導入細胞では対照細胞に比べ、ガングリオシド GM3 の減少、そして逆に、GM3 からシアロ酸が脱離されて生じるラクトシルセラミドの増加が見出された。このとき GM3 合成酵素の活性レベルはほとんど同程度であった。GM3 には接着分子としての働きがあり、また、細胞内で細胞骨格の中間フィラメントに結合して存在しているという報告もある。前述したように、このシアリダーゼは骨格筋細胞の分化に重要な役割を果たしているという事実が明らかになっているので、この発現シアリダーゼはガングリオシドからシアロ酸を除去することによって細胞骨格の機能を調節し、細

胞運動能を低下させて転移抑制をもたらしている可能性がある。

一方、転移抑制が他種の高転移細胞でも起こるかどうかを調べた。マウス結腸癌 colon 26 細胞の高転移 NL17 細胞を用いて、同様にシアリダーゼ遺伝子導入実験を行った。実験的肺転移能を観察したところ、陽性細胞では上述の B16 メラノーマの場合と同様、転移抑制が認められた。この細胞では転移細胞で高発現することが知られているシアリル Le<sup>x</sup> の発現レベルが低下していることが見出された。

## ■おわりに

以上の結果によって、シアリダーゼ分子が増殖や癌転移などの細胞機能にかかわっていることが明らかになった。とくに、癌転移については、シアル酸量そのものの解析よりは、シアリダーゼの解析を通じていっそう明確なシアル酸変化が把握できそうである。つぎの段階としてヒトの癌転移例でのシアリダーゼの検索が必要とされるが、そのためにはヒトシアリダーゼ遺伝子のクローニングと構造解明が先決であろう。また、シアリダーゼがヒトや動物ではなぜ多様であるのか、それぞれのシアリダーゼ分子はどのような機能を有しているのか、表層シアロ酸の質的および量的変化を促すのはおもにどのシアリダーゼ分子種であるのかなど、多くの問題が山積している。そしてシアル酸の調節を担っているこのシアリダーゼについて、遺伝子発現のレベルで、あるいは活性発現のレベルで、人工的に発現を制御することによって癌転移を抑制できる可能性は少なくないと期待している。

## 文献

- 1) Schauer, R.: Sialic acids and their roles as biological masks. *Trends Biochem. Sci.* 10: 357-360, 1985.
- 2) Pilatte, Y. et al.: Sialic acids as important molecules in the regulation of the immune system: pathophysiological implications of sialidases in immunity. *Glycobiology.* 3: 201-217, 1993.
- 3) Miyagi, T. and Tsuiki, S.: Rat-liver lysosomal sialidase. Solubilization, substrate specificity and comparison with the cytosolic sialidase. *Eur. J. Biochem.* 141: 75-81, 1984.
- 4) Miyagi, T. et al.: Biochemical and immunological studies on two distinct ganglioside

- hydrolyzing sialidases from the particulate fraction of rat brain. *J. Biochem.* **107** : 787-793, 1990.
- 5) Miyagi, T. and Tsuiki, S. : Purification and characterization of cytosolic sialidase from rat liver. *J. Biol. Chem.* **260** : 6710-6716, 1985.
- 6) Miyagi, T. et al. : Immunological discrimination of intralysosomal, cytosolic, and two membrane sialidases present in rat tissues. *J. Biochem.* **107** : 794-798, 1990.
- 7) Miyagi, T. et al. : Molecular cloning and expression of cDNA encoding rat skeletal muscle cytosolic sialidase. *J. Biol. Chem.* **268** : 26435-26440, 1993.
- 8) Sato, K. and Miyagi, T. : Genomic organization and the 5'-upstream sequence of the rat cytosolic sialidase gene. *Glycobiology.* **5** : 511-516, 1995.
- 9) Sato, K. and Miyagi, T. : Involvement of an endogenous sialidase in skeletal muscle cell differentiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **221** : 826-830, 1996.
- 10) Warren, L. et al. : Glycopeptide changes and malignant transformation, a possible role for carbohydrate in malignant behaviour. *Biochim. Biophys. Acta* **516** : 97-127, 1978.

\* \* \*

〈特集〉第6回白布癌シンポジウム  
癌治療と癌生物学の新しい展開

## 血清 Se 値と癌の疫学的検討

氏家 重紀 伊藤 友美 菊池 寛昭 涌井 昭\*

**要旨** 正常人 64 名, 癌患者および非癌患者計 2,035 名の血清 Se 値を測定し, 次の結果を得た。

- 1) 男性の血清 Se 値は女性に比し有意に高値である。
- 2) 血清 Se 値は男女とも高齢になるに従って低下する傾向がみられる。
- 3) 癌患者の血清 Se 値は非癌患者のそれに比べ有意に低値である。
- 4) 癌患者を転移の有無別に分けて血清 Se 値を比較すると両者の間に有意差は認められなかった。転移のない群の患者の大部分は術後で非担癌状態にあることから癌患者の血清 Se の低値は, 担癌によって引き起こされたものではなく, 癌罹患以前からのものであることが示唆された。

[癌と化学療法 24(4):401-405, 1997]

### はじめに

癌の Se による chemoprevention 効果については, 疫学的にも実験的にも数多くの報告があり, さらに Se 化合物による抗腫瘍効果についても研究が進んでいる。しかし疫学調査で Se と癌の関連について, 癌罹患以前からヒトの血清 Se 値を追跡したデータは意外に少ない。われわれは, Se の chemoprevention 効果, 抗腫瘍効果を検討するための手はじめとして, 非癌および癌患者の血清 Se 値の測定から着手した。今回はそれを疫学的観点から検討したので報告する。

### I. 材料と方法

#### 1. 材 料

正常人 64 人, 非癌患者 691 人, 癌患者 1,344 人, 計 2,099 人の血清。

#### 2. 方 法

##### 1) 血清 Se 値の測定

血清, 40 ppmPd 液 (塩酸酸性), 1% Triton X

を 1:1:2 の割合で混合, 除蛋白後原子吸光法 (島津 6500 S) で測定した。

#### <測定条件>

乾 燥	150°C	20 sec
灰 化	1,200°C	13 sec
原子化	2,300~2,500°C	4 sec

#### 2) 有意差の検定

z 検定または t 検定によった。

### II. 結 果

血清 Se 値測定者の男女別, 年齢別, 癌非癌別人数の内訳は表 1 のごとくである。これらの対象の血清 Se 値測定の結果を性別, 年齢別にみると表 2, 図 1 のごとくで, Se 値は男性が女性に比し有意に高く, 男女とも加齢とともに低下する傾向がみられた。また男女差は加齢とともに減少した。

患者の血清 Se 値を癌, 非癌別に比較したのが図 2 で, さらに性別, 年齢別に比較したのが図 3, 4, 表 3 である。性, 年齢に関係なく癌群は非癌群に比し有意に低い血清 Se 値を示した。なお 30 歳以下の群では癌群が非癌群より高い Se 値を

\* 宮城県立がんセンター・薬物療法部

表 1 癌・非癌患者，正常者の性別，年齢別人数

		～30歳	31～40歳	41～50歳	51～60歳	61～70歳	71歳～	計
癌 (1,344)	男性	7	10	65	115	288	239	724
	女性	12	28	88	159	203	130	620
非癌 (691)	男性	13	22	68	77	78	50	308
	女性	19	27	48	111	108	70	383
正常 (64)	男性	3	2	1	4	6	6	22
	女性	3	2	7	17	8	5	42
計		57	91	277	483	691	500	2,099

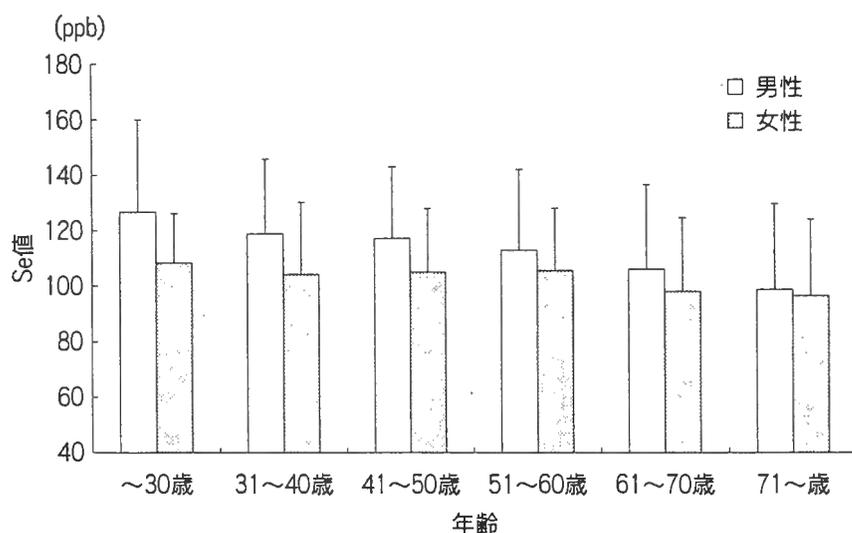


図 1 性別，年齢別の血清 Se 平均値

表 2 性別，年齢別の血清 Se 平均値

[ppb(mean±SD)]

	男性	女性
～30歳	127.04±33.29	108.68±17.98
31～40歳	118.90±27.08	104.36±26.04
41～50歳	117.17±26.02	105.28±22.97
51～60歳	113.28±29.01	105.78±22.79
61～70歳	106.42±30.70	98.54±26.83
71歳～	98.92±31.46	96.61±28.05
全平均	107.81±30.78	101.72±25.50

示しているが，この群は人数が極端に少ないため，特に意味はないものと思われる。

次に癌患者を転移 (+) 群と転移 (-) 群に分けて Se 値を比較すると，2 群の間に有意差はみ

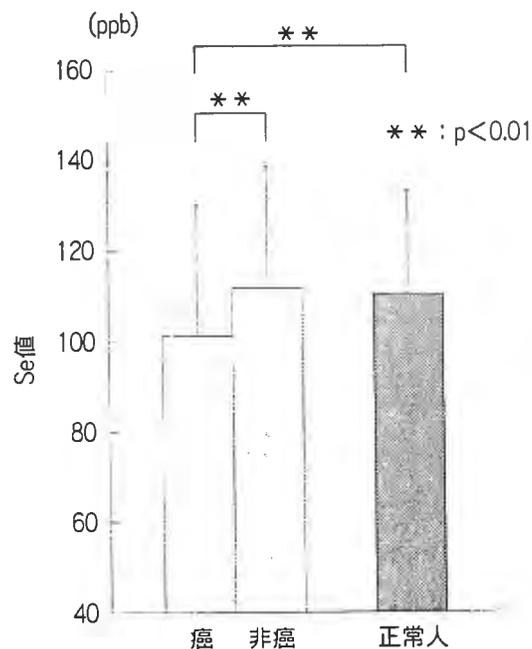


図 2 癌，非癌別の血清 Se 平均値

られなかった(表4, 図5)。ほとんどすべての患者が活動性の癌病変をもっている転移(+)群と、術後で非癌状態の患者を多数含んでいる転移(-)群の間に有意差がないということは、癌患者

にみられる血清 Se の低値は癌によって生じたものではなく、癌罹患以前からのものであることが示唆された。

また癌患者の血清 Se 値を原発臓器別に比較してみたが、臓器間に有意差はみられなかった。

非癌患者についても、心疾患、糖尿病など、主な疾患別に Se 値の比較を試みたが、有意差は得られなかった。

### III. 考 察

癌と Se の関連については多くの報告があり、疫学的にはその地域の土壌の Se 含量と癌死亡率の間に負の相関があるといわれている。Shamberger らはアメリカの穀物の Se 含量が少ない州は、多い州よりも有意に全癌死亡率が高く、住民

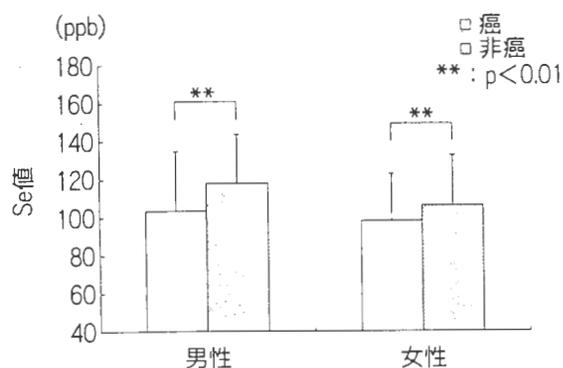


図3 癌、非癌別と性別の血清 Se 平均値

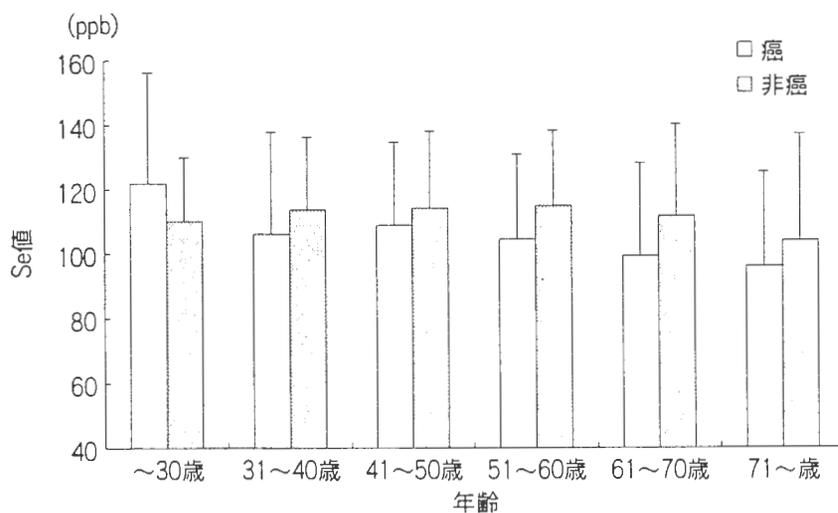


図4 癌、非癌別と年齢別の血清 Se 平均値

表3 癌、非癌別と年齢別の血清 Se 平均値

[ppb(mean±SD)]

	男性		女性	
	癌	非癌	癌	非癌
~30歳	141.88±49.49	115.73±19.04	109.54±16.28	106.17±19.79
31~40歳	105.85±31.15	127.86±19.60	106.01±32.84	101.93±18.01
41~50歳	112.16±27.85	121.84±23.58	106.28±23.87	102.75±20.30
51~60歳	105.78±29.20	123.72±25.68	103.09±24.83	108.74±19.39
61~70歳	103.64±32.34	115.80±22.53	93.55±21.87	108.23±32.50
71歳~	97.48±31.98	105.50±30.00	93.08±23.63	103.09±34.69
全平均	103.11±31.95	118.30±25.32	98.58±24.39	106.21±26.84

表 4 転移有無別の血清 Se 平均値

		人数	Se 値 [ppb (mean ± SD)]
男性	転移有	216	100.39 ± 35.09
	転移無	508	104.27 ± 30.49
女性	転移有	173	97.70 ± 26.00
	転移無	447	98.92 ± 23.76

の平均血中 Se 濃度は全癌死亡率と有意な負の相関を示すと述べている<sup>1,2)</sup>。疫学的に Se の chemoprevention 効果を知るには健常人の癌罹患以前からの Se に関するコホート研究が必要になるが、このような報告はこれまで極めて少ない。実験的には種々の発癌物質による動物の発癌率を Se 化合物の投与により低下させた報告は数多くみられる<sup>3-7)</sup>。また、Se による chemoprevention のメカニズムについても、多くの報告がある。Se には単に Se 酵素であるグルタチオンパーオキシダーゼによる有害な活性酸素や過酸化物を分解して、組織を障害から守る働きのみではなく、細胞増殖因子の活性化、不活性化の酸化還元スイッチの役割や、免疫力を強める作用も報告されている<sup>8)</sup>。また、Se は発癌物質と DNA の結合を阻害し、DNA ポリメラーゼ、RNA ポリメラーゼを不活性化するといわれている<sup>3)</sup>。そして、Se はある種の発癌物質の変異原性を低下させたり、代謝経路を変えることにより発癌物質の活性化を抑えるであろうともいわれている<sup>9)</sup>。

さらに、1,4-phenylenebis(methylene)selenocyanate による thymidinkinase の阻害<sup>10)</sup> や、selenodiglutathione によるアポトーシスの誘導<sup>11)</sup> も報告されており、セレン化合物による抗腫瘍効果も期待されている。疫学調査や動物実験の次の段階としての Se と癌に関する介入試験についても、ごく少ないが報告はみられる<sup>12)</sup>。このように Se と癌についての研究は疫学調査、動物実験さらに介入試験と進み、さらに Se 化合物による抗腫瘍効果の検討へと進みつつある。

今後、疫学調査については数多くの国や地域でのコホート研究の集積が望まれる。また、実験的には Se が癌の予防効果を示す血中または組織内濃度の検討、それをコントロールするための Se

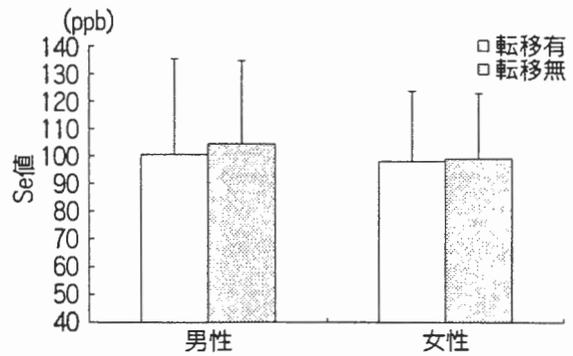


図 5 転移有無別血清 Se 平均値

化合物や食品中 Se の化学構造や吸収の研究、さらに Se 化合物による抗腫瘍効果に関しては臓器特性や毒性が今後の問題として残る。

われわれは、非癌および癌患者の血清 Se 値の検討に着手したばかりであるが、今後例数を増やしながら、非癌者を追跡し、癌の発生率と血清 Se 値の関係を検討したい。

#### 文 献

- 1) Shamberger, R. J. and Willis, C. E.: Selenium distribution and human cancer mortality. *CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2: 211-221, 1971.
- 2) Shamberger, R. J., Tytko, S. A. and Willis, C. E.: Antioxidants and cancer. Part VI. Selenium and age-adjusted human cancer mortality. *Arch. Environ. Health* 31: 231-235, 1976.
- 3) Shamberger, R. J.: Selenium and Cancer. Trace Elements in Clinical Medicine, Hiroshi Tomita ed., Springer-Verlag, Tokyo, 1990, pp. 135-140.
- 4) Milner, J. A.: Does dietary Selenium really influence the cancer process. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 50(3+4): 1995.
- 5) Bayoumy, K. E-L., Upadhyaya, P., Young-Heum Chae, Y-H. et al: Chemoprevention of cancer by Organoselenium Compounds. *Cell. Biochem.* 22(Suppl.): 92-100, 1995.
- 6) Reddy, B. S., Rivenson, A., Kulkarni, N. et al: Chemoprevention of Colon Carcinogenesis by the Synthetic Organoselenium Compound 1, 4-phenylenebis(methylene)selenocyanate. *Cancer Res.* 52: 5635-5640, 1992.
- 7) Reddy, B. S., Wynn, T. T., Bayoumy, K. E-L. et al: Evaluation of Organoselenium Compounds for Potential Chemopreventive Properties in Colon Cancer. *Anticancer Res.* 16: 1123-1128,

- 1996.
- 8) Schranzer, G. N. : Selenium ; Mechanistic Aspects of Anticarcinogenic Action. *Biol. Trace Elem. Res.* **33** : 51-62, 1992.
  - 9) 浜島信之 : セレニウムと健康障害—特にがんをめぐる疫学研究—. *日本公衛誌* **34**(8) : 405-412, 1987.
  - 10) Tillotson, J. K., Upadhyaya, P. and Ronai, Z. : Inhibition of thymidine kinase in cultured mammary tumor cells by the chemopreventive organoselenium compound, 1,4-phenylenebis(methylene)selenocyanate. *Carcinogenesis* **15** (4) : 607-610, 1994.
  - 11) Lanfear, J., Fleming, J., Wu, L. *et al* : The selenium metabolite selenodiglutathione induces *p53* and apoptosis relevance to the chemopreventive effects of selenium? *Carcinogenesis* **15**(7) : 1387-1392, 1994.
  - 12) Clark, L. C., Combs, G. F. Jr. and Turnbull, B. W. : The Nutritional Prevention of Cancer with Selenium 1983-1993; A Randomized Clinical Trial. *Experimental Biology*. 96, part II. *FASEB J.* **10**(3) : A 550, 1996.
- 

### Summary

[*Jpn J Cancer Chemother* **24**(4) : 401-405, February, 1997]

#### SERUM SELENIUM CONTENTS IN CANCER PATIENTS

Shigeki Ujiie, Yumi Itoh, Hiroaki Kikuchi and Akira Wakui

*Division of Cancer Pharmacotherapy, Miyagi Cancer Center Institute*

The conclusions were confirmed by determining the serum Selenium levels in 2099 cancerous of non-cancerous patients as follows :

- 1) The mean serum Selenium levels of males is significantly higher than in females.
- 2) Serum Selenium levels tend to decrease with age.
- 3) The serum Selenium levels of cancerous patients is significantly lower than in non-cancerous patients.
- 4) No significant difference in the serum Selenium levels was observed between cancerous patients with and without metastasis. Most patients without metastasis are free from cancer after surgery, so the low serum Selenium level in cancerous patients may not be induced by the tumor but was present before the tumor.

**Key words** : Selenium, Cancer chemoprevention

---

## 血清Se値と癌の疫学的検討

伊藤友美、氏家重紀、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

ヒト血清Se値と癌との関連の有無を疫学的に検討し、更に血清Se値をコントロールすることによる癌予防の可能性を窺う目的で研究を開始した。

今回はまず本院の患者1178例および正常人30例の血清Se値を測定し、癌との関連につき疫学的に検討した。

### 対象と方法

11～90歳の癌患者728例、12～91歳の非癌患者450例および24～75歳の正常人30例を対象とした(表1)。

血清、40ppmPd液(塩酸酸性)、1% TritonXを1:1:2の割合で混合、除蛋白後、フレイムレス原子吸光法(島津6500S)でSe値を測定した。

表1 癌、非癌患者の性別、年齢別人数

	癌		非癌		計
	男性	女性	男性	女性	
～30歳	4	8	9	13	34
31～40歳	4	19	14	24	61
41～50歳	29	50	38	35	152
51～60歳	74	84	44	81	283
61～70歳	165	105	43	70	383
71歳～	117	69	32	47	265
計	393	335	180	270	1178

### 結果および考察

1. 正常人30名の血清Se平均値は109.7±28.3ppbであった。
2. 血清Se値を男女別にみると、男性のSe平均値は106.0±31.7ppb (n=573)、女性は98.8±22.1ppb (n=605)で、男性が女性に比べ有意に高値であった。
3. 血清Se値を年齢別にみると、高齢になるにつれて低下する傾向がみられた(表2)。

表2 性別、年齢別の血清Se平均値 [ppb (mean±SD)]

	男性	女性
～30歳	124.4±41.3	106.7±18.7
31～40歳	114.8±27.8	101.2±22.3
41～50歳	115.1±25.5	103.5±22.5
51～60歳	106.9±29.8	102.7±22.5
61～70歳	106.5±30.2	93.7±20.7
71歳～	97.9±35.2	95.4±21.8
全平均	106.0±31.7	98.8±22.1

4. 癌患者の血清Se値は98.8±29.0ppb、非癌患者は108.0±23.5ppbで、癌患者が非癌患者や正常人に比べ有意に低値であった(図1)。癌患者群は、非癌患者に比べ患者構成が年齢的に、また性的に偏っているためにSe値が低値であった可能性を考え、年齢別、男女別に分けて血清Se値を比較してみたが、いずれの年齢群でも、また男女いずれもが非癌群に比し癌群のSe値は低値であった。

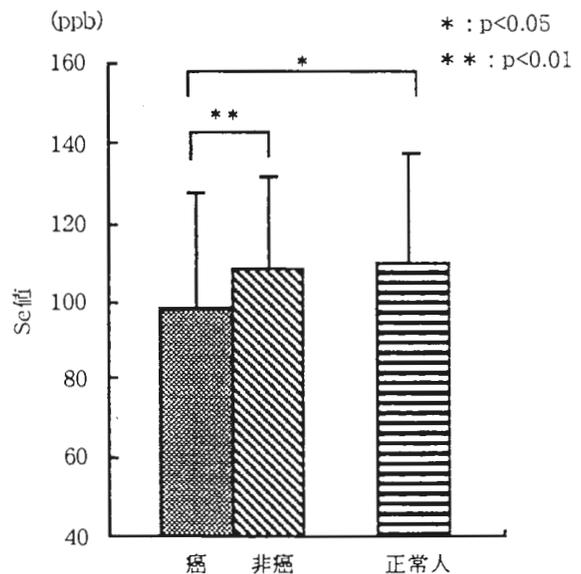


図1 癌、非癌別の血清Se平均値

5. 癌患者の血清Se値を癌の臓器別（食道、胃、大腸、肝、肺、乳房、子宮、その他）に比較してみたが、各臓器間に有意差はみられなかった。

6. 癌患者のうち、転移(+)の患者の血清Se平均値は $97.3 \pm 33.3$ ppb、転移(-)では $99.3 \pm 23.5$ ppbと二群の間に有意差はなかった（図2）。

転移(-)群には術後の非担癌状態の患者が多く含まれていることから、癌患者にみられる血清Seの低値は、担癌によって引き起こされたものではなく癌罹患以前から存在しており、癌の原因と関連している可能性が示唆された。今後測定例を増やし、非癌群を長期間追跡してその中から発生する癌患者と、罹患前の血清Se値の関係を検討したい。さらに血清Seのコントロールによる癌予防の可能性も検討したい。

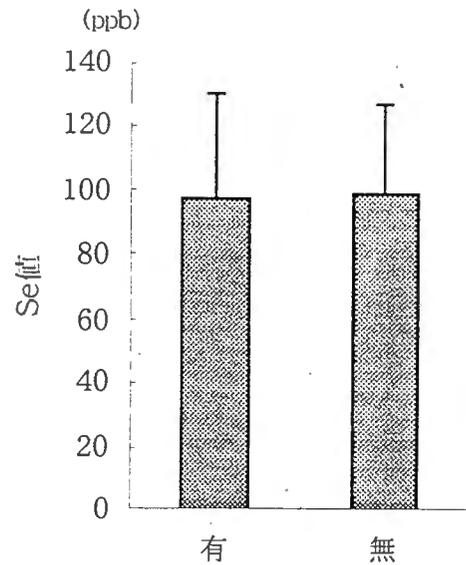


図2 転移有無別の血清Se平均値

## SERUM SELENIUM CONTENTS OF CANCEROUS AND NON-CANCEROUS PATIENTS

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

The conclusions were confirmed by the determination of serum Selenium contents in 1178 cancerous or non-cancerous patients as follows.

- 1) Mean serum Selenium contents of males are significantly high compared with that of females.
- 2) Serum Selenium contents tend to decrease parallel with the aging of patients.
- 3) Serum Selenium contents of cancerous patients are significantly low compared with that of non-cancerous patients.
- 4) Significant difference in serum Selenium contents was not observed between cancerous patients with metastasis group and the patients without metastasis group. The most of patients in the group without metastasis have not cancerous foci after the operation.

Therefore, serum Selenium contents of cancerous patients may not be decreased by bearing cancer but have been probably low before bearing cancer.

## 研究論文

## 加重平均入院自足率による医療圏の評価

長井吉清 濃沼信夫\*

## I. はじめに

昭和60年の第一次医療法改正に基づき都道府県が策定する地域医療計画は、5年目の第一回目の見直しを終了し、10年目の第2回目の見直しの時期を迎えつつある。また、医療費増高につながる病院病床数の量的規制としての色彩が強かった2次医療圏は、地域保健法の制定とも軌を一にして、地域の総合的な医療・福祉の単位としての役割を發揮することが期待されるようになっていく。すなわち、平成8年4月の医療審議会の意見書「今後の医療提供体制の在り方について」では、医療計画の見直しという項目を設け、2次医療圏単位に整備すべきものとして、専門性の高い医療を提供する施設、救命救急センター、へき地中核病院、病院のオープン化、高額医療機器の適正配置をあげ、さらに、痴呆性疾患に対応する精神病床については、2次医療圏単位で整備を図っていくことが適当であるとしている。我々は、2次医療圏評価の手段として、疾病別入院自足率の算定が有用であることを述べてきたが<sup>1)2)3)</sup>、今回は疾病別入院自足率を入院患者数で加重平均した、加重平均入院自足率による医療圏評価を試みたので報告する。

## II. 方法

研究対象は、第一次医療法改正により地域医療計画が始まった年、すなわち昭和60年に都道府県

により患者調査が行われた宮城、長野、奈良および平成2年に患者調査を実施している山形の4県とする。4県の患者調査の結果が入力されたデータテープを借用し、東北大学大型計算機センターのACOSにより疾病別入院患者（診療所を含む）の市町村間流動表を新たに作成し、これをPC9801上のLotus 1-2-3に入力し、MS-DOS上のBasicコンパイラにより処理し2次医療圏別の疾病別入院自足率を得た。4県において、平成2年にも患者調査が行われているので、地域医療計画開始後5年間の変化を見るため平成2年度の患者調査についても同様に分析した。平成2年度については以下のようにして加重平均入院自足率も算出した<sup>4)</sup>。

すなわち、その地域における入院患者の内、その地域内で受療しているものの割合、これを入院自足率と呼び、主要な疾病ごとに測定する。主要な疾病とは各都道府県内で1,000名以上の入院患者がいるものとする。ついで、疾病ごとの入院自足率を入院患者数で加重平均し加重平均入院自足率を得る。

ここでは、昭和60年の第一次医療法改正によって定められた地域医療計画において、都道府県が設定することになった2次医療圏を地域の単位とする。すなわち、一般の入院医療（2次医療）がそのなかでほぼ完結すべき地理的な範囲である。

4県の22医療圏につき新生物入院自足率と悪性新生物のSMR、加重平均入院自足率と成人病3疾患（悪性新生物、脳血管疾患、心疾患）のSMRの相関関係につき検討した。4県のSMRのデータは「医療計画必携」<sup>5)</sup>によった。なお、2次医療圏の地域割についても、「医療計画必携」を参照されたい。

キーワード：医療圏、評価、加重平均入院自足率

宮城県立がんセンター研究所人文科学部  
\* 東北大学医学部病院管理学教室

### III. 結 果

宮城県の昭和60年から平成2年の疾病別入院自足率の変化を見ると、県北医療圏で新生物の入院自足率が52.6%から59.4%へとまた石巻医療圏で呼吸系の疾患が80.3%から87.6%へと上昇したのが目立つ。下降したのものとしては石巻医療圏で消化系の疾患が93.6%から87.4%へとまた県北医療圏で筋骨格系および結合組織の疾患で78.2%から69.7%へと下がっている。その他は5%以下の変化である。2つの年度を通じて、50%以下の一群としては仙南医療圏と石巻医療圏の新生物が挙げられる。精神障害の仙南医療圏、県北医療圏そして筋骨格系および結合組織の疾患の石巻医療圏は2つの年度とも60%程度の値となっている。加重平均入院自足率は仙南医療圏、県北医療圏、石巻医療圏で70%程度、その他は90%以上である(表1)。

長野県の昭和60年から平成2年の疾病別入院自足率の変化を見ると、大北医療圏で新生物、精神障害、消化系の疾患、筋骨格系および結合組織

の疾患で自足率が6%以上上昇している。また、木曾医療圏では、新生物、消化系の疾患、筋骨格系および結合組織の疾患で自足率が10%以上上昇し、脳血管疾患では自足率が10%低下している。また、諏訪医療圏では、新生物と筋骨格系および結合組織の疾患で自足率が7%程上昇している。以上は自足率の上昇を認めた医療圏であるが、佐久医療圏の消化系の疾患、上伊那医療圏と北信医療圏の筋骨格系および結合組織の疾患で自足率が6%以上低下している。その他は5%以下の変化である。加重平均入院自足率は上小医療圏、上伊那医療圏、北信医療圏で70%程度から80%の間であり、木曾医療圏と大北医療圏が50%程度以下であることを除くと、その他は85%以上の値である(表2)。

奈良県の疾病別入院自足率の変化をみると、南和医療圏で、新生物と損傷および中毒で自足率が10%程低下し、消化系の疾患で自足率が9%程上昇している。加重平均入院自足率は南和医療圏で50%以下、中和医療圏で70%程度、北和医療圏で85%以上であった(表3)。

表1 宮城県圏域別疾病別入院自足率(歯科を除く)

傷病名	新生物	精神障害	脳血管疾患	呼吸系の疾患	消化系の疾患	筋骨格系及び結合組織の疾患	骨折	加重平均入院自足率
圏域 患者数	2925	4259	2466	1225	2098	1582	1212	15767
仙南医療圏	47.9%(50.5%)	61.7%(58.1%)	70.5%(76.6%)	77.1%(76.4%)	85.4%(85.9%)	68.1%(70.4%)	87.3%(88.6%)	67.5%
仙台医療圏	100.0(99.8)	96.9(96.9)	99.3(98.6)	99.7(99.3)	99.4(99.5)	98.1(97.6)	99.1(98.7)	98.7
県北医療圏	59.4(52.6)	63.3(64.5)	88.2(87.4)	87.3(84.2)	85.3(85.1)	69.7(78.2)	83.7(87.3)	73.5
石巻医療圏	53.6(49.3)	74.2(76.6)	85.3(85.3)	87.6(80.3)	87.4(93.6)	61.2(65.7)	83.6(89.0)	74.3
気仙沼医療圏	81.0(81.4)	93.8(94.3)	95.8(96.2)	93.7(92.5)	95.9(95.5)	81.9(92.9)	98.5(98.8)	91.2

平成2年宮城県患者調査より算出(括弧内は昭和60年宮城県患者調査より算出)

表2 長野県圏域別疾病別入院自足率(歯科を除く)

傷病名	新生物	精神障害	脳血管疾患	消化系の疾患	筋骨格系及び結合組織の疾患	加重平均入院自足率
圏域名 患者数	2371	5370	2322	1343	1223	12629
佐久保健医療圏	94.6%(94.5%)	82.2%(85.1%)	85.9%(89.7%)	90.8%(97.4%)	85.7%(83.0%)	86.5%
上小保健医療圏	64.8(68.4)	74.3(69.1)	91.0(95.2)	78.6(83.9)	83.9(86.8)	77.0
諏訪保健医療圏	96.6(89.5)	70.2(73.9)	95.7(93.4)	98.6(97.4)	95.6(87.9)	85.3
上伊那保健医療圏	72.9(77.2)	86.2(81.5)	78.0(82.7)	88.7(90.6)	70.3(76.7)	80.9
飯伊保健医療圏	90.6(90.4)	85.8(87.0)	95.8(96.9)	99.1(96.0)	90.4(93.6)	90.4
木曾保健医療圏	55.1(44.7)	1.1(1.8)	47.4(57.9)	57.9(27.3)	40.7(16.7)	29.6
松本保健医療圏	95.7(96.7)	92.2(91.0)	82.8(85.5)	95.4(93.5)	93.4(91.5)	91.6
大北保健医療圏	69.0(56.6)	33.6(24.8)	65.5(66.7)	87.8(80.4)	48.4(42.3)	53.3
長野保健医療圏	90.0(89.5)	88.2(87.7)	88.4(88.6)	95.6(96.8)	94.6(92.5)	90.0
北信保健医療圏	87.1(81.3)	57.2(56.6)	71.2(67.8)	87.7(89.6)	41.0(62.7)	67.1

平成2年長野県患者調査より算出(括弧内は昭和60年長野県患者調査より算出)

山形県の平成2年の疾病別入院自足率、および加重平均入院自足率は新生物で最上医療圏と置賜医療圏が85%程度、精神障害で最上医療圏が75%、置賜医療圏が60%程度、加重平均入院自足率で最上医療圏が85%程度、置賜医療圏で80%程度のほかはすべて95%以上の値である(表4)。相関関係は、脳血管疾患の男女と心疾患の女性で有意の相関が得られており、加重平均入院自足率が高いほど死亡が少ないという結果である(表5)。

#### IV. 考 察

医療圏の評価法としては、全国341医療圏の40種以上の各種統計指標の分析から、医師数、コメディカル数、耳鼻科施設数、眼科施設数、分娩件数等の人口10万対数値が適当な指標であるとした報告<sup>6)</sup>がある他、我々の主張する疾病別入院自足率にもとづく報告<sup>7)</sup>や宮城県の癌登録および一般国保入院に基づいて自足率を求めた算らの報告<sup>8)</sup>がある。我々の特徴は、都道府県が行った全数調査の患者調査に基づいていることで、診療所を含めた都道府県内の全ての患者流動に立脚している点に特徴がある。

これまで我々が行った新生物入院自足率により、50%程度以下が「1.5次医療圏」、70~80%が「2次医療圏」、85%以上が「2.5次医療圏」と分ける医療圏の評価<sup>1)2)3)</sup>と今回の加重平均入院自足率による同様の医療圏の評価法との関係は、以下の通りである。奈良県や山形県では両者は完全に一致していた(表3、表4)。一方、長野県では、大北医療圏、北信医療圏は、各々、新生物入院自足率による「2次医療圏」、「2.5次医療圏」であるが、加重平均入院自足率によれば各々「1.5次医療圏」、

「2次医療圏」であり、その他の8医療圏のみ両者が一致していた(表2)。さらに、宮城県では、仙南医療圏、県北医療圏、石巻医療圏が、新生物入院自足率による「1.5次医療圏」で、加重平均入院自足率による「2次医療圏」であり、気仙沼医療圏が新生物入院自足率による「2次医療圏」で、加重平均入院自足率による「2.5次医療圏」であり、残りの仙台医療圏のみ両者一致していた(表1)。これは、入院患者数1,000名以上の主要な疾病の数が増えるにつれて、新生物入院自足率に対して、加重平均入院自足率の値が、長野県の場合は引き下

表4 山形県圏域別疾病別入院自足率

山形県圏域	患者数	新生物	精神障害	脳血管疾患	損傷及び中毒	加重平均入院自足率
山形県	1641	2763	1543	1026	6973	
村山医療圏	99.6%	96.6%	99.3%	99.0%	98.3%	
最上医療圏	84.0	75.4	97.2	92.9	84.8	
庄内医療圏	97.1	96.9	99.3	98.5	97.7	
置賜医療圏	83.1	58.2	97.9	94.7	78.2	

表5 新生物入院自足率・加重平均入院自足率とSMRの相関関係

新生物入院自足率との相関係数	
SMR悪性新生物男	-0.070
SMR悪性新生物女	0.016
加重平均入院自足率との相関係数	
SMR悪性新生物男	-0.031
SMR悪性新生物女	-0.133
SMR脳血管疾患男	-0.424*
SMR脳血管疾患女	-0.479*
SMR心疾患男	-0.104
SMR心疾患女	-0.469*

\* p < 0.05、\*\* p < 0.01

表3 奈良県圏域別疾病別入院自足率(歯科を除く)

圏域名	傷病名 患者数	新生物	精神障害	消化系の疾患	損傷及び中毒	加重平均入院自足率
		1277	2185	1238	1017	5717
北和保健医療圏		92.3%(92.7%)	84.9%(85.8%)	93.8%(95.7%)	92.8%(94.1%)	90.0%
中和保健医療圏		74.2(68.8)	58.5(54.5)	84.7(88.1)	85.8(81.0)	69.5
南和保健医療圏		39.1(48.9)	29.4(26.9)	78.9(69.7)	66.3(75.7)	43.4

平成2年奈良県患者調査より算出(括弧内は昭和60年奈良県患者調査より算出)

げられ、宮城県の場合は引き上げられているためと考えられる。

新生物入院自足率による評価とは異なったものである加重平均入院自足率による評価の意義としては以下の事が考えられる。第一には、新生物入院自足率のみを指標にしているのと違い、主要な疾患全てを含んだ指標であるので、より総合的な評価であることである。第二には、脳血管疾患や女性の心疾患の SMR と有意の負の相関が認められ、新生物入院自足率が悪性新生物の SMR と有意の相関が認められないのに比べ、より医療の実態を示しうる指標となっていると思われる点である。ただし、SMR は昭和 60 年のデータであるに対し、入院自足率は平成 2 年のデータであるという問題点もあることは否定できない。なお、地域における疾病別入院率と死亡指標との関係については、宮城県の昭和 60 年の保健所管区別年齢調整癌死亡率<sup>9)</sup>と新生物入院患者数の 40 歳以上人口に占める割合との相関をみると、相関係数は 0.65 と十分に高いものであった。

4 県の 22 医療圏についての相関関係では、新生物入院自足率と悪性新生物の SMR では、有意水準 5% では、有意の相関は得られない (表 5)。これは、悪性新生物の罹患率が地域により大きく異なっている為と考えられる<sup>10)</sup>。なお、昭和 60 年の宮城県の保健所管区別新生物入院自足率と昭和 55 年の年齢調整癌罹患率との関係をみると相関係数は 0.34 と低い値であった。

なお、厚生省は精神障害については都道府県全県一區で対応するとしているが、地域における精神科の医療体制については保健所単位の<sup>11)</sup>あるいは数保健所単位<sup>12)13)</sup>がよいとの議論があるところであり、我々としては、精神障害についても 2 次医療圏単位で対応すべきであるとの立場をとりたい。医療計画では、結核は全県一區で対応するものとされる。今回我々が対象とした人口 200 万程度の都道府県では、一県内には 1,000 名以上の結核入院患者が存在するところではなかった。

#### IV. 結 論

2 次医療圏の評価の指標として、加重平均入院

自足率を、次の様なものとして定義する。すなわち、その地域における入院患者の内、その地域内で受療しているものの割合、これを入院自足率と呼び、主要な疾病ごとに測定する。主要な疾病とは各都道府県内で 1,000 名以上の入院患者がいるものとする。ついで、疾病ごとの入院自足率を入院患者数で加重平均し加重平均入院自足率を得る。この指標は、我々がこれまで使用してきた新生物入院自足率による評価と比較して以下の 2 点で優れていると考えられる。第 1 に、より総合的な指標であること。第 2 に、新生物入院自足率が悪性新生物の SMR と有意の相関を示さなかったのに対し、本指標は、脳血管疾患の男女と心疾患の女性で有意の相関が得られており、加重平均入院自足率が高いほど死亡が少ないという結果であり、より医療の実態を示しうる指標となっていると思われる点である。

本稿の要旨は平成 7 年 6 月の第 18 回日本プライマリ・ケア学会<sup>14)</sup>、及び、同年 10 月の第 33 回日本病院管理学会<sup>15)</sup>にて発表した。

#### 文 献

- 1) 長井吉清, 佐竹宣明, 濃沼信夫: 疾病別入院・外来患者流動を指標とした医療機能の地域集積の把握について—宮城県および奈良県について—, 病院管理, 29(3), 187-195, 1992.
- 2) 長井吉清, 濃沼信夫: 疾病別入院・外来患者流動を指標とした医療機能の地域集積の把握について(第 2 報)—長野県について—, 病院管理, 30(4), 297-304, 1993.
- 3) 長井吉清, 濃沼信夫, 藤咲 暹: 宮城県における 2 次医療圏の設定と評価, 病院管理, 28(2), 159-166, 1991.
- 4) 長井吉清, 濃沼信夫: 疾病加重入院自足率による 2 次医療圏の評価, 日本公衆衛生雑誌, 41(10), 特別付録, 450, 1994.
- 5) 厚生省健康政策局計画課: 医療計画必携, 33; 41; 97; 133, 厚健出版, 1991.
- 6) 島田直樹, 近藤健文, 福島靖正: 二次医療圏における医療の現状, 日本公衆衛生雑誌, 40(10), 特別付録, 509, 1993.
- 7) 長井吉清, 濃沼信夫: 疾病別入院自足率変化から見た医療圏—宮城県, 長野県, 奈良県—, 日本公衆衛生雑誌, 40(10), 特別付録, 518, 1993.
- 8) 寛 和夫, 菅野 実, 高野 昭: がん医療施設の体系的整備に関する研究—医療圏・施設機能・施

- 設連関一, 病院管理, 16(4), 41-50, 1979.
- 9) 長井吉清, 濃沼信夫: 癌登録におけるDCOの率と胃癌検診受診率, 新生物入院患者紹介割合との関係について, 日本公衆衛生雑誌, 40(7), 567-570, 1993.
- 10) 長井吉清, 濃沼信夫: 新生物入院自足状況の悪い医療圏におけるがん死亡率格差の要因について, 日本癌学会総会記事, 第52回, 688, 1993.
- 11) 山元早苗, 藤井千恵子, 笹田佐代子, 森岡宗一, 高常 憲: 精神障害者が地域で生活するための支援活動と地域ネットワークの一考察, 日本公衆衛生雑誌, 40(10), 特別付録, 1031, 1993.
- 12) 山崎洋美, 庄野美智子, 升井孝子, 岩壁優子, 宇座美代子: 精神障害者への支援ネットワークづくり, その1—“ぐんせいれん”の取り組み—, 日本公衆衛生雑誌, 40(10), 特別付録, 1059, 1993.
- 13) 庄野美智子, 山崎洋美: 精神障害者への支援ネットワークづくり, その2—ほのほの100人運動—, 日本公衆衛生雑誌, 40(10), 1060, 1993.
- 14) 長井吉清, 濃沼信夫: 加重平均入院自足率を用いた2次医療圏の機能評価, プライマリ・ケア, 18; suppl., 181, 1995.
- 15) 長井吉清, 濃沼信夫: 青森県における疾病別入院患者の流動, 病院管理, 32; suppl., 52, 1995.

(平成8. 6.17 受付)

## ASSESSMENT OF MEDICAL AREAS USING A WEIGHTED AVERAGE SELF-SUFFICIENT RATE FOR INPATIENTS

Yoshikiyo NAGAI and Nobuo KOINUMA\*

As an index for evaluating secondary medical areas, we define weighted average self-sufficient rate of inpatients as follows: among inpatients dwelling within a secondary medical area, we get a percentage of inpatients hospitalized in hospitals within the secondary medical area for main diseases, i.e. diseases which have more than 1000 inpatients within a prefecture, and we call the percentage self-sufficient rate of inpatient. And then self-sufficient rates for main diseases are weighted averaged with the number of inpatients to get the weighted average self-sufficient rate. This index is thought superior to our former index, i.e. self-sufficient rate of inpatients with diagnoses of neoplasm, on two following points: one is this is more comprehensive, the other is, while that showed no significant correlation with SMR of malignant neoplasm, this shows significant correlation with SMR of cerebral hemorrhage and female cardiac disease. This correlation, the higher this index, the less death rate, shows this index reflects performance of the medical system better than our former index.

---

Key word: medical area/Assessment/Weighted average self-sufficient rate for inpatients

---

Division of Psycho-oncology, Research Institute, Miyagi Cancer Center

\* Department of Hospital and Health Care Management, Tohoku University, School of Medicine

平成 8 年度

厚生省がん研究助成金による

**地域医療計画からみた地域がん診療  
施設の整備拡充に関する研究**

がん患者におけるインフォームド・  
コンセントに関する研究

平成 9 年 3 月

宮城県立がんセンター 班 員 長 井 吉 清

## I. はじめに

がん患者のQOL向上にむけて、まずインフォームド・コンセント（IC）の在り方を追求する必要がある。がん患者におけるICとしては、病名告知、治療法の選択、予後告知等の局面が考えられる。そして、予後告知については、5年生存率による告知、余命何か月との告知、予後不良の告知等の局面がある。本研究においては、まず病名告知と治療法の選択をとりあげ、当院の外来患者3,000余名にアンケートを行った。ついで、春と秋の2回にわたり全入院患者の患者登録画面と病名オーダ画面を出力し、病名告知の在り方とQOLとの関係につき検討した。さらに、当院の医師とコントロールとして仙台厚生病院の医師に予後告知に関するアンケートを行い予後告知の現状につき検討した。

## II. 方法

- 1) 外来患者アンケート：表1のアンケート用紙により、初診外来患者及び3か月以上の間において受診した再来初診患者にアンケートを行った。アンケート用紙は外来カルテに綴じこみ臨床スタッフが患者の回答を知ることができるように配慮した。集計は初診患者名簿、および再来初診患者名簿により、外来カルテを出庫してアンケート用紙を探しだし、回答をコンピュータに入力して集計した。
- 2) 入院患者調査：院内コンピュータシステムにより春と秋の2回にわたり全入院患者の患者登録画面と病名オーダ画面を出力した。ID番号により重複を修正した後、がん患者で患者登録画面のQOLの指標となる8項目（疼痛、食欲、睡眠、活動、心理、社会、症状、家族：各々5点満点のリッカート・スケール）と病状説明の在り方（本病名、偽病名、症状のみ、治療のみ、説明なしの5カテゴリー）に入力抜けのない410名につき、一元配置の分散分析により、8項目およびその総和（QOL合計）と病状説明の在り方との関係を調べた。有意水準は5%とした。
- 3) 予後告知アンケート：表2のアンケート用紙により当院の医師47名と、コントロールとして仙台厚生病院を選び、仙台厚生病院の専任医師の中でがん患者を診療する4科（内科、外科、消化器科、放射線科）の医師21名に回答を依頼した。回答は、全体と内訳で数値のあわない回答があるため、数表により矛盾する数値となっている場合がある。

## III. 結果および考察

- 1) 外来患者アンケート：初診外来患者および再来初診患者3,331名にアンケートを行った。回答数は2,453名（回答率73.6%）である。男性1,100名、女性1,353名から回答が得られた。平成5年度および平成6年度の初診外来患者全体と標本年齢の構成分布を比較したのが図1である。標本は、再来初診患者が含まれるため、がん年齢の50歳から70歳で構成割合が多く、10歳から40歳で構成割合が少ないことがわかる。同じく、標本と平成5年度および平成6年度の初診外来患者全体との男女別統計を示したのが表3である。全体に比べて標本は平均値で3歳程度年老いているのが分かる。また、性比から女性の割合が増えていることが分かるが、これは平成5年度から平成7年度への傾向のみによるのではない（標本は平成7年度が主要部分であるが、平成7年度の全体は性比が90.1である）。

「質問Ⅰ：病名について」では、「正確に知らせて欲しい」が95.4%、「誰にも知らせて欲しくない」と「その他」が各々0.7%、回答不明が3.2%であった。「自分か家族か」では、自分だけに知らせて欲し

い12.0%、自分と家族に知らせて欲しい73.7%、家族だけに知らせて欲しい12.9%、回答不明が1.5%であった。この「自分か家族か」は、回答者の年齢に関係しており15歳以上30歳未満で「自分と家族に」が80%と最も多く、それより年齢が上がっても下がっても「自分と家族に」は減少する。また、「自分だけに」は、30歳以上45歳未満で16%と最も多く、それより年齢が上がっても下がっても「自分だけに」は減少する。また、「家族だけに」は、15歳以上30歳未満が5%と最も少なく、それより年齢が上がっても下がっても「家族だけに」は増加する(図2)。この「家族だけに」は、「誰にも知らせて欲しくない」とともに告知拒否を示していると考えられ、特に注意する必要がある。

「質問Ⅱ：検査、治療について」では、「積極的に」59.9%、「一般的な」28.9%、「簡単な」4.1%、「その他」1.5%、回答不明5.5%であった。検査・治療に対する積極性は「自分か家族か」と関係しており、積極的な人は「自分と家族に」が多い。それに対して、消極的な人は「自分だけに」あるいは「家族だけに」が多い(図3)。また、積極的な人は男性に多い傾向が認められる(図4)。回答者の年齢と積極性の関係は、45歳以上60歳未満に積極的な人のピークがあり、69%でその後は年齢とともに53%まで減少する。また、「簡単な」検査・治療を希望する人は75歳以上にピークがあり10%である(図5)。

今回のアンケートは、今回で終わりというようなものではなく、人文科学部の業務として継続していきたい。そのことが、個々の患者の病名告知、検査や治療についての希望を知ることにつながり、よりよきICの手掛かりとなると考えられる。

2) 入院患者調査：410名の年齢は17歳から93歳、平均62.5歳、標準偏差は12.6歳、男性242名、女性168名で性比は144.0である。8項目およびその総和の間の相関係数行列は表4の通りである。家族は全体のQOLの中で少し次元の異なったものを見ていること、また、症状はQOL合計に近いことが分かる。8項目のリッカート・スケールとしての内的一貫性を示すクローンバッハの $\alpha$ 信頼性係数は0.825であった。図6は、X軸に病状説明の在り方を治療のみ83名、偽病名80名、本病名による病名告知193名、説明なし5名、病状のみ49名を割り当て、Y軸に食欲の項目の得点の平均と標準偏差を示したものである。このとき、病名告知率は47%となる。本病名による病名告知がなされている場合に食欲が高く、偽病名による説明と説明なしは食欲が低く、治療のみと症状のみの説明では食欲が中間の値である事が分かる。今回調べた410名に関しては、8項目およびQOL合計の中では、この食欲の項目以外では有意差を認めなかった。

しかしながら、分析を進めると次のようなことが分かった。図7は、年齢がどのようにX軸のグループ間で異なっているかチェックしたものであるが、本病名による病名告知を行っているグループでは年齢が若いという結果である。このように年齢が若い人に病名告知を行っている事は、合理的なことであるとも言える。即ち、若くて平均余命が長い人にこそ病名告知が必要であり、年老いて平均余命が残りの少ない人には、わざわざ病名告知する意味が本当にあるのかということになると思われるからである。これは、告知をする医療サイドの見方である。また、患者本人の側の要因も考えられる。図2で見たとおり、高齢者では、自分は聞きたくない、病名告知しないで欲しいという人が増えているということである。これらの、医療サイド患者サイドの要因の結果として図7の結果が引き起こされていると考えられる。

年齢による有意差を除外した形で、分析を進めるため、65歳以上の200名と64歳以下の210名の2群に分けて分析を進めた。このとき、説明なしの5名は1名が64歳以下、4名が65歳以上となる。65歳以上

につき一元配置の分散分析で性別の有意差検定を行うと危険率P値0.03となったので、特に女性の割合の多い説明なしの4名を除き、196名につき分析した。64歳以下については説明なしが1名のみなので、これを除き209名につき分析した。

まず、65歳以上であるが、図8は、X軸に病状説明の状況を治療のみの説明46名、偽病名による説明52名、本病名による告知70名、病状のみの説明28名を割り当て、QOL合計の平均と標準偏差をY軸に目盛ったものである。このとき、病名告知率は36%となる。図より、本病名による告知が行われている場合にQOL合計が高いことが分かる。また、図9は、X軸は図8と同一であるがY軸に食欲の平均と標準偏差を目盛ってある。本病名による告知が行われている場合に食欲が高く、偽病名による説明が行われている場合に食欲が低いことがわかる。

つぎに、64歳以下で8項目とQOL合計のなかで、唯一つ有意差が認められたものとして、図10を挙げる。図は、X軸に治療のみの説明37名、偽病名による説明28名、本病名による告知123名、病状のみの説明21名を割り当て、Y軸にQOLの指標となる項目の中から症状の項目の平均と標準検査を目盛ったものである。このとき病名告知率は59%となる。本病名による告知が行われている場合にQOLが高いという結果である。

以上検討した全ての場合において見い出されたことは、本病名による告知が行われている場合にQOLが高いという結果であり、その逆は決して見い出されなかった。このことから、ICを行う事はQOLを高めることに繋がることと示されたと考えられる。しかし、これは当院においてのデータ分析の結果であり、他病院の環境下でも同一の結果が得られるかどうかは不明である。また、今回の分析は8項目程度のQOLスケールによるものであり、今日一般的に用いられる20ないし30項目程度のQOLスケールを用いても同様の結果が得られるかどうかについても不明である。

3) 予後告知アンケート：アンケートの回収率は表5に示すとおり50%である。アンケートの回答を積算して得られる受け持ち入院患者総数は、当院195名、仙台厚生病院166名である。これは、各々の病院の病床数の55%、64%にあたる。また、回答医師一人当たりの受け持ち入院患者数の平均は当院8.5名、仙台厚生病院15.1名である。各々の病院の医師一人当たりの病床数は7.5床、12.2床である。表6に入院患者中の悪性新生物患者数割合、および悪性新生物患者中の末期患者割合を示す。

悪性新生物患者に対する病状説明の在り方を表7に示す。図6の説明で述べた病名告知率と47%と一致しないが、これは、410名のデータは入力されてから出力されるまで平均15.9日、標準偏差19.9日経過した古いデータであり（出力時で入院日数は平均48.9日、標準偏差52.5日）それに対して医師アンケートは最新のデータであるための違いであると考えられる。仙台厚生病院では32%とわが国の平均的告知率29.5%<sup>11)</sup>にはほぼ一致している。それに対して、当院では67%と倍以上の告知率である。

末期悪性新生物患者に対する病状説明の在り方を表8に示す。仙台厚生病院で26%の病名告知率、それに対して当院では53%と倍以上の告知率である。末期患者では当院の場合、治療法のみの方が24%もとられていることが分かる。仙台厚生病院では主に偽病名で対応している事が分かる。

本病名による告知を受けた悪性新生物患者に対する予後告知の在り方を表9示す。当院では余命何か月という告知は行われていない事、これに対して仙台厚生病院では12%行われていることが特徴的である。余命何か月という神の宣告にも等しい、衝撃的で誤りの有り得る告知法には問題があると思われる。

それに対して、5年生存率による告知が望ましいと考えられる。当院においても50%はこの方法で告知されている。しかし、仙台厚生病院で4割、当院で3割は予後には触れられていない。5年生存率による告知もその値が低くなるに連れて出来なくなるためと考えられる。

本病名による告知を受けた末期悪性新生物患者に対する予後告知の在り方を表10に示す。5年生存率による告知も難しく、ただ予後不良との告知が、当院でも仙台厚生病院でも6割であることが分かる。

最後に、予後告知に関する医師たちの意見を表11に示す。ケース・バイ・ケースが6割を占めているが、予後告知は行うべきでないとする医師はいないこと、当院の方に当然行うべきだとする医師が1割いることが特徴的である。

#### IV. 参考文献

- 1) 濃沼信夫、伊藤道哉、陳霞芬、井上智子、関田康慶、長井吉清：がんの病名告知と予後診断について。  
心身医学、36：抄録号、148、1996.
- 2) 長井吉清、涌井昭、山室誠：インフォームド・コンセントに関する研究。  
プライマリ・ケア、19：suppl.,143,1996.
- 3) 長井吉清、涌井昭：病状説明の在り方とQOLとの関係の一考察。  
日本癌治療学会誌、31(8),605,1996.

#### V. 図表

表1) 外来患者アンケート

<b>新しく当院を受診される方々へ</b>									
<p>当院では“がん”あるいはそれに似かよった治療の困難な病気も診療の対象としています。そのために当院を受診される患者さんならびにご家族の方のご意見やご希望をより十分聞きすることが重要であると考えております。そこで、今回みなさまが受診される機会にいくつかの質問をさせていただきます。</p> <p>質問への回答はあくまで自由な記入をたてまえとしておりますので、提出していただいた後でも訂正、変更、取り消しなどいつでも自由です。</p> <p>なお、この内容は厳重に秘密保持されますので、ご安心ください。</p>									
<b>質問 I：病名について</b>									
<p>今回、診療の結果、“がん”あるいは“悪性腫瘍”など少々、治療の困難な疾患と診断された場合、特にその病名についてあなたはどのようなお考えをお持ちですか。次の回答から選んでください。</p>									
<input type="checkbox"/> 病名は <table style="display: inline-table; vertical-align: middle; border: none;"> <tr> <td style="padding: 0 5px;">{</td> <td style="padding: 0 5px;"> <input type="checkbox"/> 自分だけに  <input type="checkbox"/> 自分と家族に  <input type="checkbox"/> 家族だけに                 </td> <td style="padding: 0 5px;">}</td> </tr> </table>	{	<input type="checkbox"/> 自分だけに <input type="checkbox"/> 自分と家族に <input type="checkbox"/> 家族だけに	}	正確に知らせてほしい。					
{	<input type="checkbox"/> 自分だけに <input type="checkbox"/> 自分と家族に <input type="checkbox"/> 家族だけに	}							
<input type="checkbox"/> 病名はだれにも知らせてほしくない。 <input type="checkbox"/> その他：									
<b>質問 II 検査、治療について</b>									
<p>最近の医学ではいろいろの方法による検査あるいは治療がおこなわれています。それらについてのお考えをお知らせください。</p>									
必要な検査及び治療は <table style="margin-left: 20px;"> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>全く新しい方法も含め、あらゆる方法を積極的に受けたい。</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>ごく一般的な方法で診断、治療を受けたい。</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>できるだけ簡単な方法だけにしたい。</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>その他：</td> </tr> </table>		<input type="checkbox"/>	全く新しい方法も含め、あらゆる方法を積極的に受けたい。	<input type="checkbox"/>	ごく一般的な方法で診断、治療を受けたい。	<input type="checkbox"/>	できるだけ簡単な方法だけにしたい。	<input type="checkbox"/>	その他：
<input type="checkbox"/>	全く新しい方法も含め、あらゆる方法を積極的に受けたい。								
<input type="checkbox"/>	ごく一般的な方法で診断、治療を受けたい。								
<input type="checkbox"/>	できるだけ簡単な方法だけにしたい。								
<input type="checkbox"/>	その他：								
<p>ご協力ありがとうございました。回答内容は慎重に検討され、みなさまの診療に役立てられます。また、あらかじめお約束のように本内容はいつでも訂正、変更、取り消しが可能ですので、当院の職員にお申し出ください。</p> <p>なお、このような調査はご家族の方にもお願いすることになっておりますが、あくまでご本人のお考えが優先いたしますこととお約束いたします。</p>									
平成    年    月    日	患者さん氏名 _____ 年令    才								

表2) 予後告知アンケート

平成8年7月8日  
新潟県立がんセンター新潟病院臨床部長 佐々木壽英  
宮城県立がんセンター研究所人文学部 長井吉清

宮城県立がんセンター医療局各位殿

予後告知に関するアンケート

厚生省がん研究助成金「地域医療計画からみた地域がん診療施設の整備拡充に関する研究(佐々木班)」ではインフォームド・コンセントに関する研究も行っております。このアンケートは、その研究のために企画されました。忌憚のないご意見をお寄せください。ご記入いただいたアンケートは、7月19日(金)までに、医局の菊地さんまでご提出ください。

- 7月15日現在、先生が主治医となって受け持たれている入院患者は何名ですか?  
名 ( )
- その入院患者の中に悪性新生物の患者は何名おられますか? そのうち余命6ヶ月以内の末期患者の人数を( )内にご記入ください。  
名 ( )
- その悪性新生物患者のうち本人への病名説明の状況はいかがでしょう? そのうち余命6ヶ月以内の末期患者の数を( )内にご記入ください。
  - 本病名による告知  
名 ( )
  - 偽病名による告知  
名 ( )
  - 治療法の説明のみ  
名 ( )
  - 症状の説明のみ  
名 ( )
  - 説明無し  
名 ( )
- 病名告知を受けた悪性新生物患者のうち本人への予後告知の状況はいかがですか? そのうち余命6ヶ月以内の末期患者の数を( )内にご記入ください。
  - 余命何ヶ月と告知してある  
名 ( )
  - 余命何ヶ月とはいわないが予後不良と告知してある  
名 ( )
  - 余命何ヶ月とはいわないが5年生存率何%と説明してある  
名 ( )
  - 手術前であり、悪性の疾患だが根治手術が可能な場合もあると説明してある。  
名 ( )
  - 病名を告知しただけで予後については触れていない  
名 ( )
- 予後告知に関して先生のご意見に最も近いものを1つ選び番号に丸をつけてください。
  - 予後告知には反対である。行うべきではない。
  - 予後告知には原則的に反対だが、事情により行うべき場合もある。
  - 予後告知をできるだけ行うように努力している
  - 予後告知は、インフォームド・コンセントの大事な1つであり、当然行うべきである。
  - ケース・バイ・ケースである。
- 予後告知に関するご意見がありましたらお書きください。

図1) 標本の年齢構成

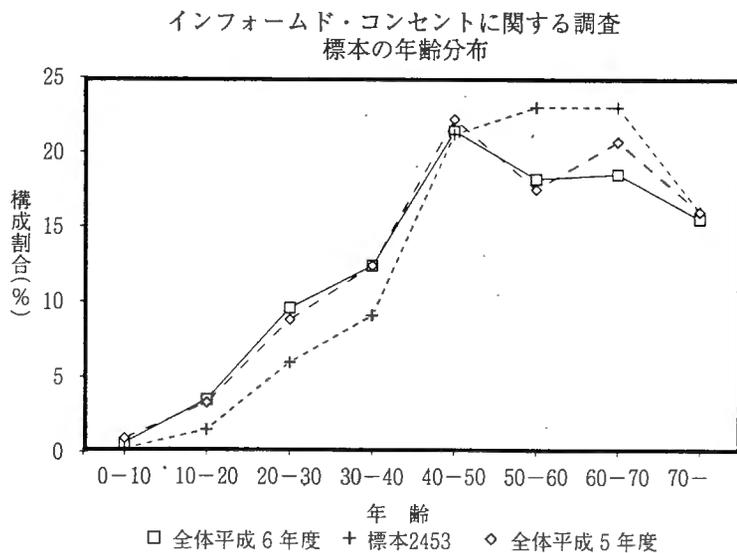


表3) 標本の男女別構成

	年齢と人数			性比
	男性	女性	合計	
標本	55.8±14.9歳 1100名	52.3±15.7歳 1353名	53.9±15.4歳 2453名	81.3
全体平成6年度	52.7±17.6歳 1410名	48.6±17.2歳 1558名	50.6±17.5歳 2968名	90.5
全体平成5年度	51.6±17.5歳 1525名	49.5±17.1歳 1530名	50.5±17.3歳 3055名	99.7

図2) 病名を誰に伝えて欲しいかと回答者年齢の関係

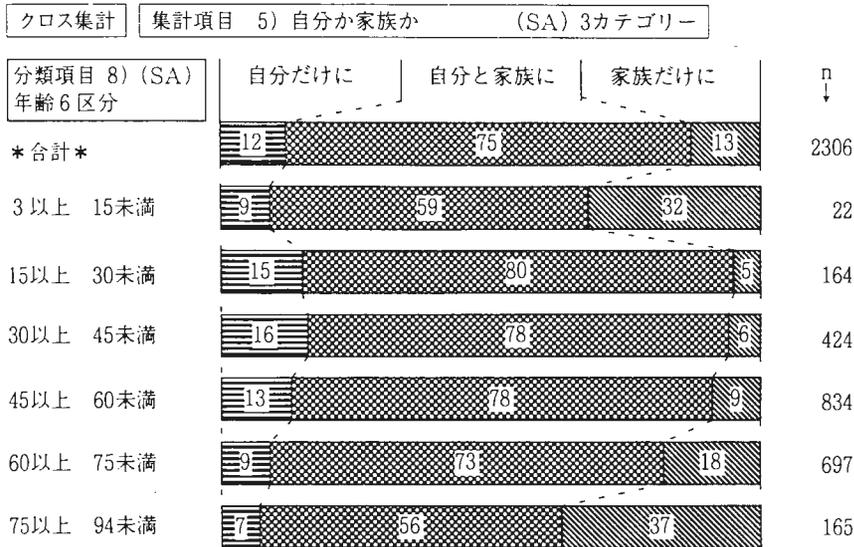


図3) 病名を誰に伝えて欲しいかと検査治療への積極性の関係

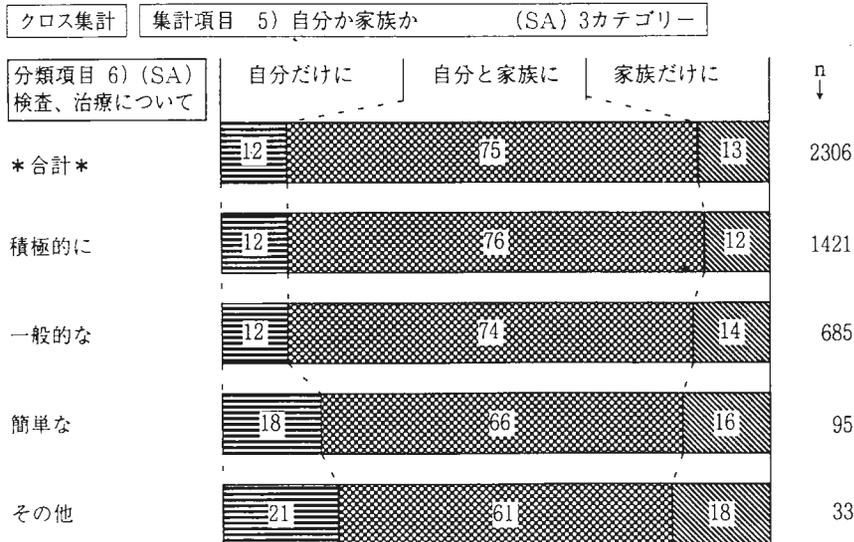


図4) 検査治療への積極性と性別

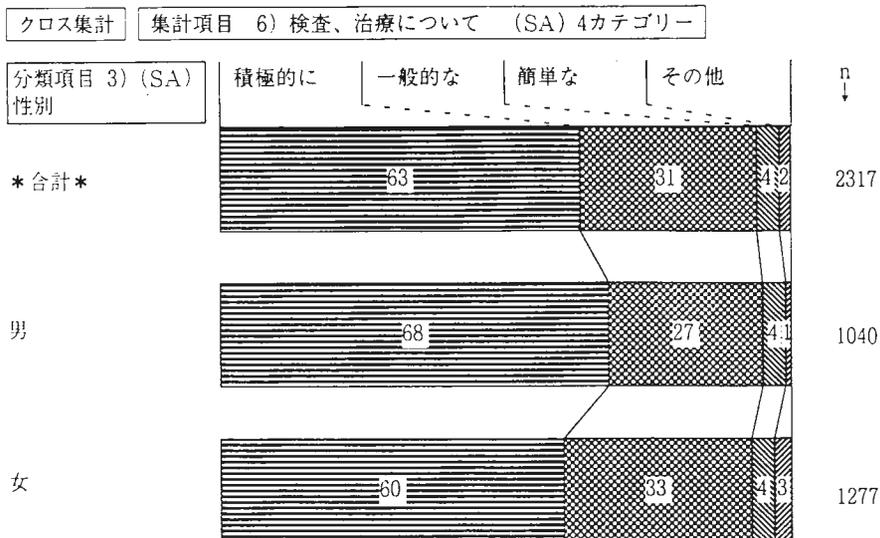


図5) 検査治療への積極性と回答者年齢の関係

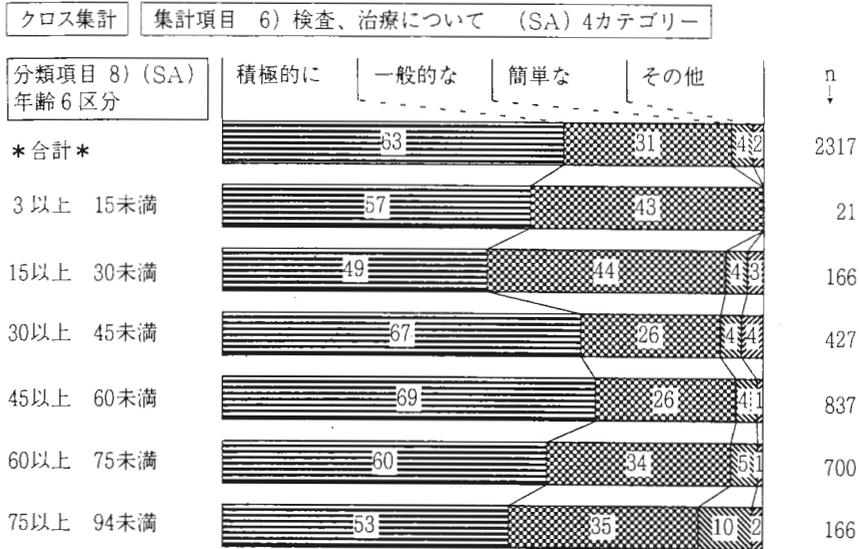


表4) QOLの指標となる8項目およびその総和(QOL)の相関係数

★相関係数行列

6 PAIN	1.00000							
7 APPETITE	0.35042	1.00000						
8 SLEEP	0.34650	0.40276	1.00000					
9 ACTIVITY	0.38167	0.53646	0.33763	1.00000				
10 PSYCHOLO	0.36698	0.35043	0.40158	0.36167	1.00000			
11 SOCIETY	0.27310	0.32149	0.35135	0.36472	0.65515	1.00000		
12 SYMPTOM	0.59481	0.49415	0.43002	0.42241	0.41063	0.31460	1.00000	
13 FAMILY	0.19541	0.19504	0.24330	0.24923	0.38590	0.47576	0.26413	1.00000
14 QOL	0.65932	0.70172	0.63431	0.70317	0.71271	0.68896	0.73823	0.73823
	PAIN	APPETITE	SLEEP	ACTIVITY	PSYCHOLO	SOCIETY	SYMPTOM	
13 FAMILY	1.00000							
14 QOL	0.53450	1.00000						
	FAMILY	QOL						

図6) 食欲と病状説明の在り方の関係

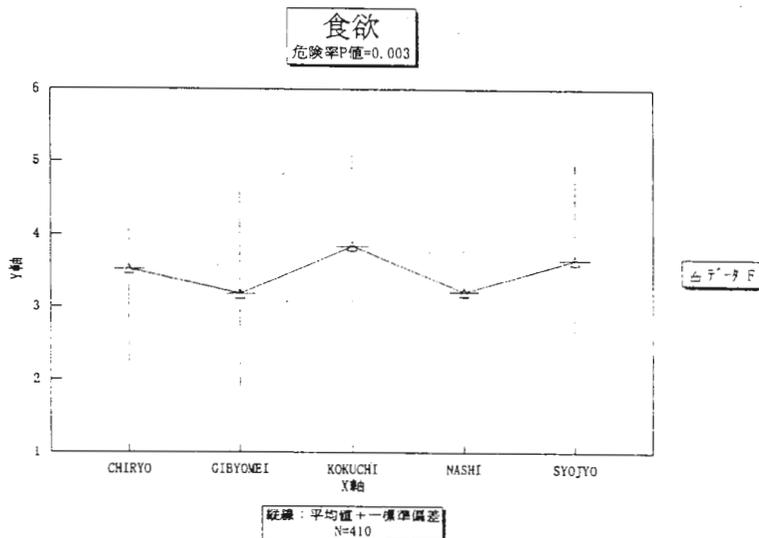


図7) 年齢と病状説明の在り方の関係

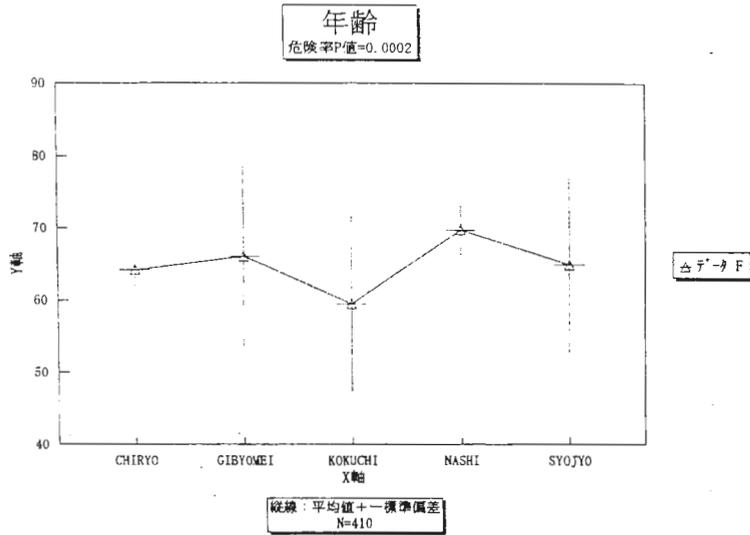


図8) QOL合計と病状説明の在り方との関係 (65歳以上)

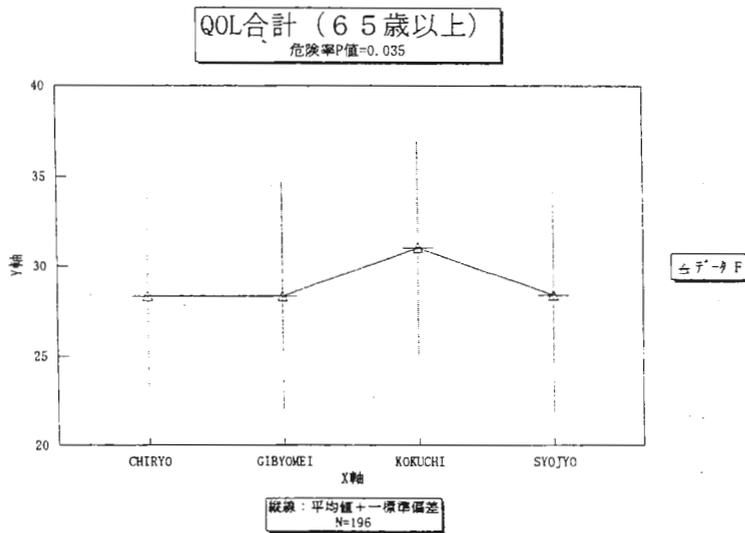


図9) 食欲と病状説明の在り方との関係 (65歳以上)

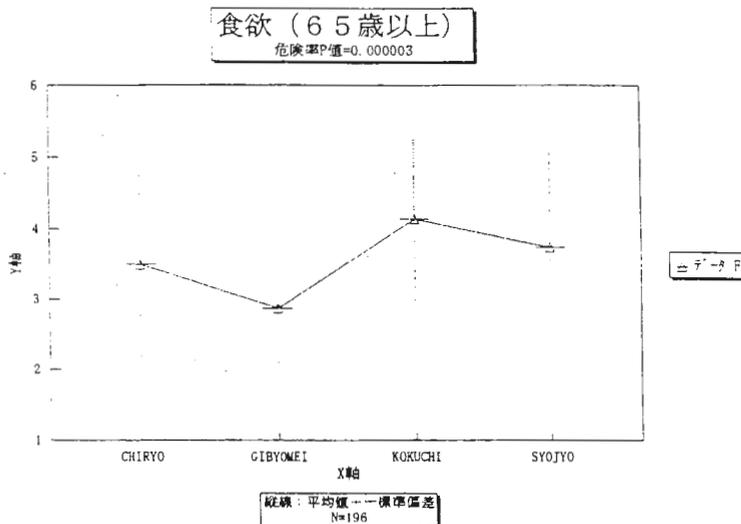


図10) 症状と病状説明の在り方との関係 (64歳以下)

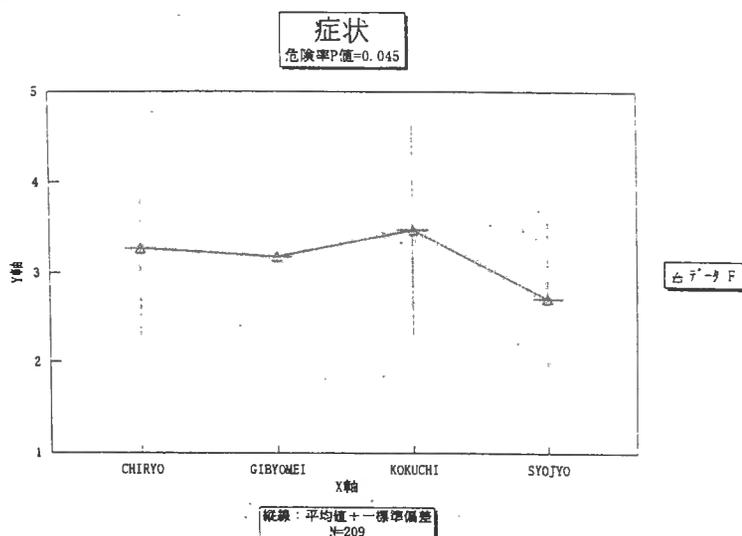


表5) 予後告知アンケート回収率等

	がんセンター	厚生病院	合計
アンケート対象医師数	47	21	68
回答数	23	11	34
回収率	49%	52%	50%
積算入院患者数	195	166	361
回答者一人当たり入院患者数	8.5	15.1	10.6

表6) 末期患者数割合等

	がんセンター	厚生病院	合計
積算入院患者数	195	166	361
悪性新生物入院患者数	163	117	280
悪性新生物患者数割合	83.6%	70.5%	77.6%
末期悪性入院患者数	31	35	66
悪性新生物中末期患者数割合	19%	30%	24%

表7) がん患者に対する病状説明の在り方

悪性新生物患者に対する病状説明の在り方	がんセンター		厚生病院		合計	
	患者数	割合(%)	患者数	割合(%)	患者数	割合(%)
本病名による告知	114	67	37	32	151	53
偽病名による説明	32	19	76	65	108	38
治療法の説明のみ	13	8	1	1	14	5
症状の説明のみ	9	5	2	2	11	4
説明なし	1	1	1	1	2	1
悪性新生物患者全体	169	100	117	100	286	100

表8) 末期がん患者に対する病状説明の在り方

末期悪性新生物患者に対する病状説明の在り方	がんセンター		厚生病院		合計	
	患者数	割合(%)	患者数	割合(%)	患者数	割合(%)
本病名による告知	18	53	9	26	27	39
偽病名による説明	5	15	26	74	31	45
治療法の説明のみ	8	24	0	0	8	12
症状の説明のみ	3	9	0	0	3	4
説明なし	0	0	0	0	0	0
末期悪性新生物患者全体	34	100	35	100	69	100

表9) 病名告知を受けたがん患者に対する予後告知の在り方

本病名による告知を受けた悪性新生物患者に対する予後告知の在り方	がんセンター		厚生病院		合 計	
	患者数	割合(%)	患者数	割合(%)	患者数	割合(%)
余命何か月と告知	0	0	4	12	4	3
予後不良と告知	14	14	9	26	23	17
5生率で告知	49	50	6	18	55	42
手術前であり根治可能な場合もあると説明	5	5	0	0	5	4
予後には触れず	30	31	15	44	45	34
本病名による告知を受けた悪性新生物患者全体	98	100	34	100	132	100

表10) 病名告知を受けた末期がん患者に対する予後告知の在り方

本病名による告知を受けた末期悪性新生物患者に対する予後告知の在り方	がんセンター		厚生病院		合 計	
	患者数	割合(%)	患者数	割合(%)	患者数	割合(%)
余命何か月と告知	0	0	3	27	3	11
予後不良と告知	10	59	6	55	16	57
5生率で告知	3	18	1	9	4	14
手術前であり根治可能な場合もあると説明	1	6	0	0	1	4
予後には触れず	3	18	1	9	4	14
本病名による告知を受けた末期悪性新生物患者全体	17	100	11	100	28	100

表11) 予後告知に対する医師の意見

予後告知に関する医師の意見	がんセンター		厚生病院		合 計	
	医師数	割合(%)	医師数	割合(%)	医師数	割合(%)
予後告知には反対である。行うべきではない。	0	0	0	0	0	0
予後告知には原則的に反対だが、事情により行うべき場合もある。	2	9	2	18	4	12
予後告知をできるだけ行うように努力している	3	13	1	9	4	12
予後告知はICの大事な1つであり、当然行うべきである。	2	9	0	0	2	6
ケース・バイ・ケースである。	13	57	6	55	19	56
無 回 答	3	13	2	18	5	15
医 師 数 合 計	23	100	11	100	34	100

### 3. 胆嚢癌

おおうち きよあき  
大内 清昭

宮城県立がんセンター 外科

#### 胆嚢癌の診断

集団検診や人間ドックにおける超音波 (US) 検診により胆嚢隆起性病変や壁肥厚などを指摘され、精密検査のうえ胆嚢癌が早期に発見されるようになってきている。落合ら<sup>1)</sup>によれば、US検診受診者のうち12.0%に何らかの異常所見を認め、精密検査後0.008%に癌が発見され、すべて隆起性病変であった。精密検査の方法としては超音波内視鏡 (EUS) が有用であるが、施行可能施設が少ないこと、精検受診率が低いことを問題点として指摘している。US検査により早期胆嚢癌の存在診断は飛躍的に進歩したが、その正確な深達度診断は今なお困難である。胆嚢早期癌である粘膜内癌m癌および固有筋層までのpm癌と、漿膜下層まで浸潤の及ぶss癌およびそれ以深のse, si癌の間には進展度、切除術式、遠隔成績に大きな差がみられ、その術前鑑別診断はきわめて重要である。岡庭ら<sup>2)</sup>は画像による深達度診断に反映させることを目的に、早期胆嚢癌とss癌との臨床病理学的検討を行い、画像診断にて肉眼型がI p型ではm癌の可能性が、広基性隆起で基部の大きさが10mm以下の病変およびII a様隆起で基部径15mm以下である病変はmまたはpmの早期癌である可能性が高いと報告している。一方、ss癌では基部径が10mm以下のものは認めずII a様隆起のものに限ると、いずれも15mm以上であったとしている。しかし、II a, II bまたはII a+II bの表面型早期胆嚢癌の存在診断は

依然として困難である。木村ら<sup>3)</sup>はEUSの有用性を指摘しており、表面型早期癌8例中4例(II a+II b型3例, II a型1例)で描出可能であり、USではEUSで病変が指摘された後の再検時描出が可能であった2例を含む3例でのみ描出可能であったとしている。純粋II b型, 小型II a型ではEUSをもってしても描出困難であり、今後の問題として提起している。

一方、進行胆嚢癌においては、肝側および肝十二指腸間膜側への進展の診断が大切であり、CT, MRI, 血管造影などの総合診断が必要となるが、進展範囲の正確な診断は依然として容易ではない。權ら<sup>4)</sup>は高速らせん(spiral)CTを用いた3D-CT cholangiographyを胆嚢癌にも応用し、多断面再構成像や高精度の三次元構成像が得られることから、肝浸潤範囲や胆管への浸潤形態の把握が非侵襲的により正確に可能であることを報告している。また、Kanekoら<sup>5)</sup>は門脈浸潤の有無、程度の判定のために、術前に門脈内USを6例の胆嚢癌を含む30例の膵胆道癌症例に施行し、鋭敏度100%, 特異度93.3%, 正診率96.7%と、門脈造影, CTよりも優れていたと報告しており、これらの追試および普及が待たれるところである。

我が国を除く諸外国の論文では、早期癌の診断に言及したものは少ない。進行癌で診断されるものがほとんどであるためであり、Chaoら<sup>6)</sup>によればNevinのstage Vが全症例の75%を占めていたにもかかわらず、術前正診率は29.7%のみであり、

US, CTの診断能はそれぞれ34.0%, 40.9%であった。

### 予後規定因子について

Nishizawa-Takanoら<sup>7)</sup>の76例(stage I:15例, II:21例, III:21例, IV:19例)での検討では細胞増殖能の指標であるAgNOR countはより分化度の低いもの, 壁深達度の深いもの, リンパ節転移陽性例, 遠隔転移陽性例で高く, 壁深達度, リンパ節転移とともに独立した予後規定因子であると報告している。また, Pradeepら<sup>8)</sup>による87例(stage I:5例, II:5例, III:22例, IV:55例)での検討では, 腫瘤触知, 他臓器浸潤, T, N, M各因子, TNM stageおよび外科治療法が予後因子として選択され, 外科治療法としては切除が, たとえ非治癒切除でもbypassや単開腹より予後良好としている。これら2つの論文には対象症例のstageと予後因子の検討項目に大きな差が認められるものの, T因子, N因子が予後規定因子であるとの普遍的な共通点が明らかとされた点は興味深い。

### 外科的切除について

腹腔鏡下胆摘術が広範に施行されるようになり, 術後に胆嚢癌と初めて診断された症例での遠隔成績も集積されるようになった。術後早期のトラッカー挿入部位への転移, 癌性腹膜炎再発などが報告され<sup>9)</sup>, Wibbenmeyerら<sup>10)</sup>は胆嚢癌に対する腹腔鏡下手術は開腹手術に比較してきわめて予後が不良であるとしている。彼らは腹腔鏡下手術後の術後確診例においてはCISまたはpT1a(m)癌で胆嚢損傷のない場合に限り再開腹手術を要しないとしている。また, 胆嚢損傷による胆汁散布例ではCISにおいても, pT2(ss)癌では7例中6例が術後早期に再発していることから, 術前に胆嚢癌を疑わせる所見があれば腹腔鏡下手術は避けるべきであるとしている。胆摘術施行例の約1%に胆嚢癌が合併していることから, 疑診例に対する腹腔鏡下手術の適応は慎重であるべきと考える。ま

た, m癌以外の術後確診例に対しては積極的に開腹し, トラッカー穿刺経路の切除とともに癌の進展度に応じた根治的切除が不可欠である。

胆嚢癌には肝側への進展と肝十二指腸間膜の肝門側, 臍頭側への進展が指摘されており, 個々の症例により多様な進展様式をとるために標準術式なるものは存在しない。進展度に応じたさまざまな術式が提起されているが, 術前および術中US, 迅速病理組織検査を用いても正確な進展度診断は困難で, 術後の摘出標本の全割組織学的検索により明らかとなる場合も多い。retrospectiveな成績よりみての術式の選択が必ずしも現実に即さず, 過大または過小手術となる症例も少なからず存在する。

m癌ではリンパ節転移, 脈管侵襲はみられず, 単純胆摘術のみで良好な予後が期待できることは衆目の一致するところである。一方, pm以深の癌に対する術式に関しては議論のあるところである。pm癌では少ないながらも脈管侵襲を有する症例があることから(木下ら<sup>11)</sup>によればリンパ管侵襲ly, 静脈侵襲vともに36.4%にみられたとしている), 1群リンパ節郭清を伴う胆嚢壁全層切除術を施行すべきとするもの<sup>12)</sup>, 2群までのリンパ節郭清を伴う肝床切除術(胆嚢より約2cm離れた肝部分切除術)を施行すべきとするものなど認められる<sup>11,13,14)</sup>。pm癌ではこれら術式施行例の予後は良好である。

ss癌からは進行癌と定義され, 進展様式も多彩となり種々の手術術式が提唱されてはいるが, 5年生存率は50%を下回り不良となる<sup>11,15,16)</sup>。木下ら<sup>11)</sup>はss癌の進展様式を検討し, 肝十二指腸間膜内浸潤binf(+)<sup>25.0%</sup>, n(+)<sup>25.0%</sup>, ly(+)<sup>79.5%</sup>, v(+)<sup>87.2%</sup>, 神経浸潤pn(+)<sup>61.5%</sup>と報告しており, 肝床切除+胆管切除+R2を基本術式として考え, 2群リンパ節(Na13a, 8)転移陽性であれば臍頭十二指腸切除術(PD)を行うとしている。また, PDの適応として田代<sup>17)</sup>は術中肉眼的に12b<sub>2</sub>,

13a, 8のリンパ節に転移を認めた場合, 小倉ら<sup>18)</sup>は13aなどの膵頭周囲リンパ節転移が明らかな場合としている。内村ら<sup>15)</sup>は術中迅速診で12c陽性の症例では13b膵実質付着部に転移を認めるため積極的にPDを施行すべきとしている。吉川ら<sup>19,20)</sup>はss癌で癌占拠部位が底体部2領域以上を占めるか, 頸部にかかるものではそれぞれ68%, 46%にリンパ節転移がみられ, しかもこれらの半数以上は膵頭周囲リンパ節転移陽性であったこと, PD施行例の膵頭周囲リンパ節を標本上郭清しても転移リンパ節を含む小リンパ節が遺残し, ly, vによる侵襲もみられたことより<sup>21)</sup>, 肉眼的リンパ節転移の有無にかかわらずPDは不可欠であるとしている。一方, 転移リンパ節が膵へ浸潤していない限り転移があってもPDの適応としないとの考え方もあり, 大きく意見の分かれているところである。ss癌での肝切除範囲に関しBloechleら<sup>22)</sup>は癌腫が腹腔側であれば胆摘+郭清を, 肝床側ではS<sub>4</sub>+S<sub>5</sub>の区域切除を, 左近ら<sup>13)</sup>は腫瘍が胆嚢底部または体部に存在し, 肝内直接浸潤Hinf<sub>0</sub>では肝床切除を, 田代<sup>17)</sup>は肝床側に癌が存在し, Hinf<sub>1-2</sub>ではS<sub>4a</sub>+S<sub>5</sub>の肝区域切除を推奨している。また, 内村ら<sup>15)</sup>は胆嚢静脈がS<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>門脈枝末梢に流入していることから, 血行性転移を考慮してS<sub>4</sub>+S<sub>5</sub>+S<sub>8a</sub>の切除が適切であると報告してきたが, ss癌でもINFβ, γの症例では成績不良なため, 拡大肝右葉切除術を選択したほうがよいと述べている。

se, si癌ではn, hinf, binf, 脈管侵襲陽性の頻度もさらに高くなるため, より拡大した手術が必要とされるが, 遠隔成績はきわめて不良である。木下ら<sup>11)</sup>によればbinf(+)が52.0%, ly, v, pn(+)がそれぞれ100, 98.1, 88.9%であり, 吉川ら<sup>20)</sup>によればn(+)が71%と高率となり, n3以上も約25%に認められる。胆嚢癌のリンパ節転移経路はNo12b, 13aから16interに至る肝十二指腸間膜右側系と, 12aから8, 9を経て16 lateralやinterに至る左側系があり, No16の郭清は必須とされてい

る<sup>23)</sup>。また, binfは長軸方向にly, v, pnを介して広範に進展しており, 膵頭側ではPDが, 肝側では肝区域切除以上の肝切除(HPD)が必要との報告が多い。肝側進展に関しては肝床より肝へと進展している肝床型と, グリソン鞘に沿って肝門側に進展する肝門型に大別され, 主として前者では肝区域切除術を, 後者やHinf<sub>3</sub>では尾状葉切除を伴う拡大肝右葉切除術が合理的であるとしている<sup>11,20,24)</sup>。しかしながら, HPDは術後合併症や在院死の頻度が高く, その長期成績も満足すべき結果とはいえない。吉川ら<sup>20)</sup>によるHPD81例の手術成績は, 在院死亡率20%, 術後合併症発生率57%, 耐術例の5年生存率24%である。また, 永川ら<sup>16)</sup>によるHPD施行188例の全国調査結果では, 直接死亡率6.9%であり, 絶対治癒切除は48%と約半数で得られたものの, 5年生存率は18.1%と報告されている。在院死亡, 合併症発生率ともに2区域以上の肝切除併施例で特に高率であり, その適応決定は十分慎重であるべきであり, 施行予定例では合併症に対する対策が望まれる。Miyagawaら<sup>25)</sup>は主な術後合併症である肝不全と膵腸縫合不全を予防する目的で術前門脈塞栓術と二期的膵空腸吻合法を推奨している。

### 動注療法

斎藤ら<sup>26)</sup>はEEPによる肝動注後30~50Gyの外照射を行い, その後CDDP+FEMのリザーバー動注を施行する併用療法を行い, 25%の奏功率を得ている。6, 12, 18ヵ月生存率はそれぞれ64, 36, 18%であり, 期待できる局所療法であるとしている。Laiら<sup>27)</sup>はCDDP, 5Fuなどによる動注療法によりstage IVをIIへと縮小させた後根治手術を施行し, 3年無再発生存を得ている症例を報告している。

### おわりに

世界的にみても我が国における胆嚢癌の治療成績は誇るべきものであるが, 圧倒的に多い進行癌

に対する治療成績は依然として不良である。正確な進展度診断法の開発とともに合理的な手術術式

の選択, 有効な集学的治療法の確立のためのさらなる努力が必要である。

---

文 献

---

- 1) 落合まさ子, 北原史章, 高山一郎 他: 超音波検診で発見された胆嚢所見とその事後管理法. 日消集検誌 34: 82-85, 1996
- 2) 岡庭信司, 藤田直考, 野田 裕 他: 早期胆嚢癌の臨床病理学的検討. 日消誌 93: 628-633, 1996
- 3) 木村克巳, 藤田直考, 野田 裕 他: 表面型早期胆嚢癌の超音波診断. 体外式超音波検査との比較検討. 日消誌 93: 462-469, 1996
- 4) 権 雅憲, 小倉徳裕, 上辻章二 他: 高速らせん (spiral)CTを用いた胆道造影(3D-CT cholangiography). 胆と膵 16: 1101-1108, 1995
- 5) Kaneko T, Nakao A, Inoue S et al: Intraportal endovascular ultrasonography in the diagnosis of portal vein invasion by pancreatobiliary carcinoma. *Ann Surg* 222: 711-718, 1995
- 6) Chao T-C, Wang C-S, Jeng L-B et al: Primary carcinoma of the gallbladder in Taiwan. *J Surg Oncol* 61: 49-55, 1996
- 7) Nishizawa-Takano J-E, Ayabe H, Hatano K et al: Gallbladder cancer. A comparative study among clinicopathologic features, AgNORs, and DNA content analysis. *Dig Dis Sci* 41: 840-847, 1996
- 8) Pradeep R, Kaushik SP, Sikora SS et al: Predictors of survival in patients with carcinoma of the gallbladder. *Cancer* 76: 1145-1149, 1995
- 9) Sailer M, Debus S, Fuchs KH et al: Peritoneal seeding of gallbladder cancer after laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* 9: 1298-1300, 1995
- 10) Wibbenmeyer LA, Wade TP, Chen RC et al: Laparoscopic cholecystectomy can disseminate in situ carcinoma of the gallbladder. *J Am Coll Surg* 181: 504-510, 1995
- 11) 木下寿文, 中山和道, 今山裕康 他: 胆嚢癌に対する進展様式からみた術式の選択. 手術 50: 1207-1212, 1996
- 12) 船曳孝彦, 丸上善久, 落合正宏 他: 胆嚢癌に対する胆嚢全層切除. 手術 50: 1213-1218, 1996
- 13) 左近賢人, 門田守人: 肝床切除を伴う胆嚢癌の手術. 手術 50: 1219-1223, 1996
- 14) Onoyama H, Yamamoto M, Tseng A et al: Extended cholecystectomy for carcinoma of the gallbladder. *World J Surg* 19: 758-763, 1995
- 15) 内村正幸, 脇 慎治, 木田栄郎 他: 胆嚢癌に対する肝床合併切除. 手術 50: 1237-1244, 1996
- 16) 永川宅和, 萱原正都: HPDの現況と問題点. 全国胆道癌登録調査結果より. 外科 58: 1-6, 1996
- 17) 田代征記: 手術の要点. 胆嚢癌に対するS4下, S5切除+PD. 外科 58: 26-32, 1996
- 18) 小倉嘉文, 田端正巳, 川原田嘉文: HPDの適応と問題点. 病理組織学的にみたHPD適応の根拠. 外科 58: 7-12, 1996
- 19) 吉川達也, 平野 宏, 新井田達雄 他: 進行胆嚢癌に対する膵頭十二指腸切除を伴う拡大肝右葉, 尾状葉切除. 手術 50: 1255-1261, 1996
- 20) 吉川達也, 中村光司, 新井田達雄 他: HPDの適応と問題点. 胆嚢癌に対するHPDの適応. 外科58: 13-16, 1996
- 21) 武藤博昭: 進行胆嚢癌の膵頭部リンパ節郭清に関する臨床病理学的検討. 胆道 10: 201-209, 1996
- 22) Bloechle C, Izbicki JR, Passlick B et al: Is radical surgery in locally advanced gallbladder carcinoma justified? *Am J Gastroenterol* 90: 2195-2200, 1995
- 23) 嶋田 紘, 遠藤 格, 瀧本 篤 他: 進行胆嚢癌に対する拡大肝切除術. 拡大右葉切除術, 尾状葉合併右3区域切除術. 手術 50: 1245-1253, 1996
- 24) 中村 達, 鈴木昌八: 手術の要点. 胆嚢癌に対する拡大肝右葉切除 (右3区域切除)+PD. 外科 58: 22-25, 1996
- 25) Miyagawa S, Makuuchi M, Kawasaki S et al: Outcome of major hepatectomy with pancreatoduodenectomy for advanced biliary malignancies. *World J Surg* 20: 77-80, 1996
- 26) 斎藤博哉, 高邑明夫, 桜井康雄: 高度進行胆嚢癌に対する動注化学療法を中心とした集学的治療. 映像情報 27: 1193-1199, 1995
- 27) Lai DTM, Storey DW, Waugh R et al: Induction chemotherapy via hepatic artery for gallbladder carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 21: 690-691, 1995

## 特集 脂質投与をめぐる話題

# 肝切除と脂肪投与 —その現状と将来の展望\*—

三国 潤一\*<sup>2</sup> 大内 清昭\*<sup>2</sup> 松野 正紀\*<sup>3</sup>

### I. はじめに

肝細胞癌、胆道癌、転移性肝癌などの肝切除に際して、正常肝は術後管理も容易であることが多いが、肝硬変症、慢性肝炎あるいは閉塞性黄疸を合併している場合にはその管理に細心の注意が必要である。

リスク判定法の確立、手術手技・麻酔の発達、輸液・栄養管理の進歩などにより、最近では比較的安全に手術を行うことが出来るようになり、適応も拡大の方向にある。しかし、肝予備能に比して過大な切除にならざるを得なかった症例などでは、肝硬変に伴う糖利用能の低下のため、ブドウ糖のみでは十分なエネルギー投与を行うことが出来ず、栄養管理に難渋することもしばしばである。

この様な場合、フルクトース、キシリトール<sup>1,2)</sup>、モノアセトアミンなど、ブドウ糖以外の熱源を投与し、不足分のエネルギーを補充しようという試みがなされてきた。しかし、身近な輸液製剤の一つである脂肪乳剤は、網内系機能の抑制、血中からのクリアランスの低さ<sup>3)</sup>などを理由に硬変肝切除後には使用を控えるべきとされ、全身および肝に対する影響について十分な検討はなされてこなか

った。

近年、MCT (medium chain triglyceride) を中心とした新しい脂肪乳剤が開発され、重症感染症、熱傷、各種手術侵襲下などでの検討が相次いでなされ、肝切除時における投与にも関心が寄せられるようになってきた。

### II. 肝切除の特殊性

肝臓はエネルギー代謝の中心となる臓器である。肝切除は手術侵襲に加えて、この代謝の場の部分的欠落を生じ、更に肝再生を必要とする操作であるため、エネルギー代謝に及ぼす影響は、他の手術と比較して非常に大きいものとなる。

肝切除術の適応となる疾患のうち、肝細胞癌、胆管癌などは肝硬変、慢性肝炎、閉塞性黄疸などの基礎疾患を有している場合が多い。これらの基礎疾患によるエネルギー代謝異常は肝切除を行うことによってさらに顕著になる。これら障害肝では肝細胞機能のみならず肝網内系機能も低下しており、肝切除により網内系機能はさらに低下することが知られている。

脂肪の利用あるいはその影響などについて、感染症、熱傷、糖尿病などの侵襲下における詳細な

\* Utilization and Effects of Administered Fat Emulsions after Hepatic Resection

\*<sup>2</sup> Junichi Mikuni, Kiyooki Ouchi : 宮城県立がんセンター外科

\*<sup>3</sup> Seiki Matsuno : 東北大学医学部第1外科

検討が加えられており、肝硬変、閉塞性黄疸での報告も散見される。しかし、肝切除、特に硬変肝切除後の脂肪投与の肝細胞および網内系機能に対する影響に関する報告は少なく、評価は一定ではない。本稿では肝切除後における脂肪乳剤投与の意義の現状と今後の見通しについて、われわれの実験結果<sup>4)</sup>をふまえ報告する。

### III. 脂肪乳剤の種類および利用について

LCT (long chain triglyceride), MCT, n-3系など、脂肪乳剤には様々な種類があるが、現在、本邦で静注用として販売されているのはLCT乳剤のみであり、他は治験段階にとどまっている。

従来、肝切除後早期のLCT投与は低下した肝網内系をさらに抑制する可能性があるために不適当とされてきた。

われわれは、正常肝、チオアセタミド誘導硬変肝ラットを用い、70%肝切除後、<sup>14</sup>Cで標識したLCT, MCTを投与し、呼気ガス中<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>の累積回収率を測定、その酸化速度を検討した(図1, 2)。

LCTは、酸化速度が遅く、蓄積脂肪になりやすいと言われている。この検討でも、正常肝において投与後6時間で酸化されるのは約20%に留まり、術後早期のエネルギー補給という意味では効率良好ではない。硬変肝ではこれがさらに著明で、肝切除群では投与後6時間で約13%と、開腹術のみの群と比較して有意に酸化が抑制されており、

肝切除の影響の大きさが窺われた。

一方、MCT投与6時間後の脂肪酸化は、肝切除の有無、肝硬変合併の有無に関わらず、50%以上であり、MCTが速やかに代謝されることが証明された。30%の残肝量で、肝硬変合併の場合でも正常肝とほぼ同様に酸化されたのは注目に値することであり、MCTが肝切除後のエネルギー源として有用であることが示唆された。

### IV. 脂肪乳剤が生体に及ぼす影響

#### 1. 肝エネルギー代謝

われわれは、正常肝および硬変肝ラットに全投与エネルギーの3分の1 (57kcal/kgBW/day)をLCTまたはMCTで投与し、肝energy charge (EC) (図3), ATP生成能などを測定した<sup>4)</sup>。

正常肝の場合、70%肝切除後にLCTあるいはMCTを投与しても、肝ECの低下は軽度であり、回復も速やかであった。また、ATP生成能は術前と比較して著明に亢進し、肝再生などに必要とされるATPを十分に供給すべく反応していた。

一方、硬変肝ラットにLCTを投与した場合、開腹術のみを行った対照群では肝エネルギー代謝の抑制は軽度にとどまったが、70%肝切除術群では、肝ECは著しく低下し、回復傾向は認められず、また、ATP生成能の亢進もみられなかった。24時間後以降では死亡するラットも認められた。

これとは対照的に、MCTの硬変肝切除ラットへ

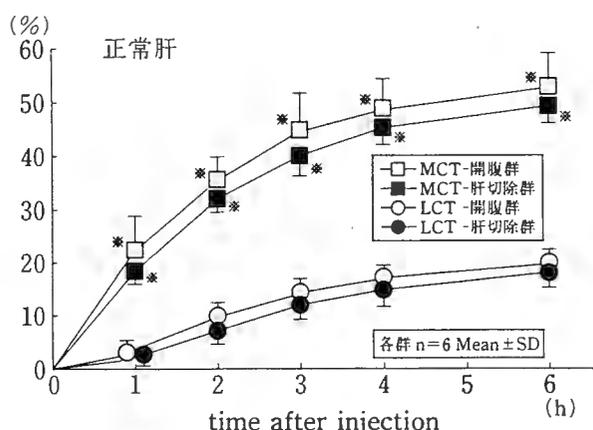


図1 呼気ガス中<sup>14</sup>C 累積回収率 (正常肝)  
※ ; p < 0.01 (vs LCT-開腹群, LCT-肝切除群)

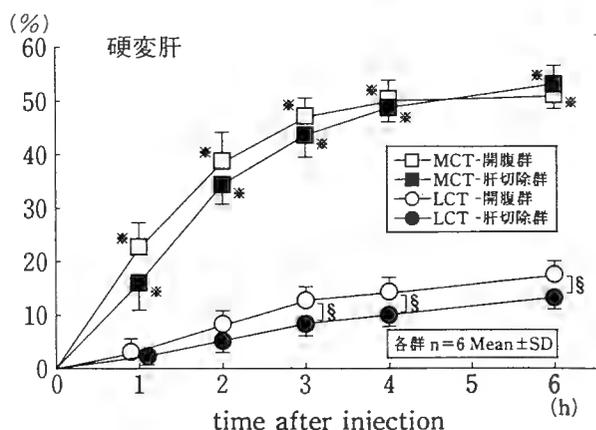


図2 呼気ガス中<sup>14</sup>C 累積回収率 (肝硬変)  
※ ; p < 0.01 (vs LCT-開腹群, LCT-肝切除群)  
§ ; p < 0.05

の投与では、ECの低下は比較的軽度にとどまり、回復傾向も見られた。また、ATP生成能も大きく亢進し、MCTの肝エネルギー代謝に与える影響はLCTと比較してはるかに軽微であった。

これらより、硬変肝切除後早期のLCT投与は、控えるべきとの結論が得られた。

## 2. 感染防御能

LCT乳剤の投与は網内系機能を抑制するが、MCT乳剤投与による網内系への影響は軽度であることが知られている<sup>5,6)</sup>。

また坂本らは、LCT乳剤は顆粒球の感染防御能を低下させるが、MCT乳剤は逆にこれを高める可能性があることを指摘している<sup>7)</sup>。

## 3. 一般肝機能

柳瀬は硬変肝ラットに脂肪乳剤を投与した検討で、LCTおよびMCT単独投与とブドウ糖単独投与ではGOT、GPT、LDH、ALPに差はなく、LCT/MCT混合投与で、GOT、GPT、LDHが改善する傾向があるとしている<sup>8)</sup>。

## 4. 糖代謝・脂質代謝

耐糖能が低下している硬変肝では、全投与エネルギーの一部を脂肪乳剤で投与することにより、血糖、血中インスリン値の有意な低下がおり、糖代謝にとって脂肪乳剤の投与は有益であるとき

れている。柳瀬は、硬変肝における検討で、MCTとLCTの混合比を1:1とした場合、血糖、インスリン値ともに最低値を示し、この時、血中トリグリセライドはブドウ糖単独群と差がなかったと報告している<sup>9)</sup>。

高血糖の存在、これに付随するインスリン値の上昇は、内因性脂肪の利用を抑制することが明らかであり<sup>9)</sup>、脂肪乳剤投与、特にMCT/LCT混合投与は、内因性脂肪の利用の点でも有利に働く可能性がある。

## V. 脂肪乳剤投与の実際

一般に正常な脂質代謝能を有する症例では、静注用LCT乳剤の0.1~0.2gFAT/kgBW/h程度の投与が可能とされている<sup>10)</sup>。

肝切除後はこれよりも代謝能は低下し、その程度は肝硬変の有無や、切除量などで変化するものと考えられる。

入山はAKBRや動脈血中乳酸/ピルビン酸比を測定し、redox statusが抑制されていないことが確認され、血中トリグリセライドが200mg/dlを超えなければ脂肪投与が可能であるとしている<sup>10)</sup>。

正常肝切除後では、血中トリグリセライドなどを測定しながら投与量を調節すれば、相当量の脂

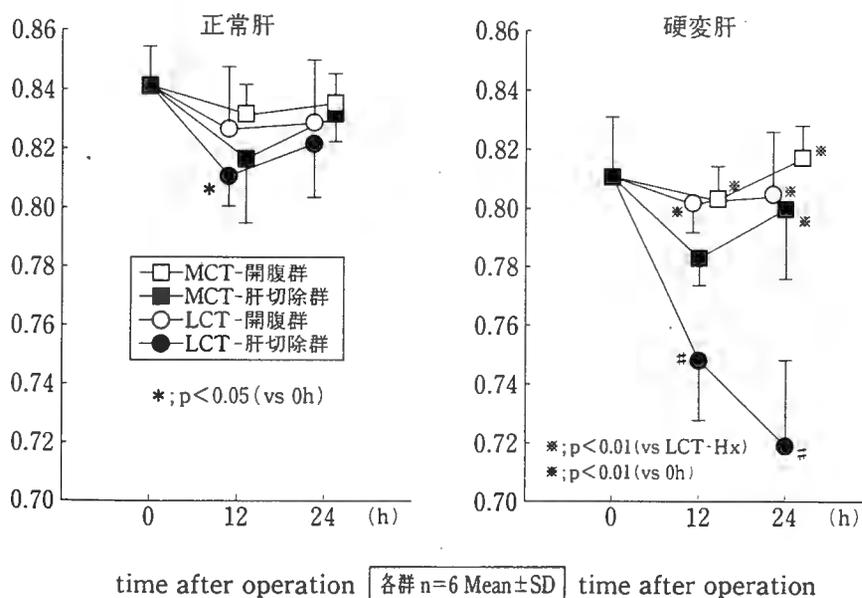


図3 肝組織エネルギーチャージ

肪乳剤を投与できると考えられる。

しかし、現在市販されている LCT 乳剤は肝硬変を合併した場合には、酸化も不十分であり、網内系・肝エネルギー代謝に不利に働くことから、肝切除後早期には投与を控えるべきと考えられる。

MCT を含有した脂肪乳剤の市販が待たれる所であるが、すでに経腸栄養剤の中には MCT を含むものが何種類か市販されており、効果も期待できる。堺らは、慢性肝炎を合併した症例の肝切除後に MCT を含む経腸栄養剤を投与し、良好な栄養管理が可能であったと報告している<sup>11)</sup>。

消化管切除を伴わない肝切除術の場合は、経腸的栄養が可能であり、経静脈的投与にこだわらず、経腸的投与も検討する必要があると思われる。

## VI. 脂肪乳剤の将来と肝切除術

MCT の利点について述べてきたが、MCT は神経毒性などの副作用が報告されており、これは LCT との併用で軽減されることから、MCT は LCT との混合で使用されることになる。

現在、臨床試験中の MCT 乳剤は、MCT と LCT を 1 : 1 に混合した physical mixture 乳剤である。同様のものはドイツではすでに10年以上前から販売されている。

肝切除後に投与する場合、MCT と LCT の混合比をどうするかについては未だ結論が得られていない。エネルギーの補給という点では、MCT の比率を高くしたいところであるが、硬変肝ラットを用いた検討では、糖・脂質代謝、肝機能・網内系などに及ぼす影響から判断し、1 : 1 が最適と報告されている<sup>9)</sup>。

前述のように、正常肝切除後には LCT も相当量の投与が可能である。MCT の毒性軽減、必須脂肪酸の補給、蓄積脂肪となった後の内因性脂肪としての利用といった意味でも LCT は重要な位置を占めることとなると考えられる。

さらに現在、LCFA と MCFA を同一分子内に結

合させた structured lipid<sup>12)</sup>、CDT<sup>13)</sup>が研究されている。structured lipid は physical mixture に比べて、代謝が速やか、ケトン体生成が少ない、肝再生に有利などの特徴を持っており、肝切除後にも期待が持てる製剤である。

魚油 (精製イワシ油) には、n-3系多価不飽和脂肪酸である EPA, DHA が豊富に含まれる。n-3系脂肪酸は、炎症抑制や免疫能亢進のみならず、肝機能、腎機能に対する好影響も報告されている<sup>14)</sup>。肝切除時の投与についてはまだ評価は十分ではないが、有用な製剤となることが期待される。

現在市販されている脂肪乳剤は、卵黄レシチンを乳化剤として使用しているが、瀧藤らは P-GL, P-PEG といった新しいリン脂質を乳化剤として使い、小粒子で安定した脂肪乳剤を作成した<sup>15)</sup>。

大粒子となった脂肪滴が Kupffer 細胞に貪食されたり、長時間にわたり肝細胞内を占居する<sup>16)</sup>ことが、網内系機能や肝のエネルギー代謝の低下の原因の一つとも考えられている。脂肪滴の粒子径を小さく、安定させることにより、これらの問題の解決となる可能性がある。今後の更なる検討が期待される。

## VII. おわりに

現在入手可能な LCT 乳剤は、硬変肝に代表される障害肝切除後では、その酸化速度や網内系機能・肝エネルギー代謝に与える影響などから、投与を控えるべきであると思われる。正常肝切除後においては十分投与可能であるが、経口不能の期間が長期化することなどが無い限り、積極的な利点は認められない。

しかし、現在開発中のさまざまな脂肪乳剤は、現在の LCT 乳剤が持つ問題点を解決し、硬変肝を含めた肝切除後の栄養管理に大きく貢献するものと期待される。早期の臨床応用が待たれるところである。

## 参 考 文 献

1) 長谷川順一, 中尾量保, 仲原正明, ほか: 肝切除術後における GFX 輸液の安全性と有用性に関する

臨床的検討. JJPEN 15(2):173, 1993

2) 井原 基, 大柳治正, 齋藤洋一: 硬変肝切除術後

- の高カロリー輸液における糖質についての実験的検討. 外科と代謝・栄養 24(1) : 58, 1990
- 3) Muscaritoli M, Cangiano C, Cascino A, et al : Exogenous lipid clearance in compensated liver cirrhosis. JPEN 10 : 599, 1986
- 4) 三国潤一, 大内清昭, 福原賢治, ほか : 肝切除術後早期における外因性脂肪の利用と残肝エネルギー代謝に関する実験的検討. 外科と代謝・栄養 30(1) : 7, 1996
- 5) Hamawy K, Moldawer L, Georgieff M, et al : The effect of lipid emulsions on reticuloendothelial system function in the injured animals. JPEN 9 : 559, 1985
- 6) Jenson GL, Mascioli EA, Seidner DL, et al : Parenteral infusion of long-and medium-chain triglyceride and reticuloendothelial system function in man. JPEN 14 : 464, 1990
- 7) 坂本 宏 : 脂肪乳剤の脂質過酸化反応および感染防御能に及ぼす影響. 外科と代謝・栄養 28(1) : 11, 1994
- 8) 柳瀬 晃 : 硬変肝ラットの外科侵襲期における脂質投与の有用性に関する実験的検討. 外科と代謝・栄養 28(5) : 337, 1994
- 9) Ouchi K, Sakai K, Matsubara S, et al : Fuel Utilization and Glucose Hyperalimentionation After Liver Resection. Nutrition 10 : 411, 1994
- 10) 入山圭二 : 肝障害ならびに感染症と脂肪乳剤. 医学のあゆみ 168(5) : 515, 1994
- 11) 堺 秀行, 中野陽典, 北原健志, ほか : 肝切除術後における経腸栄養剤(ハーモニック-M)の臨床的効果. JJPEN 15(7) : 655, 1993
- 12) Heird WC, Grundy SM, Hubbard VS, et al : Structured lipids and their use in clinical nutrition. Am J Clin Nutr 43 : 320, 1986
- 13) 平松義文, 中川 学, 松井陽一, ほか : 新組成脂肪乳剤 Chemically-Defined Triglyceride (CDT) の代謝動態に関する基礎的検討. 外科と代謝・栄養 25(5) : 489, 1991
- 14) Andrew SK, WendySS, David FD, et al : Early Enteral Feeding in Postsurgical Cancer Patients. Ann Surg 223(3) : 316, 1996
- 15) 瀧藤克也, 谷村 弘, 馬庭芳朗, ほか : 新しいリン脂質を用いた脂肪乳剤の作成. JJPEN 15(2) : 179, 1993
- 16) 馬庭芳朗, 谷村 弘, 杉村恵洋, ほか : 中鎖脂肪酸トリグリセリド乳剤静注中の肝における脂質代謝に関する電子顕微鏡的研究. 外科と代謝・栄養 25(4) : 375, 1991

\* \* \*

## 頭頸部癌における遺伝子座 9p21 領域の欠失の検討

\*<sup>1</sup>宮城県立がんセンター頭頸科  
\*<sup>2</sup>宮城県立がんセンター研究所生化学部門  
\*<sup>3</sup>東北大学医学部耳鼻咽喉科

志賀清人\*<sup>1</sup> 横山純吉\*<sup>1</sup> 西條茂\*<sup>1</sup>  
宮城妙子\*<sup>2</sup> 松浦一登\*<sup>3</sup> 高坂知節\*<sup>3</sup>

### 論文要旨

2種類の polymorphic marker を用いて頭頸部扁平上皮癌における 9p21領域の loss of heterozygosity (LOH) を検討した。正常 DNA を用いた場合どちらかの marker が heterozygote で評価可能であった67例のうち15例(22%)に LOH が認められた。LOH の有無と臨床的諸因子とを比較すると腫瘍の局在、病期、T 分類、リンパ節転移度などの相関はなかったが再発例に LOH の頻度が有意に高かった。また4例において replication error (RER) が検出された。

今回の結果から 9p21領域の遺伝子欠損が既存の factor とは独立した prognostic factor である可能性が考えられた。また一部の頭頸部癌におけるゲノムの不安定性の癌化への関与が示唆された。

**Key words:** 頭頸部癌 (Head and neck cancer), 9p21, loss of heterozygosity (LOH), 扁平上皮癌 (Squamous cell carcinoma), 予後因子 (Prognostic factor)

### はじめに

第9番染色体短腕 9p21領域には p16 (MTS1/CDK4/INK4a), p15 (MTS2/INK4b) などの腫瘍抑制遺伝子のほか IFN $\alpha$  遺伝子が存在し、多様な腫瘍でこの領域の欠失が見いだされている<sup>1-6)</sup>。今回我々は2種類の polymorphic marker を用いて頭頸部癌における 9p21領域の loss of heterozygosity (LOH) を検討し、それが実際にどのくらいの頻度であるのかを明らかにするとともに臨床的諸因子との関連について検討した。

### 対象および方法

#### 1. 対象

対象としたのは平成6年5月より平成8年4月までの2年間に宮城県立がんセンターで治療を受けた79例で全例が病理組織学的検討により扁平上皮癌と診断されている。その内訳は上顎癌10例、舌癌18例、口腔底癌2例、口唇癌1例、頬粘膜癌1例、歯肉癌1例、上咽頭癌3例、中咽頭癌4例、下咽頭癌13例、喉頭癌26例であった(表1)。

#### 2. 方法

##### 別刷請求先:

〒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頭頸科  
志賀清人

手術摘出標本および正常対照である患者末梢血リンパ球は-110℃にて保存した。DNAの抽出はプロテナーゼKで消化後フェノール抽出しエタノール沈澱にて回収する方法を用いた<sup>9,10)</sup>。9p21領域の polymorphic marker, IFNA と D9S171は Research Genetics, Inc. より購入し、その forward primer を [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P] ATP とポリヌクレオチドキナーゼを用いて末端ラベルし実験に用いた。PCR 反応液は全量 50  $\mu$ l 中に 0.2~1.0  $\mu$ g の DNA, 1 pmole の forward primer と 5 pmole の reverse primer, 終濃度 0.2 mM の dNTP を含み *Tth* DNA polymerase (TOYOBO), Thermal Cycler (Perkin Elmer Cetus) を用いて反応を行った<sup>11)</sup>。反応は第1サイクルのみ 94℃ 5分, 56℃ 1分, 72℃ 1分で行い、以後26サイクルまで 94℃ 1分, 56℃ 1分, 72℃ 1分で行った。PCR 産物はフェノール抽出、エタノール沈澱にて精製後6%のポリアクリルアミドゲル電気泳動にて分離しゲル乾燥後オートラジオグラフィーを行い結果を得た。

### 結果

実験の典型例を図1, 2に示した。heterozygote であったもの即ち informative case であったものは IFNA で79例中59例(75%), D9S171で79例中33例(42%)であった。このうち LOH の認められたのは各々59例中9例(15%), 33例中8例(24%)で喉頭癌1例、舌癌1例で両者の LOH が認められた(表1)。また4

表 1 対象患者と 9p21領域の遺伝子欠損

No	Name	Site	Stage	TNM	IFNA	D9S171	No.	Name	Site	Stage	TNM	IFNA	D9S171
1	H.T.	H.P.	I	T1N0	-	+	40	C.I.	T	III	T3N1	-	nl
2	K.U.	L	III	T3N0	-	nl	41	K.O.	H.P.	IV	T2N2	+	nl
3	M.H.	M	II	T2N0	-	-	42	M.K.	E.P.	IV	T2N2	-	nl
4	R.K.	T	IV	T2N2	-	*	43	S.S.	M	I	T1N0	+	nl
5	S.N.	E.P.	IV	T2N2	-	-	44	K.O.	M	III	T3N0	-	-
6	Y.S.	L	IV	T4N2	+	+	45	T.M.	M.P.	II	T2N0	-	nl
7	J.O.	H.P.	IV	T4N2	nl	nl	46	M.Y.	M.P.	IV	T2N2	nl	-
8	T.K.	H.P.	III	T3N0	-	nl	47	T.Y.	M	IV	T3N2	-	-
9	T.S.	L	IV	T4N0	-	nl	48	H.S.	L	II	T2N0	-	nl
10	K.O.	T	II	T2N0	-	nl	49	K.C.	L	IV	T4N2	nl	nl
11	H.K.	T	III	T2N1	nl	nl	50	T.C.	L	III	T3N0	-	-
12	K.M.	T	II	T2N0	-	nl	51	S.K.	O.F.	IV	T4N2	-	-
13	G.T.	M.P.	I	T1N0	-	nl	52	K.S.	T	IV	T4N0	+	-
14	U.O.	Lip	III	T3N0	+	nl	53	K.S.	B	III	T3N1	+	-
15	R.K.	M.P.	IV	T2N2	nl	nl	54	T.S.	M	IV	T2N3	-	nl
16	F.M.	L	IV	T1N3	-	-	55	M.C.	T	IV	T2N2	-	-
17	F.A.	H.P.	III	T3N1	-	-	56	S.M.	L	II	T2N0	nl	nl
18	T.K.	M	IV	T4N1	nl	+	57	I.U.	T	II	T2N0	RER	RER
19	T.O.	M	III	T3N0	-	nl	58	K.T.	T	II	T2N0	+	+
20	E.A.	T	III	T2N1	RER	-	59	T.H.	L	IV	T4N0	RER	nl
20'	E.A.	T	CIS		RER	-	60	T.I.	G	IV	T3N2	-	nl
21	T.K.	L	IV	T4N1	-	-	61	K.A.	T	I	T1N0	-	-
22	S.S.	O.F.	II	T2N0	-	-	62	K.K.	L	I	T1N0	-	nl
23	Y.E.	M	III	T3N0	nl	-	63	K.S.	T	III	T3N0	-	nl
24	Y.N.	M	III	T3N0	-	*	64	T.S.	H.P.	IV	T3N2	-	nl
25	M.I.	H.P.	IV	T2N2	-	*	65	K.O.	T	III	T2N1	-	-
26	S.T.	T	II	T2N0	RER	+	66	K.Y.	L	IV	T2N3	-	nl
27	M.S.	H.P.	III	T1N1	nl	nl	67	Y.S.	E.P.	II	T2N0	-	-
28	S.S.	H.P.	I	T1N0	nl	+	68	T.C.	L	II	T2N0	-	nl
29	K.H.	L	II	T2N0	-	nl	69	S.S.	L	I	T1N0	-	nl
30	H.K.	H.P.	IV	T3N2	*	+	70	T.S.	H.P.	IV	T4N0	nl	nl
31	M.K.	H.P.	IV	T3N2	-	-	71	M.H.	T	IV	T2N2	-	nl
32	M.E.	L	I	T1N0	*	nl	72	S.S.	L	III	T3N0	-	-
33	T.M.	M	IV	T3N2	-	*	73	F.M.	L	IV	T2N2	-	nl
34	S.S.	T	IV	T3N2	-	nl	74	S.S.	L	IV	T3N1	-	nl
35	T.M.	L	II	T2N0	nl	nl	75	T.A.	T	IV	T4N0	-	nl
36	K.A.	H.P.	III	T2N1	-	nl	76	M.O.	L	III	T3N0	+	-
37	S.O.	L	IV	T1N2	-	+	77	Y.D.	L	I	T1N0	-	-
38	S.T.	T	II	T2N0	nl	*	78	S.K.	L	I	T1N0	nl	-
39	K.S.	L	II	T3N0	+	-	79	Y.Y.	L	II	T2N0	-	nl

H.P.; hypopharynx, L; larynx, M; maxilla, T; tongue, M.P.; mesopharynx, E.P.; epipharynx, O.F.; oral floor, B; buccal mucosa, G; ghgiva, nl; not informed, \*; not distinct

例において RER が認められた。IFNA, D9S171共に not informed case であつたり RER が存在したり等で評価不能であつた症例 (7, 11, 15, 27, 32, 35, 38, 49, 56, 57, 59, 70) を除いた67例, 即ち IFNA, D9S171のどちらかあるいは両者が評価可能であつた症

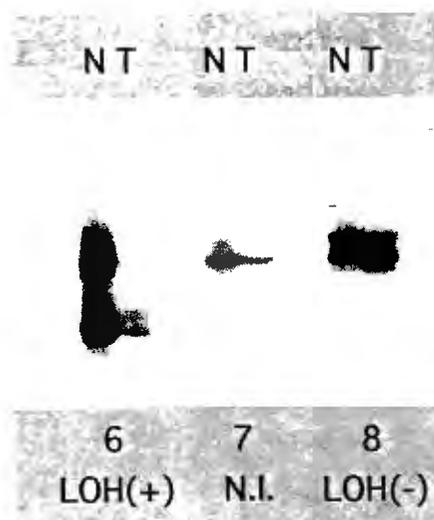


図 1 IFNA を用いた実験例

N は患者のリンパ球由来の DNA, T は同一患者の腫瘍由来の DNA を示す。パネルの下に症例番号を示した (表 1 参照)。

LOH; loss of heterozygosity, N.I.: not informed

例を検討対象とした。表 2 に腫瘍の局在と LOH の頻度との関係を示した。下咽頭癌に頻度が高い傾向を示したが有意差はなく上顎癌で10例中2例 (22%), 舌癌で15例中3例 (20%), 舌癌を含めた口腔癌では20例中5例 (25%), 下咽頭癌で10例中4例 (40%), これを含め咽頭癌では16例中4例 (25%), 喉頭癌で21例中4例 (19%) であつた。全体では67例中15例 (22%) の頻度で 9p21 領域の遺伝子欠損が認められた。表 3 には臨床

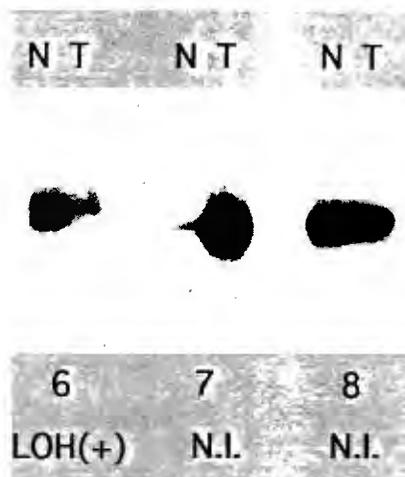


図 2 D9S171を用いた実験例

略語は図 1 に準ずる。

表 2 腫瘍の局在と 9p21 領域の LOH

Site	IFNA	D9S171	Incidence
Maxilla	1/8	1/5	2/10 (20%)
tongue	2/13	2/7	3/15 (20%)
Oral cavity	0/2	0/2	0/2
oral floor	0/2	0/2	0/2
lip	1/1		1/1
buccal mucosa	1/1	0/1	1/1
gingiva	0/1		0/1
epipharynx	0/3	0/2	0/3
Pharynx	0/2	0/1	0/3
mesopharynx	0/2	0/1	0/3
hypopharynx	1/8	3/5	4/10 (40%)
Larynx	3/20	2/10	4/21 (19%)
Total	9/59 (15%)	8/33 (24%)	15/67 (22%)

表 3 9p21 LOH と病期分類

Stage	9p21 LOH (+)	9p21 LOH (-)
I	3/9 (33%)	6/9 (67%)
II	3/13 (23%)	10/13 (77%)
III	3/17 (18%)	14/17 (82%)
IV	6/28 (21%)	22/28 (79%)
Total	15/67 (22%)	52/67 (78%)

表 4 9p21 LOH と T 分類

T number	9p21 LOH(+)	9p21 LOH (-)
T1	4/11 (36%)	7/11 (64%)
T2	3/26 (12%)	23/26 (88%)
T3	5/23 (22%)	18/23 (78%)
T4	3/7 (43%)	4/7 (57%)
Total	15/67 (22%)	52/67 (78%)

表 5 9p21 LOH と N 分類

N number	9p21 LOH(+)	9p21 LOH (-)
N0	9/36 (25%)	27/36 (75%)
N1	2/9 (22%)	7/9 (78%)
N2	4/19 (21%)	15/19 (79%)
N3	0/3	3/3
Total	15/67 (22%)	52/67 (78%)

病期と LOH との関係を示したが、Stage I でやや頻度が高い傾向を示したもののいずれも有意差はなかった。表 4 には T 分類と LOH との関係を示した。T2 症例で LOH の頻度が低くなっているものの、T1+T2 と T3+T4 の比較ではその頻度に差は認められなかった。表 5 にはリンパ節転移との関係を示した。N3 症例が少なく検定の対象に含めなかったが N0-N2 症例ではその頻度に有意差は認められなかった。

症例を再発群と非再発群に分け検討してみた。観察期間は最長で 2 年 2 カ月、最短で 3 カ月である。再発群には他院で治療を受けた後に再発したため当院に紹介されたいわゆる二次治療例が 6 例含まれている。表 6 に両群の profile を示したが病期、T 分類、リンパ節転移共に大きなばらつきはなかった。この両群間には表 7 に示したように LOH の頻度に大きな差が認められた。即ち再発群では LOH 陽性が 24 例中 10 例 (42%) である

表 6-1 再発群と非再発群における病期分類の比較

Stage	recurrence (+)	recurrence(-)
I	2/9 (22%)	7/9 (78%)
II	6/13 (46%)	7/13 (54%)
III	5/17 (29%)	12/17 (71%)
IV	12/28 (43%)	16/28 (57%)
Total	24/67 (36%)	43/67 (64%)

表 6-2 再発群と非再発群における T 分類の比較

T number	recurrence(+)	recurrence (-)
T1	4/11 (36%)	7/11(64%)
T2	10/26 (38%)	16/26 (62%)
T3	8/23 (35%)	15/23 (65%)
T4	2/7 (29%)	5/7 (71%)
Total	24/67 (36%)	43/67 (64%)

表 6-3 再発群と非再発群における N 分類の比較

N number	recurrence(+)	recurrence (-)
N0	11/36 (31%)	25/36 (69%)
N1	3/9 (33%)	6/9 (67%)
N2	9/19 (47%)	10/19 (53%)
N3	1/3 (33%)	2/3 (67%)
Total	24/67 (36%)	43/67 (64%)

のに対して非再発群では43例中5例(12%)であり有意差が認められた。逆に LOH 陽性の場合15例中10例(67%)が再発をきたしており LOH 陰性ならば52例中14例(27%)が再発したに過ぎなかった。

RER が舌癌3例, 喉頭癌1例の計4例に認められた(表1)。症例20の舌癌ではその近傍の CIS でも同様の所見が得られた。

## 考 察

9p21領域の遺伝子欠失についての報告ではその LOH の頻度は9p全体を含んだ複数の polymorphic marker を用いた場合は非常に高く肺の非小細胞癌で67.5%<sup>3)</sup>, 頭頸部の扁平上皮癌で72%<sup>7,8)</sup>と報告されている。また細胞株を用いた検索では更に高く頭頸部の扁平上皮癌由来の細胞で100%という報告がある<sup>6)</sup>。これに

表 7 9p21 LOH と腫瘍再発との相関

	9p21 LOH (+)	LOH (-)	P value
recurrence	10/24 (42%)	14/24 (58%)	0.0047
no recurrence	5/43 (12%)	38/43 (88%)	
<b>Total</b>	<b>15/67 (22%)</b>	<b>52/67 (78%)</b>	

	recurrence	no recurrence	P value
9p21 LOH (+)	10/15 (67%)	5/15 (33%)	0.0047
9p21 LOH (-)	14/52 (27%)	38/52 (73%)	
<b>Total</b>	<b>24/67 (36%)</b>	<b>43/67 (64%)</b>	

対し今回我々が用いたと同じく IFNA, D9S171の2種類を用いた場合はこれより低く腎癌で22%<sup>4)</sup>, 胃癌で14.3%<sup>5)</sup>と報告されており, ほぼ我々の結果に類似した値となっている。周知のように扁平上皮癌などの固形癌の多くは構成として間質細胞の成分比が高く, 今回は microdissection などの手法は用いなかったがもし使用していればさらに LOH の頻度が高くなる可能性はあると思われる。しかしながら67例中15例 (22%) という頻度はこれまでの報告から考えてもほぼ妥当な値と考えられる。

癌はいくつかの遺伝子の異常が蓄積された結果と考えられており, その悪性度を左右するのはその遺伝子異常の質と量であるという仮説もそれに立脚している。今回の我々の頭頸部扁平上皮癌の9p21領域の LOH の結果を臨床的諸因子と比較検討してみたが, 予想に反して腫瘍の局在, 臨床病期, T 分類, リンパ節転移などとの相関はなかった (表 2~5)。しかしながら患者を再発した群と再発しない群に分けると有意差 (P=0.0047) をもって再発群に LOH の頻度が高かった (表 7)。Kinoshita ら<sup>4)</sup>は腎癌で転移例に9p21 LOH が多いことを見いだしており, 組織型が違うとはいえ類似した所見と思われる。このことは9p21に腫瘍の増殖になんらかの形で抑制をかけている遺伝子即ち腫瘍抑制遺伝子が存在することを示唆すると思われ, それは IFNA と D9S171の間に存在する p16あるいは p15である可能性が高いがこれら以外の未知の遺伝子があるかも知れない。今回の検討では他院で治療を受けた後に当院に紹介されたいわゆる二次治療例が数例含まれている為未治療時の

検体が得られなかったものが含まれておりその点においては厳密には prospective study とはいえないが, 少なくとも短期予後に関しては9p21 LOH 陽性の腫瘍の方が悪いと思われた。この方法は微量の DNA があれば実施可能なので生検材料から治療前に LOH の有無を知ることができ患者の予後についてある程度情報を得ることが可能で, 以後の治療方法の選択などに反映できる可能性が示唆された。

4例 (5%) において RER が検出されたが2種類のマーカーを用いただけなので他のマーカーを何種類か利用すればその頻度は高くなると考えられる。ここで注意を喚起したいのは症例20の舌癌症例においてその近傍の非浸潤性のいわゆる CIS の標本からも全く同じパターンの RER が検出されていることで, 癌細胞が極めて初期の段階からこういった形質を獲得している点である。

今後は症例数を増やし長期予後との関連についても考察するとともにパラフィン包埋切片を出発材料とすることも可能なので過去の症例に遡って検討を進めていく余地もあると思われる。

## 結 論

今回の頭頸部扁平上皮癌における検討から9p21領域の遺伝子欠損が既存の factor とは独立した prognostic factor である可能性が考えられた。現在のところ特に短期予後に関連していると思われた。また一部の頭頸部癌におけるゲノムの不安定性の癌化への関与が示唆された。

文 献

- 1) Kamb A. Gruis NA. et al: A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science* 264 : 436-440, 1994.
- 2) Cairns P. Mao L. et al: Rates of p16 (MTS1) mutations in primary tumors with 9p loss. *Science* 265 : 415-416, 1994.
- 3) Merlo A. Gabrielson E. et al: Frequent loss of chromosome 9 in human primary non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 54 : 640-642, 1994.
- 4) Kinoshita H. Yamada H. et al: Contribution of chromosome 9p21-22 deletion to the progression of human renal cell carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 86.: 795-799, 1995.
- 5) Wu M-S. Lin Y-W. et al: Intragenic homozygous deletion of MTS1 gene in gastric cancer in Taiwan. *Jpn J Cancer Res* 87 : 1052-1055, 1996.
- 6) Loughran O. Edington IJ. et al: Loss of heterozygosity of chromosome 9p21 is associated with the immortal phenotype of neoplastic human head and neck keratinocytes. *Cancer Res* 54 : 5045-5049, 1994.
- 7) Nawroz H. van der Riet P. et al: Allotype of head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 54 : 1152-1155, 1994.
- 8) van der Riet P. Nawroz H. et al: Frequent loss of chromosome 9p21-22 early in head and neck cancer progression. *Cancer Res* 54 : 1156-1158, 1994.
- 9) Shiga C. Shiga K. et al: A point mutation of *c-Ki-ras* gene was found in human esophageal carcinoma cell lines but not in primary esophageal carcinomas. *Biochem Biophys Res Commun* 187 : 515-521, 1992.
- 10) Shiga K. Yamamoto H. et al: Isolation and characterization of the human homologue of *rig* and its pseudogenes: The functional gene has features characteristic of housekeeping genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87 : 3594-3598, 1990.
- 11) Yokoyama J. Shiga K. et al: Abnormalities and implication of retinoblastoma locus and its protein product in head and neck cancers. *Anticancer Res* 16 : 641-644, 1996.

## LOSS OF HETEROZYGOSITY OF CHROMOSOME 9p21 IN HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Kiyoto SHIGA<sup>\*1</sup>, Junkichi YOKOYAMA<sup>\*1</sup>, Shigeru SAIJO<sup>\*1</sup>,  
Taeko MIYAGI<sup>\*2</sup>, Kazuto MATSUURA<sup>\*3</sup> and Tomonori TAKASAKA<sup>\*3</sup>

<sup>\*1</sup>Department of Head and Neck Surgery, Miyagi Cancer Center Hospital

<sup>\*2</sup>Department of Biochemistry, Miyagi Cancer Center Research Institute

<sup>\*3</sup>Department of Otolaryngology, Tohoku University School of Medicine

Loss of heterozygosity (LOH) of chromosome 9p21 was studied using two polymorphic markers in 79 head and neck squamous cell carcinomas. 15 out of 67 (22%) DNA samples obtained from cancer specimens were revealed to have LOH when at least one marker was used. Frequency of LOH was not correlated with localization of the tumor, clinical stage of the patient, tumor size and lymph node involvement. However, frequency of LOH was significantly higher in the recurrent tumors than the no-recurrent tumors. Replication error (RER) was observed in 4 cancers. These results indicate that LOH of 9p21 is a considerable prognostic factor independent of other existing factors concerning head and neck squamous cell carcinoma.

頭頸部癌における自己血輸血の有用性の検討

横山純吉<sup>1</sup>、西條 茂<sup>1</sup>、志賀清人<sup>1</sup>、海老名卓三郎<sup>2</sup>

再建外科の進歩により進行癌に対しても手術が多く施行されるようになったが、手術時間、侵襲の増大とともに出血量も増加し輸血の必要な場合も多い。同種血輸血の問題点として肝炎、HIV,ATLなどのウィルス感染、輸血後のGVHD反応、輸血後の免疫抑制などが指摘されているが、未だ未解決の点も多い。一方、自己血輸血は整形外科、胸部外科などの良性疾患での報告は多いが、癌患者では術前に既に貧血の場合も多くこれまで貯血式自己血輸血は困難とされていた。特に頭頸部癌では放射線治療や化学療法などの術前治療を施行することが多いが一層困難であり、悪性腫瘍症例では貯血に長時間を要する自己血輸血は、その間の腫瘍進展の立場から実施不可能とされていた。ところが、recombinant human erythropoietin (rH-EPO)の出現により悪性腫瘍患者にも自己血輸血の可能性が報告されつつある。今回、頭頸部癌症例に術前治療を施行しrH-EPO投与下に短期間に貯血し、術後免疫能の変動を自己血輸血、同種血輸血、無輸血群の三群で比較検討した。

対象

1994年10月から1996年3月までの18カ月の間に当科にて手術され輸血が必要と思われる頭頸部癌31例を対象とした。対象症例一欄表を表1に示す。自己血輸血群17例と輸血の必要な進行

表1 対象症例一欄表

自己血輸血群	症例	年齢	疾患	TNM	病期	手術	前治療
	YN	58	上顎癌	T3N0M0	Ⅲ	上顎全摘術	照射
	TO	41	上顎癌	T3N0M0	Ⅲ	上顎全摘術	照射
	TK	62	下咽頭癌	T3N0M0	Ⅲ	咽喉全摘術、再建術	化学療法
	TY	42	上顎癌	T3N2M0	Ⅳ	上顎全摘術、頸部郭清術	化学療法、照射
	TYO	42	上顎癌	T3N2M0	Ⅳ	上顎全摘術、頸部郭清術	化学療法、照射
	MK	42	下咽頭癌	T3N0M0	Ⅲ	咽喉全摘、郭清術、再建術	化学療法
	YE	69	上顎癌	T3N0M0	Ⅲ	上顎全摘術	化学療法
	KA	54	下咽頭癌	T2N1M0	Ⅲ	咽喉全摘、郭清術、再建術	化学療法
	NS	54	口腔底癌	T4N2M0	Ⅳ	舌全摘、下顎骨切除、郭清、再建	化学療法
	YS	61	上顎癌	T2N0M0	Ⅱ	上顎部分切除術	化学療法
	MT	63	舌癌	T2N2M0	Ⅳ	舌半切、再建術	化学療法
	MT	29	舌癌	T3N2M0	Ⅳ	舌全摘、再建術	化学療法
	ES	58	口腔底癌	T4N0M0	Ⅳ	腫瘍摘出、頸部郭清術	化学療法
	TS	73	上顎癌	T2N2M0	Ⅳ	上顎部切、頸部郭清術	化学療法
	HY	59	下咽頭癌	T1N0M0	I	咽喉全摘、郭清術、再建術	化学療法
	MT	52	中咽頭癌	T3N2M0	Ⅳ	腫瘍摘出、郭清術、再建術	化学療法、照射
	KO	54	上顎癌	T3N0M0	Ⅲ	上顎部切、頸部郭清術	化学療法
同種血輸血群	QK	68	下咽頭癌	T4N0M0	Ⅳ	咽喉全摘術、再建術	なし
	SK	51	舌癌	T4N2M0	Ⅳ	舌全摘、郭清、再建術	化学療法
	TY	42	上顎癌	T3N2M0	Ⅳ	上顎全摘術、頸部郭清術	化学療法、照射
	SS	67	舌癌	T2N2M0	Ⅳ	舌半切、再建術	なし
	HA	67	下咽頭癌	T3N1M0	Ⅲ	咽喉全摘、郭清術、再建術	化学療法
	HT	68	下咽頭癌	T1N0M0	I	咽喉摘出、郭清、再建術	化学療法
	KS	30	舌癌	T4N0M0	Ⅳ	舌全摘術、再建術	なし
	KS	28	舌癌	T3N0M0	Ⅲ	舌全摘術、再建術	なし
無輸血群	JO	63	下咽頭癌	T4N1M0	Ⅳ	咽喉全摘、郭清術	化学療法
	TK	68	喉頭癌	T4N1M0	Ⅳ	喉頭摘出、郭清術	なし
	UO	77	口腔癌	T3N1M0	Ⅲ	口腔切除、郭清術	なし
	SM	72	上顎癌	T3N1M0	Ⅲ	上顎部分切除術、郭清術	なし
	TI	51	歯肉癌	T3N2M0	Ⅳ	舌全摘術、再建術	照射
	NO	53	下咽頭癌	T2N2M0	Ⅳ	咽喉全摘、郭清術、再建術	なし

前治療 照射40GY  
 化学療法 cisplatin 100mg+ 5FU 1000 × 5  
 化学療法 cisplatin 120mg 動注

1)宮城県立がんセンター頭頸科 2)同免疫部門

癌14例とした。同種血輸血の施行の決定は麻酔科医師が決め、同種血輸血群は8例、無輸血群は6例となった。病期は各群III、IV期が主で、病期Iの2例は下咽頭癌で遊離空腸による再建手術を要する例であり、病期IIの1例は上顎癌であった。尚、自己血輸血群は術前治療として放射線照射40Gy、又は化学療法として点滴静注にてCDDP100mg+5FU1000mg×5またはCDDP120mg動注の何れかとした。対象症例のまとめを表2に示す。

表2 対象症例

	自己血輸血群	同種血輸血群	無輸血群
平均年齢(才)	54 (29-73)	53 (30-68)	64 (51-77)
症例数(例)	17	8	6
病期			
I	1	1	0
II	1	0	0
III	7	2	2
IV	8	5	4

### 方法

原則として術前三週間前より貯血し、同時にrH-EP06000単位と鉄剤80mgを一日置きに投与した。各貯血前、術前、術後一週に末梢血液像、血清鉄、総鉄結合能、血液生化学検査の推移を検討した。貯血開始から手術直前までのヘモグロビン増加量(ΔHb)は表3により求め、評価した。又術後の免疫能の変動をNK(natural killer)活性、リンパ球分化抗原、IAPにつき検討した。

表3 ヘモグロビン増加量(ΔHb)の評価方法

$$\Delta Hb = \text{手術直前Hb} - \text{投与開始日Hb} + \sum_{i=1}^n (\text{採血時Hb}(i)) \times \frac{\text{採血量}(i)}{\text{循環血液量}}$$

なお、Hbはヘモグロビン濃度(g/dl)、nは採血回数であり、循環血液量は体重(g)を13で除して求めたものである。

### 評価

#### 1200ml貯血目標時

- a) 著効 (1.5g/dl ≤ ΔHb)
- b) 有効 (1.0g/dl ≤ ΔHb < 1.5g/dl)
- c) やや有効 (0.5g/dl ≤ ΔHb < 1.0g/dl)
- d) 無効 (-0.5g/dl ≤ ΔHb < 0.5g/dl)

#### 800ml貯血目標時

- a) 著効 (1.0g/dl ≤ ΔHb)
- b) 有効 (0.7g/dl ≤ ΔHb < 1.0g/dl)
- c) やや有効 (0.3g/dl ≤ ΔHb < 0.7g/dl)
- d) 無効 (-0.3g/dl ≤ ΔHb < 0.3g/dl)

NK活性は末梢血を採決後、Ficoll-Hypaque法により単核球を分離した。NK活性測定に51Crで標識したK562細胞を用い、4時間のクロミュウムリリース法で測定した。30% killingの時のEffector / Target ratio (以後E / T比)を求め、あらかじめFlowcytometryにより求めた単核球にたいするNatural killerの割合からLytic unitを下記の式で求めて客観的に術前後のNK活性を比較できるようにした。

$$\text{Lytic unit} = 10^5 / \text{NK細胞数} \quad (\text{NK細胞数} = \text{E / T ratio} \times \text{NK細胞の割合})$$

CD4 / CD8比の変動は手術直前より術後数週にわたり末梢血単核球を分離しCD4、CD8のモノクローナル抗体を用い2重染色しFlowcytometryにより解析した。術前後のCD4/CD8比の変動を調べるため術前のCD4/CD8を1として検討した。

IAP(Immunosuppressive acidic protein)の変動は手術直前より術後数週にわたり末梢血を3ml採決し、血清分離後免疫比濁法により血清IAPを測定した。

統計的処理 群間の比較はStudent's t-testにて検定しp<0.05の場合を有意差ありと判定した。

結果

貯血開始から手術直前までのヘモグロビン増加量 ( $\Delta\text{Hb}$ ) を表4に示す。平均貯血量は1082ml, 平均貯血期間は15.3日、平均ヘモグロビン増加量 ( $\Delta\text{Hb}$ ) は1.89g/dlであり短期間に効率良く貯血できた。評価は著効12例、有効4例、やや有効1例であった(表5)。

表4 ヘモグロビン増加量 ( $\Delta\text{Hb}$ )

症例	$\Delta\text{Hb}(\text{g/dl})$	評価
(1) YN上顎癌(58才、男性)	1.56 (15日、800ml貯血)	著効
(2) TK下咽頭癌(62才、男性)	1.83 (28日、1600ml貯血)	著効
(3) TO上顎癌(41才、男性)	3.17 (22日、1200ml貯血)	著効
(4) TY上顎癌(42才、男性)	3.92 (13日、1200ml貯血)	著効
(5) TYo上顎癌(42才、男性)	2.15 (14日、800ml貯血)	著効
(6) MK下咽頭癌(42才、男性)	1.27 (14日、1200ml貯血)	有効
(7) YE上顎癌(69才、男性)	1.49 (18日、800ml貯血)	著効
(8) YS上顎癌(61才、男性)	0.96 (11日、800ml貯血)	有効
(9) KA下咽頭癌(54才、男性)	2.61 (18日、1200ml貯血)	著効
(10) NS口腔底癌(54才、男性)	1.50 (16日、1200ml貯血)	著効
(11) MT舌癌(63才、男性)	2.81 (22日、1200ml貯血)	著効
(12) MT舌癌(29才、女性)	1.51 (14日、1200ml貯血)	著効
(13) ES口腔底癌(58才、男性)	0.81 (5日、800ml貯血)	有効
(14) TS上顎癌(73才、女性)	2.56 (15日、1200ml貯血)	著効
(15) HY下咽頭癌(59才、男性)	1.16 (19日、1200ml貯血)	有効
(16) MO中咽頭癌(52才、男性)	0.44 (8日、(800ml貯血)	やや有効
(17) KO上顎癌(54才、男性)	2.31 (8日、1200ml貯血)	著効

表5 貯血結果

平均貯血量 1082±228 ml  
 平均貯血期間 15.3±5.5 日  
 平均ヘモグロビン増加量( $\Delta\text{Hb}$ ) 1.89±0.88 g/dl  
 平均出血量 791±80 ml  
 評価 著効 12例  
 有効 4例  
 やや有効 1例

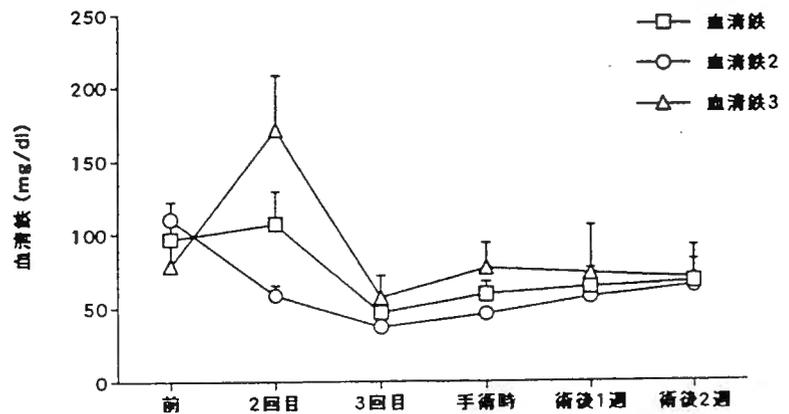


図1 血清鉄の変化

血清鉄：全症例の血清鉄の平均、血清鉄2：貯血毎に血清鉄が減少するグループ、血清鉄3：貯血2回目に一過性に血清鉄が増加しその後急激に低下するグループ

図1 血清鉄の変化

血清鉄の変動を図1に示す。貯血前の平均血清鉄は96.5±13.8mg/dlであり、2回目貯血前、3回目貯血前、術前、術後1週の平均血清鉄はそれぞれ107±22.1、46.8±7.4、59.2±8.8、63.8±13 mg/dlであった。図1の血清鉄2は貯血毎に血清鉄の減少していく群で、血清鉄の値はそれぞれ110.1±12、58.4±6.6、37.7±3.9、45.9±5.5、57.2±6.8であった。血清鉄3は1回貯血後に血清鉄が一過性に増加しその後減少していく群で、血清鉄の値はそれぞれ78.3±27.7、171.8±37.7、57.8±14.8、77.0±17.3、73.8±33.1であった。

術前シスプラチンの動注法を用いた典型的短期貯血法の1例を提示する(図2)。症例は54才、男性 上顎癌(T3, N0, M0)である。術前3週間前、2週間前にそれぞれシスプラチン120mg動

注し、術前8日目から1回400 ml 1日おきに計3回1200 ml貯血した。ヘモグロビン増加量 ( $\Delta$ Hb) は2.31 g/dlで評価は著効であった。造血状態を反映する網状赤血球は貯血前26%から手術直前には10%と増加した。網状赤血球は術後急激に低下するものの術後1週でも26%と高く、出血量より輸血量が多い事もあり他の例と同様に術後1週では貯血前よりHbは増加していた。

NK活性の術前後の変動を図3に示します。同種血輸血群においては術前NK活性 (Lytic unit)は650であったが術後1週、2週、3週、4週、5週、9週ではそれぞれ271, 251, 195, 128, 136であった。自己血輸血群では術前NK活性は380であったが、術後1週、2週、3週、4週、5週ではそれぞれ252, 297, 446, 460, 461,であった。無輸血群は術前NK活性は326であったが、術後1週、2週、3週、4週、5週ではそれぞれ162, 476, 489, 511, 511であった。同種血輸血群は術後9週でも低下したままであったが、自己血輸血群では術後2週から3週で術前値になった。無輸血群では術後2週で術前値になった。

CD4 / CD8 比の変動 (図4) 自己血輸血群と無輸血群は術後1週で術前値の約1.3倍に上昇した。自己血輸血群では術後

症例：54才男性、上顎癌 (T3,N0,M0)

術前治療 1月30日 CDDP 120mg 動注  
2月7日 CDDP 120mg 動注  
上顎部分切除術、頸部郭清術(2月21日)

貯血量 1200ml(2/13-2/21)  
出血量 900ml  
 $\Delta$ Hb(g/dl)=2.31

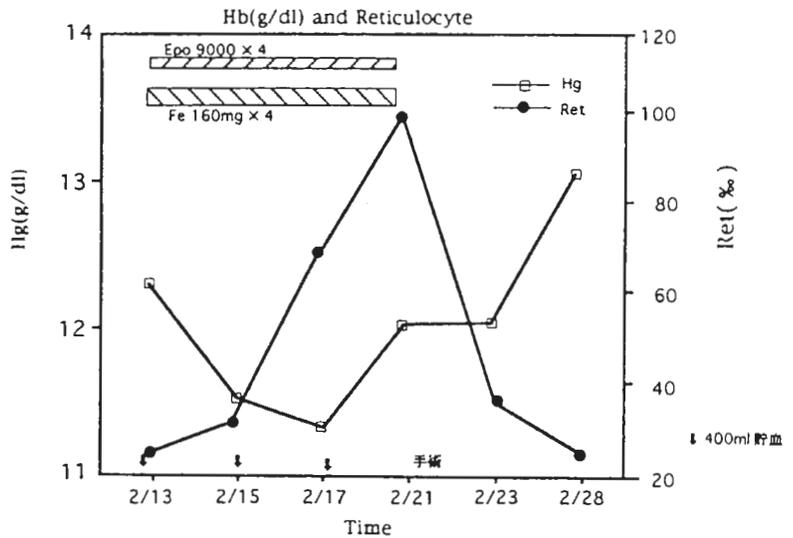


図2 症例

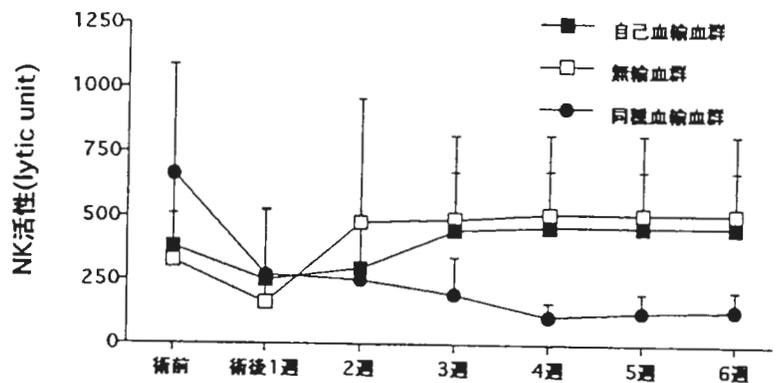


図3 NK活性の変化 p<0.05 (自己血輸血群vs同種血輸血群)

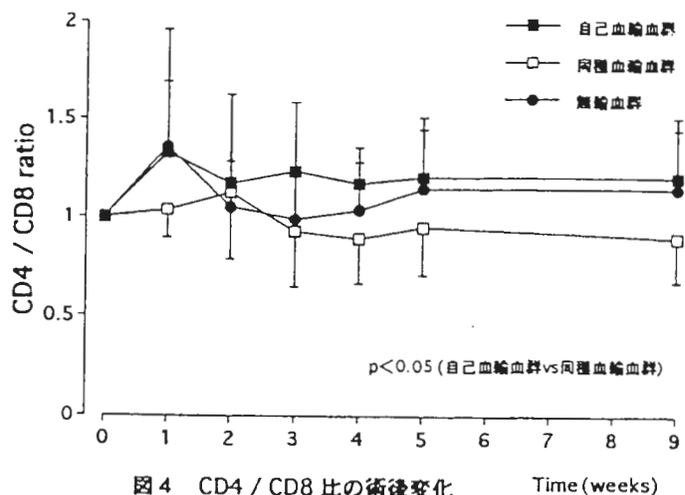


図4 CD4 / CD8 比の術後変化 Time (weeks) (術前値を1.00とする)

2週で1.16倍と軽度低下するが、3週以後1.2倍を維持した。無輸血群は術後2週から4週まで術前値になったが、術後5週から1.15倍になった。同種血輸血群は術後2週で1.16倍と軽度上昇するがそれ以後は低下し続け術前値より低下した。

IAPの変化(図5)3群ともに術後1週に上昇し以後低下した。自己血輸血群と無輸血群はほぼ同様の経過をとり、術後3週で術前値となったが、同種血輸血群は術後5週でも術前値にまで低下しなかった。尚、NK活性、CD4 / CD8 比、IAPは同種血輸血と自己血輸血群では有意差があった。

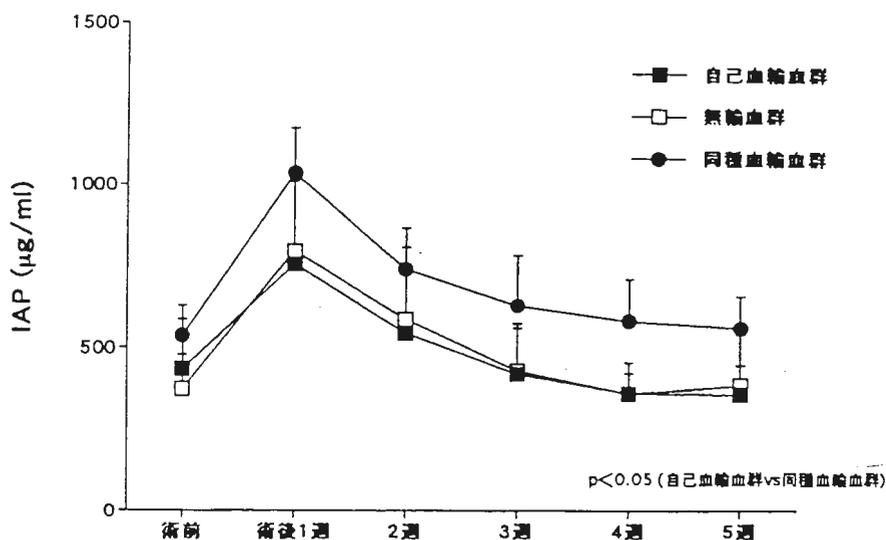


図5 IAPの変化  $p < 0.05$  (自己血輸血群vs同種血輸血群)

#### 考察

同種血輸血の副作用としてAIDSを始めとする感染症やGVHDが社会的に問題となっているが、毎日癌治療に携わる私たちにとって重要な事は輸血の免疫抑制作用である。拡大手術を施行し、根治手術が不可能で同種血輸血をした場合、癌の急激な増大と共に全身状態が悪化し悲惨な結末となる事をしばしば経験する。輸血と免疫抑制との関係についての報告は、Gantt<sup>1)</sup> (1981)は輸血が免疫抑制作用を起こすならば、輸血を受けた担癌患者の腫瘍に対する免疫能も抑制され、予後不良となる仮説を提唱した。Burrowsら<sup>2)</sup> (1982)は大腸癌における非再発生存率は輸血群の方が非輸血群に比較して有意に不良である事を報告したが、その後有意差を持って周術期輸血が予後を悪くするという報告(大腸癌<sup>1)</sup>、乳癌<sup>4)</sup>、胃癌<sup>5), 6)</sup>)が出された。しかし、一方では、輸血の予後に及ぼす影響は有意差がある程ではないとの報告もみられ<sup>7), 8)</sup>、現在でも議論の多いところである。従来より手術侵襲は宿主の強い免疫抑制状態を招く事が報告されており、この為術後の微少遺残癌巣の増大をもたらし、再発を促進する可能性が指摘されている<sup>9)</sup>。手術侵襲の影響は、腫瘍細胞破壊能力の強いNK細胞活性の低下ばかりでなくcytotoxic T cell, helper T cell機能の低下やsuppressor T cellの活性化が指摘されている<sup>10)</sup>。一方輸血による免疫能への影響についても、NK細胞活性の低下やsuppressor T cellの活性化が報告されている<sup>11)</sup>。このように手術侵襲による免疫抑制状態下に、さらに同種血輸血による免疫抑制が加わることは好ましくない。しかし、同種血輸血を避ける為に、切除範囲の縮小や根治性の低下した癌手術はあってはならないので、自己血を用いることで根治的手術が可能となり、更に免疫抑制がなければ、有用な治療となる可能性がある。本研究ではrH-EPOを用い、短期間での自己血貯血法の可能性を検討した。貯血式自己血輸血法は整形外科や心臓外科などの待期手術では長期間をかけて自己血を貯血してきたが、癌外科では腫瘍進展への危惧から出来るだけ早期の手術が望まれ、自己血の貯血に長期間は許されない。更に頭頸部癌では化学療法などの術前治療をする事が多く、貯血式自己血輸血は困難とされていた。このような条件下で自己血を貯血したが、平均貯血期間が15.3日で化学療法後の回復期間を利用しての貯血が可能であり、特別に貯血の期間を必要とせず、通常

の手術（自己血輸血をしない手術）と手術までの期間は同様であった。このように短期貯血が可能であったのは、図2の症例のようにシスプラチン投与後1週から2週には抑制された骨髓は回復期となり、その時期を利用してrH-EPO大量投与下に貯血を開始したので、急激に造血がおこったと思われた。又、輸血後のヘモグロビン濃度の経過は同種血輸血群では術後早期にヘモグロビン濃度が低下してくるのに対し、症例で示したように自己血輸血群では術後1週では貯血前より増加しており、全身状態が良好な状態で術後の治療（放射線、化学療法など）にすみやかに移行することが可能であった。血清鉄の変動より貯血前に血清鉄が十分に高い例では貯血開始とともに造血が盛んであるため血清鉄の消費が亢進し、貯血毎に血清鉄が低下したと思われた。一方、貯血前に既に鉄欠乏状態の例では鉄剤を投与するも造血が遅れる為、二回目採血時に血清鉄が一過性に上昇しその後造血してくる為急激に血清鉄が減少したと考えられた。従って、短期間に貯血をする場合は貯血前に十分に鉄欠乏状態を改善しておく必要がある。rH-EPOが赤血球産生を強力に刺激するため鉄需要が亢進し、たとえ貯蔵鉄が十分に存在しても貯蔵鉄からの鉄補給がそれに追いつかなくなり、相対的鉄欠乏状態を来すというVan Wyck<sup>12)</sup>の報告と一致する結果であった。

周術期生体反応として今回検討を加えたのは手術侵襲や同種血輸血で低下し抗腫瘍作用を持つNK細胞の活性、細胞性免疫能の指標となるCD4 / CD8比、癌患者の免疫抑制状態を最も良く反映するIAPの3つである。NK細胞は抗原による感作なしに、MHC非拘束性に抗腫瘍作用があり発癌阻止、癌の転移の抑制作用があるが、同種血輸血群では、術後9週でもNK活性は低下したままである。手術でいくら根治的手術を試みても微少な腫瘍細胞の残存、既に血中に入っている腫瘍細胞を考慮する必要があるが、これらに殺細胞作用のあるNK細胞の活性が長期にわたり低下すると、局所再発や転移が考えられる。従って根治的腫瘍摘出術を施行し、術後NK活性を低下させない自己血輸血が有用となってくる。rH-EPOはEPOレセプターを介して造血能力を高めるだけでなく、IL-2レセプターのβ鎖はエリスロポエチンのレセプターと蛋白構造上相同であり<sup>13)</sup> rH-EPOによりT cellやNK cellが刺激され活性化しうる可能性やrH-EPOによりIL-2産生能が上昇した<sup>14)</sup>との報告を考慮するとrH-EPOを併用した自己血輸血が一層有用と思われる。

細胞性免疫能の指標となるCD4 / CD8比は自己血輸血群と無輸血群で術後1週に上昇した。同種血輸血群では術後2週に上昇しその後低下し、術前値まで回復しなかった。いずれもCD4 / CD8比の上昇はCD4の増加とCD8の減少によるものであり、同種血輸血群でのCD4 / CD8比の低下はCD4の減少と特CD8の増加によるものであり細胞性免疫能の長期低下が考えられる。

IAPはマクロファージなどで産生される糖蛋白で免疫抑制作用がある。癌患者の免疫抑制状態を反映し、予後を予測するのに有用とされる<sup>15) 16) 17)</sup>。3群とも術後1週に上昇し以後低下するが、自己血輸血群と無輸血群は術後3週には術前値になるが、同種血輸血群は術後5週でも高値のまま術前値まで低下しなかった。同種血輸血群においてNK活性の低下やCD4 / CD8比低下を考慮すると同種血輸血群では輸血後高度の免疫抑制状態になっていると思われる。従って、同種血輸血を回避したいが、自己血輸血を実施する上で最も問題となるのは貯血期間が長くかかる事である。癌センターのように癌患者数が多く手術中心に次々と癌患者を治療していく場合、症例で示したような当科で施行している短期貯血法が便利で実用的である。これにより悪性腫瘍症例にも自己血輸血が普及する事が期待される。

## まとめ

- 1) 放射線治療、化学療法などの術前治療期間を利用し、短期間に輸血に必要な血液量の自己血を貯血できた。
- 2) 短期間に自己血を効率良く貯血するには貯血前に鉄欠乏状態を改善しておく必要がある。
- 3) NK活性、CD4 / CD8比は同種血輸血群では術後9週でも低下していたが、自己血輸血群では術後は3週には術前値に回復していた。
- 4) IAPは同種血輸血群では術後5週でも高値であったが、自己血輸血群は術後は3週には術前値に回復していた。
- 5) 同種血輸血による免疫力の低下は長期に及び癌の再発、転移の可能性が考えられるが、自己血輸血は免疫力を低下させず、頭頸部癌の手術に有効性が示唆された。

## 文献

- 1) Gantt CL. Red blood cells for cancer patients. *Lancet* 2 :363 1981
- 2) Burrows L and Tartter P. Effect of blood transfusion on colonic malignancy recurrence rate. *Lancet* 2 : 662. 1982.
- 3) Beynon J, Billings PJ, et al. Perioperative blood transfusion increased the risk of recurrence in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 32: 975, 1989.
- 4) 八木田旭邦、伊藤 久、北島政樹、他. 結腸癌と乳癌の根治術後の予後に与える輸血の影響. *医学のあゆみ* 139: 119, 1986.
- 5) Kaneda M, Chohno S, Horimi T, et al. Adverse affect of blood transfusion on survival of patients with gastric cancer. *Transfusion* 27: 375, 1987.
- 6) Sugezawa A, Kaibara N, Kimura O, et al. Blood transfusion and the prognosis of patients with gastric cancer. *J Surg Oncol* 42: 113,1989.
- 7) Voogt PJ, Bloem R, Brand A, et al. Perioperative blood transfusion and cancer prognosis. *Cancer* 59 : 836, 1987.
- 8) Weiden PL, Bean MA, Shultz P. Perioperative blood transfusion dose not increase the risk of colorectal cancer recurrence. *Cancer* 60 : 870, 1987.
- 9) 田中紀章、小長英二、万場徹也、他. 手術侵襲のNK活性に及ぼす影響. *日外会誌* 84: 203, 1983.
- 10) 峠 哲哉. 進行胃癌の術前免疫療法. *消化器外科* 15: 193, 1992.
- 11) Jensen LS, Andersen AJ, Christiansen PM, et al. Postoperative infection and natural killer cell function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery. *Br J Surg* 79: 513, 1992.
- 12) Van Wyck DB, Katz MA, Kirilin LF, et al. Iron status in patients recieving erythropoietin for dialysis-associated anemia. *Kidney Int* 35: 712, 1989.
- 13) 源誠二郎、谷口維紹. インターロイキン2とそのレセプター. *蛋白質 核酸 酵素 (臨増)* 36: 187, 1991.
- 14) 山代 寛 . 食道癌および胃癌手術における自己血輸血と周術期生体反応. *米子医誌* 44: 73, 1993.
- 15) Sakamoto J, Koike A, Saji S, et al. Preoperative Serum Immunosuppressive Acidic

Protein (IAP) Test for the Prognosis of Gastric Cancer: A Statistical Study of the Threshold Level and Evaluation of the Biological Response Modifier PSK. Jap J Surg 22: 530, 1992.

- 16) 小川健治、渡辺俊明、勝部隆男、他. 胃癌治療における血清 immunosuppressive acidic protein (IAP) 値の臨床的意義. 日臨外医学会誌 54: 879, 1993.
- 17) 木山輝郎、恩田昌彦、徳永 昭、他. 手術不能・再発消化器癌における栄養状態の評価と血中TNFおよび IAPの測定意義. 癌の臨床 41: 800, 1995.

# 食道癌根治放射線治療成績

—新しい群分類の臨床的有用性の検討—

菱沼 民生

宮城県立がんセンター放射線科

## Radiotherapy of Esophageal Cancer: Clinical usefulness of new grouping

Tamio Hishinuma

A total of 188 cases of nonresected esophageal cancer were categorized into the following groups based on T category (1987 UICC) and radiological classification (Japanese Society of Esophageal Diseases): Group 1: superficial or early (T2 or less) tumorous type; Group 2: advanced tumorous type, early serrated or early spiral type; Group 3: others. The response to radiotherapy was significantly related to the group. According to the proportional hazard model, the important factors predicting long-term survival were T category, radiotherapy response at the end of treatment, and group. There was a tendency to obtain better local control in group 1 patients than in group 2 patients, but cause-specific survival was the same for both groups (mainly the appearance of distant metastases). Local control was poor in group 3. If the tumor response at 40Gy was excellent in group 2 patients, the main cause of death was distant metastases, much the same as in group 1 patients. However, if response at 40Gy was not excellent, the main cause of death was local failure even though final tumor response was excellent. It seemed that therapy that may improve local control is valuable for group 3 patient, and for group 2 patients whose tumor response at 40Gy was not excellent.

Research Code No. : 605

Key words : Esophageal cancer, Radiation therapy,  
Prognostic factor

Received Apr. 1, 1996; revision accepted Dec. 20, 1996  
Department of radiology, Miyagi Cancer Center

## はじめに

食道癌放射線治療は手術不能例や切除不能例に対し施行されているが、特に切除不能例を対象とした場合、その治療成績は不良である。その原因の一つは局所制御率の低いことにあるとされている。一方、放射線治療により局所が制御された症例でも、その半数に遠隔転移の出現がみられるとされており<sup>1)</sup>、局所制御の向上が必ずしも遠隔成績の向上につながらない。最近局所制御の向上を目的として、小線源の併用や低線量率遠隔照射などが行われており<sup>2,3)</sup>、また最近当科においては大線量照射後切除可能になったと判断された症例に対して切除術を併用しているが、これらの局所制御向上を目的とした治療により成績の向上が望める症例を、治療開始前またはそれ以降の治療方針の変更が可能である40Gy時点で明らかにすることは、今後の無作為試験を行ううえでも重要と考えられる。今回宮城県立がんセンターにおける非切除食道癌放射線治療成績を解析し、以上の治療方針の決定に有用と思われる群分類を提唱したので報告する。

## 対 象

食道癌根治照射の定義として、今回は1987UICCにてT1-3, M0で、N因子は食道癌取り扱い規約でN2までで、外照射単独ではその総線量、腔内照射併用例では粘膜表面線量との加算が60Gyを越える放射線治療が施行できた症例とした。N因子に関してはCT非施行例が多く今回は解析の対象としなかった。1967年4月から1992年12月の間に当科にて放射線治療を施行した非切除食道癌症例468例中、上記の条件を満たすのは188例であった。その内訳はTable 1に示すように年齢49~88歳、平均70.2±7.3歳、性別は男149例、女39例で性比3.8であった。原発巣の進展度はT3が112例と約60%を占めていた。X線写真上の欠損長は7.0±2.7cm(1-17cm、X線にて描出不能の症例は内視鏡上の長径を採用)で、7cm未満が69例、7cm以上が119例であった。1984年食道癌取り扱い規約によるX線病型分類は表在型9例、腫瘤型27例、鋸歯型42例、らせん型92例、ろうと型18例であっ

Table 1 Patients characteristics

	Value	No. of pt.
Age	range average	49-88 (yr) 70.2 ± 7.3
< 70yr		77
≥ 70		111
Sex	male	149
	female	39
T (1987 UICC)		
	1	11
	2	65
	3	112
Length	range average	0-17 (cm) 7.0 ± 2.7
< 7cm		69
≥ 7		119
Radiol. class.*		
	superficial (Sf)	9
	tumorous (Tu)	27
	serrated (Se)	42
	spiral (Sp)	92
	funnelled (Fu)	18
Region*	Ce-lu	7
	Im-Ea	181
Endoscopic class. (types) **		
	0	13
	1	44
	2	62
	3	52
	4	7
Histological class.		
	squamous cell carc.	181
	adenocarcinoma	4
	carcinoma unclassified	3

\*: according to Guide Lines for Clinical and Pathological Studies on Carcinoma of the Esophagus by Japanese Society for Esophageal Diseases 1989, 7th ed.

\*\* : according to Borrmann's classification.

た。癌腫の主な占居部位はCe 1例, Iu 6例, Im 124例, Ei 48例, Ea 9例であった。内視鏡分類は0型 13例, 1型 44例, 2型 62例, 3型 52例, 4型 7例であった。組織型は全例に癌の診断がついているが, 細分類不能が3例, 腺癌 4例でその他は扁平上皮癌であった。手術非施行の理由は, 手術拒否, 合併症, 高齢などの理由により手術不能とされた症例が69例, T3であっても大動脈, 左主気管支などへの浸潤が否定できないといった局所進展の理由で切除不能とされた症例が119例(この中には術前照射として開始し最終的に手術を併用しなかった症例が含まれる)であった。

放射線治療は6MVリニアックX線を用い, 前後対向2門で40-50Gyまで照射し, 射入対向2門あるいは振り照射で脊髓をさけて残存巣に追加照射することを原則とした。1989年からは追加照射としてRaによる低線量率腔内照射を5例に併用した。外照射の分割法は1日1回で, 1回線量は1.5-5Gyであったが, 1.8-2.5Gyで週9-10Gyが大部分を占めた。潰瘍が深く穿孔の危険性のある症例では1回線量を少なくしていた。全体の13.8%の症例では途中1回線量を変更していた。照射野は呼吸性移動を加味し, X線所見上の欠損部から上下3cmを含めて設定した。原発巣と1次リンパ節,

2次リンパ節の一部が含まれていた。CT等により腫大リンパ節が明らか場合はそれを含めて照射することを原則とした。Raによる腔内照射は外照射56-60Gy後, 粘膜表面で1回5-6Gyを2回照射した。全治療期間は31~98日, 平均54.0 ± 14.3日で, 照射休止期間は10日未満107例, 10日以上81例であった。最終的な総線量は60Gy以上を目標としたが, 主に40Gy, 60Gy時点での治療一次効果を参考に決められており, 治療途中の効果が不良の症例ほど多い線量が照射されていた。総線量60Gy台が105例, 70Gy以上が83例であった。

化学療法に関しては同時併用を原則とした。さまざまな理由により化学療法を併用しなかった14例を除くと, 化学療法の内容は年代により異なり, プレオマイシンおよびペプレオマイシンが120例と最も多く, 続いてフルオロウラシル系が38例, シスプラチン(単剤および多剤併用を含む)13例であった。それぞれの総投与量はプレオマイシンで30-300mg(平均93.1mg), フルオロウラシル(5-FU)は静注では4000-10200mg(8090mg), 経口では1日量150-200mgで放射線治療後1年間, シスプラチンでは総量で50-100mg/m<sup>2</sup>(平均82.9mg)を投与した。また原則として放射線治療後1年間フルオロウラシル系薬剤を経口投与した。化学療法と種々の臨床因子との関係を見ると, 総線量70Gy以上ではプレオマイシン系が少なく, フルオロウラシル系がやや多く, またT1症例でシスプラチン併用例が多い傾向にあるが, 全体として各臨床因子別に大きな偏りはみとめられなかった。今回の検討では併用薬剤の選択が主に治療時期によって異なっていることを考慮し, 併用薬剤の違いが結果に及ぼす影響についての検討は行わなかった。

治療一次効果判定は1992年食道がん取扱い規約 食道がん化学療法および放射線治療の直接効果判定基準によって行った。再発形式については照射野内の食道およびリンパ節転移は局所再燃として扱った。経過観察期間は1993年7月1日まで, 最短7カ月, 最長126カ月で中央値50カ月であった。

## 治療成績の解析

### 1. 治療一次効果

40Gy時点での治療一次効果は判定不能であった症例を除くと20例(全症例の11.6%)がCRであった。40GyでのCR症例の内訳はT1: 4例, T2: 14例, T3: 2例, 長径では7cm未満が15例を占めていた。X線病型は表在型3例, 腫瘤型6例, 鋸歯型6例, らせん型3例であった。X線病型では表在型で3例(表在型全例中60.0%), 腫瘤型6例(24.0%), 鋸歯型6例(15.8%), らせん型3例(3.4%)の症例が40GyでCRとなっており, 局所の非進展例ほど早期に治療一次効果が発現していた。

最終的な治療効果はCR 81例(43.1%), PR 76例(40.4%), NC+PD 31例(16.5%)であった。T分類別にはT1でCR率100%, T2で69.8%, T3で23.2%であった。表在型, 腫瘤型,

Table 2 Radiation response (CR%) at 40Gy and at the end of treatment

Radiol. response	No. of Pt. (%)			
	at 40Gy		at the end of treatment	
	CR		CR	PR + NC
All cases	20 (11.6)	81 (43.1)	107 (56.9)	
T 1	4 (57.1)	11 (100)	0 (0)	
2	14 (23.7)	44 (69.8)	21 (33.3)	
3	2 (1.9)	26 (23.2)	86 (76.8)	
Length < 7cm	15 (25.4)	44 (63.7)	25 (36.2)	
≥ 7	5 (4.4)	37 (31.1)	82 (68.9)	
Radiol. class. Sf-Tu	9 (30.0)	50 (64.1)	28 (35.9)	
Sp-Fu	9 (2.8)	31 (28.2)	79 (71.9)	
Endoscopic class. 0-2	15 (12.5)	62 (48.1)	67 (51.9)	
3-4	6 (10.7)	19 (32.2)	40 (67.8)	
Region Ce-lu	1 (16.7)	6 (85.7)	1 (14.3)	
Im-Ea	20 (11.6)	75 (41.4)	106 (58.5)	

鋸歯型といった非全周性症例ではCR率64.1%に対し、らせん型、漏斗型といった全周性症例ではCR率28.2%であった。いずれも局所進展症例ほど奏効率が下がる傾向にあった(Table 2)。総線量、照射休止期間、併用化学療法別にはCR率に差異は認められなかった。

2. 単および多変量解析

全症例の遠隔成績は粗生存率で5年11.0%、cause specific survival rateで5年17.2%であった。以下cause specific survival timeを従属変数にとって解析を行った。log-rank testによる単変量解析では、生存期間と5%以下の危険率で有意

に相関関係の認められたのは、X線病型(非全周性/全周性 p = 0.009)、総線量(70Gy未満/70Gy以上 p = 0.005)、40Gy時点での治療一次効果(CR/PR + NC p = 0.006)、最終的治療一次効果(CR/PR + NC p = 0.0001)、T因子(T2/T3 p = 0.0001)であった(Table 3)。

多変量解析の結果は最終的治療一次効果(CR/PR+NC p = 0.0001)、T分類(T2/T3 p = 0.0122)が生存期間に関連した重要な予後因子であった(Table 4)。cause specific survival rateは

治療一次効果CR例で5年28.5%に対しPR + NC9.2%、T分類別にはT1 53.3%、T2では31.1%に対しT3 6.6%、であった。

次に最終的治療一次効果CRまたはPRが得られた157例につき局所非再燃率を種々の予後因子から検討した。全例の5年局所非再燃率は35.9%であった。単変量解析では治療終了時および40Gy時点での治療一次効果(CR/PR p = 0.001)、T分類(T2/T3 p = 0.0001)、総線量(60Gy台/70Gy以上 p = 0.049)が局所非再燃に関係していた(Table 5)。T1とT2の間では有意差は認められなかった。多変量解析では総線量(p = 0.0008)、T分類(p = 0.0073)、最終的治療一次効果(p = 0.046)、40Gy時点での治療一次効果(p = 0.01)が局所非再燃に関する重要な因子であった。各因子別の5年局所非再燃率は、総線量60Gy台56.0%、70Gy以上15.1%、T1 : 80.0%、T2 : 58.0%、T3 : 21.3%、最終的治療一次効果CR例54.0%、PR例18.3%、40Gy時点の治療効果CR例75.1%、PR + NC例24.0%であった。

3. 死因に関する検討

188例中20例が生存中であり、死因不明20例を除

Table 3 Univariate analysis of various clinical factors and cause specific survival

	No. of Pt.	Chi-square	P value
Age < 70yr	77		
≥ 70	111	0.59	0.44
Sex male	149		
female	39	0.34	0.56
Length < 7cm	69		
≥ 7	119	0.98	0.32
Region Ce-lu	7		
Im-Ea	181	0.52	0.47
Radiol.class. Sf, Tu, Se	78		
Sp, Fu	110	6.83	0.009*
Endoscopic class. 0-2	119		
3-4	59	0.02	0.90
T 2	65		
3	112	23.66	0.0001*
Total Dose < 70Gy	105		
≥ 70	83	7.78	0.005*
Duration of treatment (days) < 56	105		
≥ 56	83	0.39	0.53
Response (at 40Gy) CR	20		
PR + NC	153	7.54	0.006*
Response (at the end of treat.) CR	81		
PR + NC	107	96.99	0.0001*

\*: significant (p ≤ 0.05)  
The factor in the upper case of each category contributed to a longer survival.

Table 4 Estimated relative death rate and relative local relapse rate (Multivariate analysis)

	RR for survival	RR for local relapse*
T2	1	1
3	2.36(1.69-3.31)	3.89(2.30-5.49)
Response (at the end of treatment) CR	1	1
PR + NC	2.40(1.74-3.30)	4.20(2.32-6.49)
Response (at 40Gy) CR		1
PR		3.10(2.39-4.01)
Dose > 70Gy		1
≤ 70		2.62(1.66-4.12)

\*: exclude radiographic response NC cases  
( ): 95% confidence intervals RR: relative risk

Table 5 Univariate analysis of various clinical factors and local control of CR and PR cases

		No. of Pt.	Chisquare	P value
Age	< 70yr	63	2.66	0.10
	≥ 70	94		
Sex	male	122	0.75	0.39
	female	35		
Length	< 7cm	63	0.04	0.85
	≥ 7	94		
Region	Ce-lu	7	0.93	0.33
	lm-Ea	150		
Radiol.class.	Sf, Tu, Se	75	0.27	0.60
	Sp, Fu	82		
Endoscopic class.	0-2	104	0.29	0.59
	3-4	45		
T	2	64	18.52	0.0001*
	3	82		
Dose	< 70Gy	90	3.89	0.049*
	≥ 70	67		
Duration of treatment (days)	< 56	90	0.08	0.77
	≥ 56	67		
Response (at 40Gy)	CR	20	10.85	0.001*
	PR + NC	122		
Response (at the end of treat.)	CR	81	18.74	0.001*
	PR	76		

\*: significant ( $p \leq 0.05$ )

The factor in the upper case of each category contributed to a better local control

いた148例中122例(82.4%)が癌死していた。90例(60.8%, 他病死を除くと73.8%)が局所再燃単独, 11例(7.4%, 他病死を除くと9.0%)が局所+転移, 21例(14.2%, 他病死を除くと17.2%)が転移単独で死亡しており, 全体の68.2%(他病死を除くと82.8%)の症例で局所再燃が死因に関与していた。(Table 6)。各予後因子別に死因を検討するとT因子別にはT2症例では局所再燃単独22例(40.7%, 他病死を除くと57.9%), 局所+転移2例(3.7%, 他病死を除くと5.3%), 転移単独14例(25.9%, 他病死を除くと36.8%)で局所再燃は全体の44.4%, 他病死を除くと63.2%にすぎないのに対し,

Table 6 Cause of death

		No. of Pt.			
		LR	LR + DM	DM	others
All cases		90 (60.8)	11 (7.4)	21 (14.2)	26 (17.6)
T	2	22 (40.7)	2 (3.7)	14 (25.9)	16 (29.6)
	3	67 (75.3)	9 (10.1)	6 (6.7)	7 (7.9)
Length	< 7cm	24 (45.3)	3 (5.7)	9 (17.0)	17 (32.1)
	≥ 7	66 (69.5)	8 (8.4)	12 (12.6)	9 (9.5)
Radiol. class.	Sf-Se	23 (39.7)	5 (8.6)	15 (25.9)	15 (25.9)
	Sp-Fu	67 (74.4)	6 (6.7)	6 (6.7)	11 (12.2)
Endoscopic class.	0-2	60 (60.0)	6 (6.0)	18 (18.0)	16 (16.0)
	3-4	30 (78.9)	5 (13.2)	3 (7.9)	10 (26.3)
Region (at the end of treatment)	CR	23 (37.7)	5 (8.2)	17 (27.9)	16 (26.2)
	PR	39 (68.4)	4 (7.0)	4 (7.0)	10 (17.5)

LR: local recurrence DM: distant metastasis

T3症例では局所再燃単独67例(75.3%, 他病死を除くと81.7%), 局所+転移9例(10.1%, 他病死を除くと11.0%), 転移単独6例(6.7%, 他病死を除くと7.3%)で局所再燃が全体の85.4%, 他病死を除くと92.7%を占めT2症例より局所制御を得にくいことを反映した結果であった。長径, X線病型, 内視鏡分類でも局所進展例ほど局所再燃の占める割合が高かった。最終的治療一次効果別には, CR症例で局所再燃が全体の45.9%, 他病死を除くと62.2%を占めるが, PR症例では75.4%, 他病死を除くと91.5%を占めていた。

放射線障害としては食道癒着性狭窄6例, 肺線維症による高度の呼吸不全症5例, 放射線脊髄障害3例が認められた。他病死症例には6例の障害死症例が含まれており, その内訳は放射線脊髄障害による2次の合併症によるもの, プレオマイシンによる肺線維症によるものが各3例ずつであった。

最終的にCRとなった症例につき各臨床因子別に死因を検討すると, 長径7cm未満の症例に対し7cm以上の症例, T分類ではT2症例に対しT3症例で, いずれも局所再燃が増える傾向を認めた。同様に非全周性に対し全周性の症例, Borrmann0-2型に対し3-4型で局所再燃の占める割合が高くなる傾向を認めた(Table 7)。

#### 4. 新しい群分類に関して

cause specific survival timeおよび局所非再燃を従属変数にとった多変量解析の結果からは, いずれにおいても治療終了時点の治療一次効果のハザード比が最も高く, 最も重要な予後因子と考えられた。非切除症例に対する放射線治療において長期生存が期待できるのはCRが得られた症例に限られるとする全国集計の解析結果<sup>4)</sup>と一致しており, 放射線治療症例の予後を予測するうえで, 治療終了時点での治療一次効果の予測は非常に重要と考えられる。最終的治療一次効果と治療前のさまざまな臨床因子との相関をカイ2乗検定でみると, 5%以下で有意の相関のみられるのは, T分類, 腫瘍長径, X線分類, 内視鏡分類, 占拠部位

の5因子で, カイ2乗値から相関の強いのはT分類, X線分類, 腫瘍長径の順であった。一方各臨床因子間の相関を見ると, 内視鏡分類とX線分類間, 腫瘍長径とX線分類間が有意の相関を認めた。相関の強い臨床因子同士を組み合わせても, 治療一次効果との相関はあまり向上しないと考えられるため, 治療一次効果との相関の強いT分類とX線分類の2因子を組み合わせ, 各組み合わせごとの40Gy時点, 治療終了時点の治療一次効果(CR%)をみると,

Table 7 Cause of death of CR cases

		No. of Pt.			
		LR	LR + DM	DM	others
T	2	11 (30.6)	2 (5.5)	11 (30.6)	12 (33.3)
	3	11 (52.4)	4 (19.0)	5 (23.8)	1 (4.8)
Length	< 7cm	13 (39.4)	1 (3.0)	7 (21.2)	12 (36.4)
	≥ 7	10 (34.5)	5 (17.2)	10 (34.5)	4 (13.8)
Radiol. class.	Sf-Se	9 (24.3)	3 (8.1)	13 (35.1)	12 (32.4)
	Sp-Fu	14 (56.0)	3 (12.0)	4 (16.0)	4 (16.0)
Endoscopic class.	0-2	14 (31.1)	5 (11.1)	15 (33.3)	11 (24.4)
	3-4	9 (52.9)	1 (5.9)	2 (11.8)	5 (29.4)
Group 1	40GyCR	1 (14.3)	0	2 (28.6)	4 (57.1)
	40GyPR + NC	1 (16.7)	1	4 (66.7)	1 (16.7)
Group 2	40GyCR	1 (11.1)	0	3 (33.3)	5 (55.6)
	40GyPR + NC	6 (35.3)	2 (11.8)	4 (23.5)	5 (29.4)
Group 3	40GyCR	-	-	-	-
	40GyPR + NC	10 (66.7)	3 (20.0)	2 (13.3)	0

Group 1: superficial or early (T < 3) tumorous  
 Group 2: early serrated, early spiral, or advanced (T = 3) tumorous  
 Group 3: others

Table 8に示すように、表在型、およびT2までの腫瘍型は40Gy時点のCR率がいずれも約50-60%、治療終了時点のCR率が約90%で、40Gyおよび治療終了時のCR率がほぼ同じであった。これを第1群とまとめた。同様にT3の腫瘍型、T2までの鋸歯型、およびT2までのらせん型では40Gy時点でのCR率が10-20%、治療終了時点のCR率が50-60%で、ほぼ同様のCR率を示していた(第2群)。それ以外の症例では治療一次効果は不良であった(第3群)(Table 9)。この新しい群分類と治療終了時点のCR率との相関はカイ2乗値で50.1で、いずれの臨床因子よりも相関が高かった。また、T分類と腫瘍長径、内視鏡分類、占拠部位のそれぞれの組み合わせと、治療終了時点のCR率との相関は、それぞれカイ2乗値で38.8, 29.7, 48.2で、T分類とX線病型の組み合わせによる新しい群分類が最も相関が高かった。

5. 新しい群分類の臨床的有用性の検討

cause specific survival timeを従属変数にとって、単および多変量解析を行うと、いずれも第2群と第3群の間で、5%以下の危険率で有意差が認められた(log-rank test: p = 0.0001, Cox比例ハザードモデル: p = 0.0001)。ハザード比は第2群に対して第3群で2.19であった。第1群と第2群の間では有意差は認められなかったが、生存期間中央値は第1群で31カ月、第2群で22カ月、第3群で10カ月で、第1群は第2群より生存期間の中央値が延長する傾向を認めた。5年でのcause specific survival rateは第1群35.3%、第2群31.4%、第3群4.5%であった。局所非再燃期間を従属変数にとって単および多変量解析を行うと、いずれも第2群と第3群の間で、5%以下の危険率で有意差が認められた(log-rank test: p = 0.0001, Cox比例ハザードモデル: p = 0.0001)。ハザード比は第2群に

対して第3群で3.72であった。第1群と第2群の間では有意差は認められなかったが、第1群が第2群より局所非再燃率が良好の傾向を認めた(log-rank p = 0.28)。5年局所非再燃率は第1群68.4%、第2群47.8%、第3群15.2%であった。群分類別のcause specific survival curveおよび局所非再燃率曲線をFig.1, 2に示す。

死因を検討すると群分類別には第1群では局所再燃が全体の31.3%、他病死を除くと45.5%を占め、第2群では局所再燃が全体の44.7%、他病死を除くと63.6%、第3群では局所再燃が全体の89.3%、他病死を除くと96.2%を占め、第1群から第3群にかけて局所再燃が死因に占める割合が高くなる傾向を認めた。

最終的にCRとなった症例につき、40Gy時点での治療一次効果と群分類とを組み合わせると、第1群で40Gy時点でCRとなった場合、局所再燃が14.3%(他病死を除くと33.3%)を占めるのに対し、40Gy時点でCRとならなかった場合、局所再燃は16.7%(他病死を除くと20.0%)を占め、第1群の場合40Gy時点でCRに到達しなくとも最終的にCRとなれば局所再燃の死因中に占める割合は変わらなかった。一方、第2群では40GyでCRとなった場合局所再燃が11.1%(他病死を除くと25.0%)を占めたが、40GyでCRとならなかった場合、局所再燃単独35.3%、局所+遠隔11.8%で、全体の47.1%(他病死を除くと66.7%)に局所再燃が関与しており、40Gy時点でCRに到達していたか否かによって最終的にCRに達しても

Table 8 Radiation response (at 40 Gy / at the end of treatment) by T classification and radiological classification

Radiol. class.	CR% at 40Gy / CR% at the end of treatment			
	T classification			
	T 1-2		T 3	
Sf	60.0	/	100	-
Tu	46.7	/	86.7	10.0 / 50.0
Se	22.7	/	54.5	6.3 / 31.3
Sp	15.0	/	60.0	0 / 14.5
Fu	0	/	0	0 / 0

Table 9 Relationship between new grouping and the radiological response (at 40Gy and at the end of treatment)

Response at the end of treat.	No. of Pt. (%)			total
	Response at 40Gy		PR + NC	
	CR	PR + NC		
Group 1	10 (50.0)	8 (40.0)	2 (10.0)	20 (100)
Group 2	9 (17.3)	20 (38.5)	23 (44.2)	52 (100)
Group 3	1 (1.0)	14 (13.6)	88 (85.4)	103 (100)

Group 1: superficial or early (T < 3) tumorous  
 Group 2: early serrated, early spiral, or advanced (T = 3) tumorous  
 Group 3: others

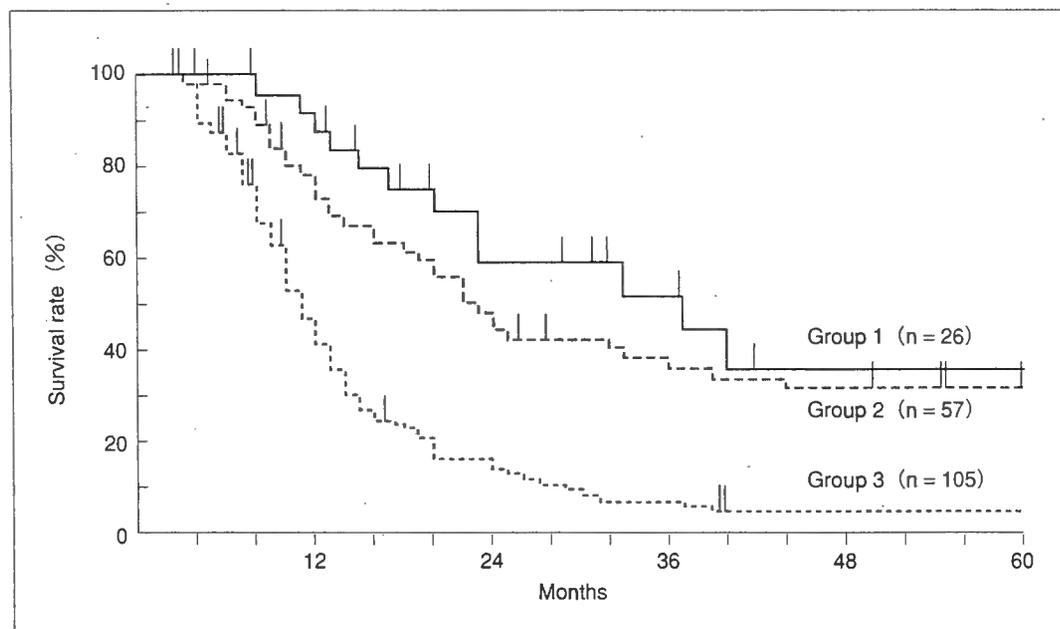


Fig.1 Cause specific survival curve of esophageal cancer by new grouping

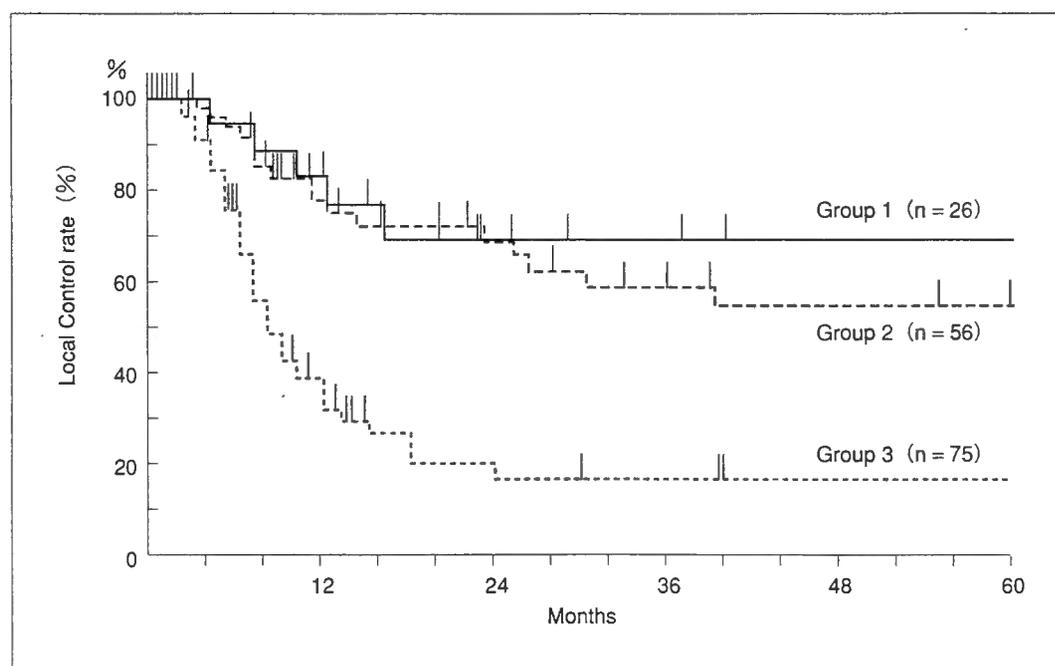


Fig.2 Local progression free rate of esophageal cancer by new grouping

局所再燃の占める割合に差異を認めた (Table 7).

### 考 察

最終的治療一次効果 (CR vs. 非CR) は多変量解析において生存期間 (cause specific survival time), 局所非再燃双方における最も重要な予後因子であり, 長期生存例はCR例に限られるとする全国集計の結果<sup>9)</sup>とも一致していた。最終的治療一次効果の予測は, 治療方針の決定のうえで重要と考えられる。最終的治療一次効果と, ささまざまな臨床的因子と

の相関を見ると, 有意の相関の認められるのはT分類, 腫瘍長径, X線分類, 内視鏡分類, 占拠部位の5因子で, カイ2乗値から相関の強いのはT分類, X線分類, 腫瘍長径の順であった。2因子同士の組み合わせで最終的治療一次効果との相関が最も高いのは, T分類とX線病型との組み合わせで, この組み合わせはまたいづれの単一因子よりも最終的治療一次効果との相関が高かった。40Gy時点, 治療終了時点のCR率の検討からも, 今回の群分類は各時点におけるCR発現率を反映していた。すなわち40Gy時点と治療終了時の治療一次効果の出現形式から, 食道癌根治照射症例は3群

に分けられることが分かった。第1群は治療効果が早期に出現し、40Gy時点で最終的にCRとなる症例の半数がすでにCRとなっていた。第2群では治療効果の出現が遅れる傾向にあり、最終的にCRとなる症例の1/3が40Gy時点でCRとなるにすぎなかった。第3群では40Gy時点でのCRはほとんど見られず、最終的治療効果も不良であった。

非切除食道癌症例に対する放射線治療成績は、手術不能の非進行例を対象としたものでは比較的良好な成績が得られているが<sup>51-71</sup>、本報告のように進行した切除不能例が大部分を占める場合は不良である<sup>81-261</sup>。報告上5年生存率は0-48%<sup>51-281</sup>であるが、切除不能の進行例が占める割合が多い場合10%前後の成績が多く、当施設の成績は標準的な成績と言える。全症例の5年局所非再燃率は35.9%であった。文献上局所制御率は20-35%とされており<sup>261</sup>当科の成績と大きな差異は認めない。いずれにしても放射線治療成績は不良でその原因の一つとして局所制御率の低いことがあげられる。今回の検討でも死因の約70%に局所再燃が関与していた。文献上食道癌の死亡の主因は全身的進展だが、局所再燃の死亡への影響はかなり大きいとされており<sup>271</sup>、また小線源治療などによる局所制御の向上による遠隔成績の向上の可能性も示唆されている<sup>281</sup>。

ここでは治療成績不良の原因を以下の3点に分けて考察した。一つは最終的治療一次効果CRが得られず局所制御不能が原因で治療成績が不良な症例で、今回の群分類別の最終的治療一次効果CR率は第1群で90%、第2群で56%、第3群で15%であるところから、これらは第3群症例と第2群の一部からなる。もう一つは最終的治療一次効果CRが得られても局所再燃が認められる症例で、文献上はCR+PR例の70%に局所再燃がみられるとされており<sup>291</sup>奏効例でも局所制御率は高くなく、治療成績の向上を妨げるもう一つの要因と考えられる。術前照射症例の検討ではCR例の73%が食道癌取り扱い規約による組織学的効果2度および3度(Ef2+3)<sup>301</sup>とされているが、今回の検討ではCR例の5年局所制御率54.0%でCR例の局所制御率は術前照射例での検討よりさらに低い印象であった。このような症例においても、局所制御不能の死亡への寄与が大きかった。剖検例の検討では食道癌症例ではかなり早期から遠隔転移が認められるとされており<sup>311</sup>、局所制御の向上とともに遠隔転移を抑制し得る多剤化学療法法の模索が必要と考えられるが、現時点では多剤化学療法併用によっても局所再燃が44%に認められており<sup>321</sup>、局所制御の向上の必要性を示唆している。第1群では第2群より生存期間の中央値の延長を認めたが遠隔成績に有意差がなかったように、局所制御を向上させても、遠隔転移の出現により長期の生存率の向上にはつながらないと思われるが、生存期間の延長と嚥下障害の軽減によるQOLの改善は期待できるものと思われる。

一方、局所制御の向上が必ずしも遠隔成績に向上につながらない症例も存在する。今回の検討では、早期に治療効果の出現する症例では局所制御率が良好なことは阿部らの報告<sup>331</sup>と一致していたが、第1群では死因の43.8%に遠隔転

移が関与しており、局所制御率の良好なことが長期の生存率の向上にはつながっておらず、第1群と第2群で生存期間に有意差は認められなかった。第2群では40Gy時点でCRとなった場合、死因中に局所再燃が占める割合は第1群とほぼ同じで、遠隔転移の占める割合の方が高かった。これらの症例でも局所制御の向上により治療成績の向上はある程度期待できるが、死因中に局所再燃が占める割合が10%台と低いことから考えると、その寄与は前述の症例群より低いものと思われ、遠隔転移の抑制を目的とした多剤化学療法を模索していく必要があると考えられる。

今回の群分類から治療成績を向上させるための治療方針をまとめると、第3群では治療効果不良で、治療開始時より多剤化学療法法の併用<sup>341</sup>および多分割照射や温熱療法、BRMの併用<sup>341</sup>の併用などの局所制御を向上し得る方法により治療一次効果増強をはかる必要があるものと思われる。第1群では局所再燃が死因中に占める割合は10%台で、局所制御の向上によっても治療成績の著明な向上は期待できず、遠隔転移の抑制のため有効な多剤化学療法法の模索が必要と考えられるが、局所に関しては従来通りの治療方針でもよいのではないと思われる。第2群では治療一次効果CRが得られない症例と、治療一次効果CRが得られても局所再燃が出現し、局所制御不能の症例、局所制御が得られても遠隔転移が原因で癌死する症例の3つが含まれているが、治療開始時点の臨床的因子のみから、この3者のいずれに含まれるかを正確に判断するのは困難であると思われる。しかし、40Gy時点での治療効果がCRとなった場合は、遠隔転移の占める割合が第1群とほぼ同程度に高く、40Gy時点でCRとならなかった場合、最終的にCRとなるのが50%弱で、最終的にCRとなっても局所再燃が47%と多かった。すなわち40Gy時点でCRとなったかどうかで、局所制御不能が死因に占める割合の高い症例とそうでない症例に分けられるものと考えられる。第2群で治療開始時点から多分割照射などの局所制御の向上を目的とした治療を併用するとする考え方もあると思われるが、その場合対象症例に第1群同様局所制御の向上が遠隔成績に向上につながらない症例が含まれることとなり、治療方法を比較する臨床試験での有意差の検出率が下がる危険性があり、また一部の患者に大きな利点のない負担の大きい治療を施行することとなると思われる。

最近局所制御率の向上を目的として、追加照射方法として低線量率遠隔照射や小線源治療が行われ<sup>241,251</sup>、また根治線量照射後の切除術も試みられているが、その適応は必ずしも明らかとなっていない。これらの治療法はいずれも放射線治療の途中から併用を行うものであり、治療途中で治療方針を決定できる利点がある。第2群症例では以上のことから、従来の照射方法で始め、40Gy時点でCRとならなかった場合は小線源の併用や、低線量率遠隔照射などの追加照射方法の変更や、切除可能となった症例では切除術の併用など、局所制御の向上を目的とした治療方針の変更を考慮する必要があると考えられる。

## 結 語

1. 40Gy時点および治療終了時の治療一次効果から食道癌根治照射症例の新しい群分類を提唱した。
2. この群分類は最終的治療一次効果との相関が従来のいずれの臨床的因子やその組み合わせよりも高く、最終的治療一次効果の予測にある程度有用と思われた。
3. 生存期間および局所制御期間に関する単変量、多変量解析では、群分類は有意の予後因子であった。
4. 死因の検討から、第1群では遠隔転移の占める割合が高

く局所制御の向上を目的とした治療法の変更による遠隔成績の向上には限界があるものと考えられる。第2群には第1群とはほぼ同様の特徴を持つ群(40Gy CR症例)と、局所制御の向上により治療成績のある程度の向上が期待できる症例(40Gy 非CR症例)が含まれているが、治療開始時点の臨床的因子で両者を分けることは現時点では困難で、40GyでCRとならなかった場合、追加照射方法の変更や切除術の併用等局所制御率を向上させる手段を考慮すべきものと考えられた。第3群では治療開始時から治療一次効果増強の手段を講じるべきであると考えられた。

## 文 献

- 1) 西尾正道：III期癌の放射線治療。食道癌。医学の歩み150：1048-1051, 1989
- 2) 西尾正道, 堀川よしみ, 森田皓三, 他：食道癌に対する密封小線源による腔内照射併用の意義。癌の臨床 34：261-268, 1984
- 3) 山田章吾：治療可能比向上のための時間的, 空間的線量配分—低線量率遠隔照射法—。癌の臨床 33：1601-160, 1987
- 4) 西尾正道, 森田皓三, 山田哲也, 他：食道癌M0症例の放射線治療成績の全国集計。日癌治誌 27：912-924, 1992
- 5) 中野隆史, 須藤久男, 伊藤 潤, 他：早期食道癌に対する放射線単独治療による根治可能性の検討。癌の臨床 31：236-239, 1985
- 6) Pearson JG: The present status and future potential of radiotherapy in the management of esophageal cancer. Cancer 39: 882-890, 1977
- 7) Pearson JG: The value of radiotherapy in the management of esophageal cancer. AJR 105: 500-513, 1969
- 8) 梅垣洋一郎, 大川治夫：食道癌の放射線治療。癌の臨床別刷, 消化器癌の診断と治療：329-343, 1972, 篠原出版
- 9) 大島敏美, 築山 巖, 松本泰三：<sup>60</sup>Co遠隔照射による食道癌の治療成績。臨床放射線 18：345-353, 1973
- 10) 佐伯祐志, 小川史顕, 田辺親男, 他：食道癌に対する放射線治療成績の検討。日本医放会誌 33：855-862, 1973
- 11) 山田章吾, 高井良尋, 根本健二, 他：食道癌の放射線治療成績。日癌治誌 28：786-793, 1993
- 12) 寛 弘毅, 有水 昇, 大川治夫：胸部上中部食道癌の放射線治療。癌の臨床 11：677-685, 1965
- 13) 金田浩一, 岡野滋樹, 五島英迪, 他：中部食道癌の放射線治療成績。癌の臨床 14：860-87, 1968
- 14) 碓井貞仁, 荒居竜雄, 恒元 博, 他：食道癌の放射線治療成績。癌の臨床 12：43-50, 1975
- 15) 森田皓三, 母里知之, 寛 弘毅, 他：食道癌の放射線治療成績。癌の臨床 20：199-206, 1974
- 16) Newaishy GA, Read GA, Kerr GR: Results of radiotherapy of squamous cell carcinoma of the oesophagus. Clin Radiol 33: 347-352, 1982
- 17) 中野隆史, 伊藤 潤, 伊藤一郎, 他：食道癌の放射線治療。日癌治誌 19：2093-2102, 1984
- 18) 森田皓三, 唐沢和夫, 高木 巖, 他：食道癌における放射線治療前後の食道造影所見と予後との関係—術前照射症例と根治照射症例との比較検討—。癌の臨床 28：1575-1588, 1982
- 19) 高岡 中, 前田盛正, 浦野宗保, 他：食道癌の放射線治療について。日本医放会誌 27：1607-162, 1968
- 20) Millburn LR, Faber LP, Hendrickson FR: Curative treatment of epidermoid carcinoma of the esophagus. AJR 103: 291-299, 1968
- 21) 清野邦弘, 渡辺俊一, 大畑武夫：食道癌の放射線治療成績(第1報)。日本医放会誌 33：293-29, 1973
- 22) 宮地千尋, 小川恭弘, 坪井慶孝, 他：食道癌の放射線治療における長期生存例の検討。癌の臨床 27：1721-172, 1981
- 23) 木暮 喬, 赤池 陽, 平川 賢, 他：食道癌の放射線治療成績。日本医放会誌 42：1088-1099, 1982
- 24) Pierquin B, Wambersie A, Tubiana, M: Cancer of the thoracic oesophagus: two series of patients treated by 22 Mev betatron. Br J Radiol 39: 189-192, 1965
- 25) Beatty JD, DeBoer G, Rider WD: Carcinoma of the esophagus. Pretreatment assessment, correlation of radiation treatment parameters with survival, and identification and management of radiation treatment failure. Cancer 43: 2254-2267, 1979
- 26) Rider WD, Mendoza D: Some opinions on treatment of cancer of the esophagus. AJR 105: 514-517, 1969
- 27) Petrovich Z, Langholz B, Formenti S, et al: The importance of brachytherapy in the treatment of unresectable carcinoma of the esophagus. Endocuriether Hyperther Oncol 5: 201-208, 1989
- 28) Hishikawa Y, Taguchi M, Kamikonya N, et al: External beam radiotherapy alone or combined with high-dose-rate intracavitary irradiation in the treatment of cancer of the oesophagus: Autopsy findings in 35 cases. Radiother Oncol 11: 223-227, 1988
- 29) 酒井邦夫, 北島 隆, 稲越英樹, 他：照射後食道癌の再燃とその治療。臨床放射線 22：477-484, 1977
- 30) 林繁次郎, 森田皓三：食道癌の放射線治療による局所コントロールの可能性について。癌の臨床 13：1191-1198, 1977
- 31) Kelsen DP, Ilson DH: Chemotherapy and combined-modality therapy for the esophageal cancer. Chest 107: 224s-232s, 1995
- 32) Herskovic A, Martz MS, Al-Sarraf, et al: Combined chemotherapy and radiotherapy compared with radiotherapy alone in patients with cancer of the esophagus. N Engl J Med 326: 1593-1598, 1992
- 33) 阿部裕之, 山田章吾, 高井良尋, 他：食道癌の放射線治療成績—治療効果と予後—。癌の臨床 3：1105-1108, 1989
- 34) Mukai M, Morita S, Tsunemoto H: Combination therapy of local administration of OK-432 and radiation for esophageal cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys 22: 1047-1050, 1992

# 乳癌骨転移症例における予後因子の検討

## —予後予測と治療方針

菱 沼 民 生, 星 章 彦, 浅 川 洋

宮城県立がんセンター放射線科

### 要 旨

乳癌骨転移症例66例を対象に、生存期間を従属変数に多変量解析で予後因子を検討した。骨転移の範囲(第1頸椎から第5腰椎の高さに限局しているか否か)、年齢(40歳以下 vs. 41歳以上)、重要臓器(脳、肝、肺、胸膜)転移の有無の3因子が有意の予後因子であった。ハザード比からは以上の3因子は、予後に対し同程度の影響力を持つものと考えられた。この結果より、乳癌骨転移症例は予後の点から4群に分けうるものと考えられた。第1群は最も予後良好で、骨転移巣の範囲が限局し、41歳以上で重要臓器転移を有しない症例で、5年生存率43.8%、生存期間中央値34カ月であった。第2群は予後不良因子1因子を有する症例で、5年生存率10.0%で、生存期間中央値19カ月であった。第3群は予後不良因子2因子を有する症例で、1年生存率45.7%、生存期間中央値6カ月であった。第4群は予後不良因子3因子を有する症例で、1年生存率33.3%で2年以上の生存例は認められなかった。

放射線治療による骨転移巣の奏効率は86.8%であった。TDF60未満では治療成績は不良であった。TDFと寛解持続期間の関係を見ると、TDF40~66の群ではTDF67~82の群より寛解持続期間が短かったが、両者の差は32カ月以降消失した。TDF83以上の群ではTDF67~82の群と明らかな差異は認められなかった。

骨転移巣に対する放射線治療は、TDF60未満の成績が不良であることより、最低でもTDF60以上の線量が必要で、第3群ではTDF60~66、第2群ではTDF66~82を目標に照射すべきと考えられる。長期生存が期待できる第1群では、より根治的な治療法を考慮する必要があるものと思われる。

索引用語：乳癌、骨転移、予後因子

### はじめに

乳癌骨転移は、転移性骨腫瘍中呼吸器系腫瘍に次ぐ頻度を占める<sup>1)</sup>、重要な疾患の1つである。また骨転移のみを有する症例では長期生存例が認められることが知られており<sup>2)</sup>、骨転移症例中では他の予後不良な症例と分けて治療方針を決定する必要があるものと思われる。最近の画像診断や、治療技術の進歩により、積極的に整形外科的治療も施行されており、治療法の選択には予後予測がますます重要な位置を占めてくるものと思われる。今回当院にて加療した乳癌骨転移症例を対象に多変量解析による予後因子を検討した。また骨転移巣への照射線量と寛解

持続期間との関係を検討し、予後予測に基づいた治療方針につき考察した。

### 方 法

当院にて1967年4月から1994年12月までの間に化学療法、内分泌療法、放射線療法を施行した乳癌骨転移症例を対象とした。初回治療時の臨床病期は3までの症例としたが、臨床病期4でも、骨のみに限局した転移症例は骨再発症例とほぼ同様の臨床的経過をとるとされているため<sup>3)</sup>、今回の報告では含めて検討した。骨転移発症時点を起点とした生存率をKaplan-Meier法で算定し、また骨転移発症後の生存期間を従属変数としてCoxの比例ハザードモデ

(受付：平成8年9月27日)

ル (stepwise 法) にて予後因子の重要性の検討を行った。最終モデルに因子を取り込む有意水準は5%以下とした。予後因子に関しては、治療に関連した因子：化学療法の内容 (なし vs. 単剤 vs. 多剤), 内分泌療法の有無, 自覚症状に基づいた骨転移巣の治療効果と, 治療に直接関連していない因子：年齢 (40歳以下 vs. 41歳以上), 骨転移発症までの期間 (39カ月未満 vs. 以上), PS (2以下 vs. 3以上), 骨転移巣のX線病型 (溶骨 vs. 造骨または混合), 骨転移個数 (単 vs. 多), 骨転移分布 (体軸方向でみて第1頸椎から第5腰椎の高さに限局 vs. 非限局), 重要臓器転移の有無に分けて解析を行った。以上の統計解析には SAS/STAT ソフトウェア (SAS Institute Inc.) を用いた。

骨転移巣への放射線治療は様々な分割法が用いられているため, 総線量の評価は TDF (time, dose

and fractionation factor) で行った。TDF は異なった分割照射法間の比較のため Orton<sup>4)</sup> により提唱された生物学的等価線量で, 1回線量  $d$  (Gy), 照射間隔  $x$  (日), 照射回数  $n$  (回) とした場合,  $TDF = n(100d)^{1.538} \times x^{-0.169} 10^{-3}$  で求められる。また放射線治療後の照射部位の疼痛再燃の時期を放射線治療開始時を起点として評価した。

## 結 果

### 1. 症例内訳

初回治療時の臨床病期3までの症例が62例, 臨床病期4で骨のみに限局した症例が4例であった。骨転移発症時年齢は29~78歳で, 平均50.9歳であった。初回治療から骨転移発症までの期間は0~222 (臨床病期4症例を除くと5~222) カ月で, 中央値39カ月であった。骨転移巣のX線病型は溶骨型42例, 硬化

Table 1 Patients Characteristics

		No. of cases
Age	29~78 years	(aver. 50.9)
Latent period*	5~222 months	(median 39)
Histology	scirrhous	17
	medullary	12
	papillotubular	6
	others	5
	unknown	26
Distr. of bone meta.	confined (C1~L5)	34
	not confined	32
Distr. of other meta.	confined to bone	40
	with soft tissue meta.	5
	with dire organ meta.	21

\* Disease free interval from initial mastectomy to appearance of bone metastasis

Table 2 Types of Chemotherapy by Clinical Factors

	No. of cases		
	Type of chemotherapy		
	Single*	Multiple**	
All cases	30	27	
age ≤ 40 years	3	7	
	> 40	27	20
Extraosseous meta.	+	5	18
	-	25	9

\* Single: Single-agent chemotherapy

\*\* Multiple: Multiple-agents chemotherapy

型3例, 混合型16例であり, 骨転移の個数は単発性が17例, 多発性が49例であった. 骨転移分布は体軸方向でみて第1頸椎から第5腰椎までのレベルに限局している症例が34例, 非限局症例が32例であった. 26例は骨外転移巣を認め, そのうち5例は軟部組織のみに限局していたが, 21例は肝, 肺, 胸膜, 脳といった重要臓器に転移が認められた (Table 1).

2. 治療内訳

血液, 生化学異常や, 全身状態が不良なため全身的治療が受けられなかった4例を除く62例で, 骨転移発症時に化学療法および内分泌療法が施行されていた. 化学療法は57例に施行され, その内容は単剤が30例, 多剤が27例であった. 臨床的因子との関係を見ると, 40歳以下の症例では多剤化学療法が施行されている頻度が高く, また骨外転移巣を有する症例ではそうでない症例に比し多剤化学療法の頻度が高かった (Table 2). 多剤化学療法の内容は年代により異なるが, CMF療法 (サイクロフォスファミド+メソトレキセート+フルオロウラシル) 8例および CAF療法 (サイクロフォスファミド+アドリアシン+フルオロウラシル) 6例の占める割合が高かった. 化学療法は放射線治療前または同時併用が主体で, 多剤化学療法は2~3クール施行を原則とした. 内分泌療法は38例に施行され, その内容は卵巣摘出術が8例, 薬剤が30例でその内訳はタモキシフェン16例, 男性ホルモン8例, メドロキシプロゲステロンアセテートが6例であった. 以上の治療終了後, 原則として1年間経口抗癌剤 (主にフルオロウラシル) または経口ホルモン製剤を投与した.

骨転移巣に対しては1例のみ部分摘出術が施行されていた. 放射線治療は64例76部位に併用されており, 総線量は12.5~68 Gyで, TDF20~119であった.

3. 多変量解析結果

全症例の遠隔成績は生存期間中央値19ヵ月, 5年生存率17.0%であった (Fig. 1). 化学療法の有無, 化学療法の内容, 内分泌療法の有無といった治療内容に関連した因子をモデルにいった多変量解析では, 有意の予後因子は認められなかった. また自覚症状を指標とした骨転移巣の治療一次効果も有意の予後因子とは認められなかった.

患者属性に関する因子について検討すると, 骨転移の分布 (体軸方向で第1頸椎から第5腰椎までのレベルに限局しているかどうか), 肝, 肺, 胸膜, 脳といった重要臓器転移の有無, 年齢 (40歳以下 vs. 41歳以上) の3因子が有意の予後因子として認められた. ハザード比は骨転移の分布が2.02, 重要臓器転移の有無が1.86, 年齢 (40歳以下 vs. 41歳以上) 2.07で, 症例数の関係で信頼区間がやや広く信頼性が乏しいが, 以上の3因子は骨転移発症後の生存期間に対して, ほぼ同程度の影響力を持つものと考えられた (Table 3).

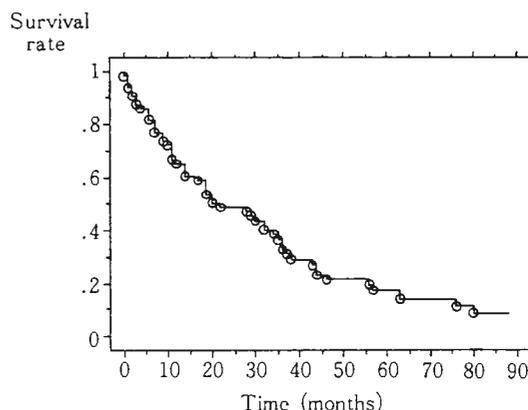


Fig. 1 Overall Survival Curve of Breast Cancer Patients with Bone Metastases

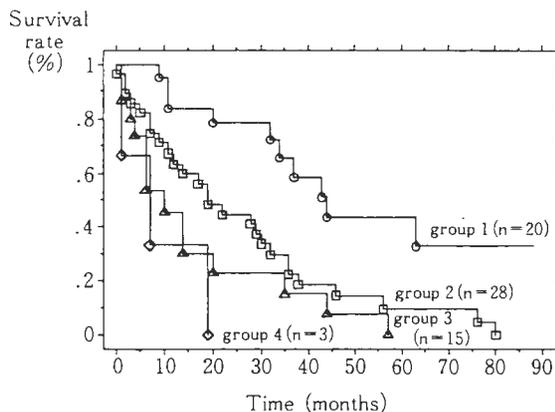
Table 3 Prognostic Factors for Overall Survival

	Hazard Ratio (95% confidence interval)		p value
Distr. of bone meta.			
Confined (C1~L5)	1		
Not confined	2.02	(1.52~2.69)	0.014
Age ≤40	1		
>40	2.07	(1.50~2.85)	0.024
Dire organ meta. -	1		
+	1.86	(1.39~2.49)	0.034

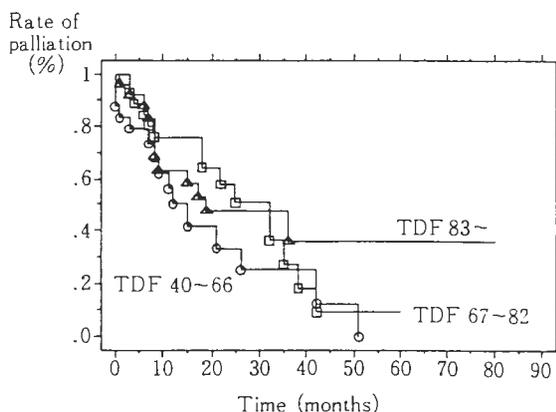
Multivariate analysis by Cox proportional hazards model

#### 4. 予後を反映した群分類

骨転移発症後の生存期間に関する予後因子が3つあり、ほぼ同様の影響力を持つものと考えられることより、乳癌骨転移症例は以下の4群に分けられるものと考えられた。最も予後良好の第1群は骨転移の分布が第1頸椎から第5腰椎の範囲に局限し、重要臓器転移がなく、41歳以上の20症例で、第2群は年齢、骨転移の分布、重要臓器転移いずれかの予後不良因子1因子を有する28症例、第3群は予後不良因子2因子を有する15症例からなる。第4群は最も予後不良の症例で、骨転移の分布が第1頸椎から



**Fig. 2** Overall Survival Curve by 4 Groups  
 group 1: without unfavorable factor (age > 40 years, distribution of bone metastases confined to cervical spine 1-lumbar spine 5 level, and absence of dire organ metastasis.)  
 group 2: possess 1 unfavorable factor  
 group 3: possess 2 unfavorable factors  
 group 4: possess 3 unfavorable factors



**Fig. 3** Duration of Pain Relief by Radiation Dose (TDF)

第5腰椎の範囲に局限しておらず、重要臓器転移を有し、40歳以下の3症例からなる。以上4群の生存率曲線を Fig. 2に示すが生存期間中央値は第1群で34カ月、第2群で19カ月、第3群で6カ月であった。第1群では1年生存率83.3%、5年生存率42.7%、第2群では1年生存率63.5%、5年生存率10.0%に対し、第3群では1年生存率45.7%で5年以上の生存例はなく、第4群では1年生存率33.3%で2年以上の生存例は認められなかった。

#### 5. 放射線治療例における総線量と寛解持続期間との関係

放射線治療を施行した76部位中治療効果の評価可能であったのは53部位で、疼痛の消失は35部位(66.0%)、1/2以上の軽減は11部位(20.8%)に得られ、自覚症状からみた奏効率は86.8%であった。TDFとの関係でみると、TDF60未達の症例では寛解率は58.3%と成績不良であった。疼痛の寛解が得られた46部位についてその後の経過をみると、26部位で疼痛の再燃が認められ、寛解持続期間は3~61カ月、median 17カ月であった。総線量(TDF)と寛解持続期間の関係を山田ら<sup>5)</sup>の方法に従いKaplan-Meier法でみると、寛解持続期間の中央値は、TDF40~66の群では8.5カ月、TDF67~82の群では11.5カ月、TDF83以上の群では16カ月で、TDF66以下の群に比しTDF67~82の群で寛解持続期間の延長を認めたが、照射開始32カ月以降では両者の寛解率の差はほとんど認められなくなっていた。またTDF83以上の群では3年以降の長期の寛解率はTDF67~82の群に比しよい可能性があるが、両者の間に明らかな寛解持続期間の差は認められなかった(Fig. 3)。

## 考 察

乳癌骨転移症例は転移性骨腫瘍中で占める割合が高く<sup>1)</sup>、また長期生存例も認められ<sup>2)</sup>、その取り扱いには他の骨転移症例とは分けて考える必要性があるものと考えられる。従来より、骨転移症例の予後因子に関する報告があり<sup>6)~10)</sup>、また骨転移症例の予後予測についてもいくつかの報告<sup>11),12)</sup>がなされているが、今回当院にて治療を施行した乳癌骨転移症例を対象に予後予測を目的に、多変量解析にて予後因子を検討した。治療に関与した因子では有意の予後因子は認められなかったが、CMF療法とCAF療法を比較した報告ではCAF療法において生存期間の延長が認められており<sup>13)</sup>、今回の検討での結果は

症例数と薬剤投与量のばらつきのためと考えられる。多変量解析の結果では年齢、重要臓器転移の有無、骨転移の範囲の3因子が生存期間に関係した有意の予後因子であった。骨転移の個数についても検討したが従来の報告通り<sup>7),12),14)</sup>、転移個数よりその分布が重要な予後因子であった。Coxの比例ハザードモデルで算定されるハザード比は予後因子の重要性の指標とされるが<sup>15)</sup>、今回の検討では上記3因子は同程度の重要性を持つものと考えられた。すなわち乳癌骨転移症例は予後不良因子をいくつ有するかによって4群に分けられ、この群分類は予後予測に有用と考えられた。

骨転移症例に対する整形外科的治療の適応の一つとして期待生存期間3カ月以上があげられている<sup>16)</sup>。また脊椎転移巣の整形外科的アプローチにも後方アプローチでの除圧固定といった姑息的なものから、前方アプローチでのより根治性を高めたものまであり、このような治療法の選択に予後予測は重要な位置を占めるものと思われる。生存期間6カ月を観血的治療の適応と考え、今回の群分類での第3群までがその適応となり、そのうち5年生存率で42.7%と長期生存が期待できる第1群の症例では、より根治性を持たせた治療法の選択が必要と考えられる。

骨転移に対する放射線治療では、一般的に総線量と寛解持続期間には相関は認められないとする報告が多いが<sup>17)-19)</sup>、1回線量2 Gyの通常分割で40 Gy未満ではCR率は低く、また線量と寛解持続期間の間に相関がみられるとする報告もある<sup>20)</sup>。今回の検討では総線量と寛解持続期間にはある程度の関連性があり、TDF66(通常分割法で約40 Gyに相当)以下の群は、TDF67~82(通常分割法で約40~50 Gyに相当)の群よりも寛解持続期間が長い<sup>16)</sup>が、32カ月以降ではその差は消失していた。TDF83以上の照射例ではTDF67~82の群に比し、寛解持続期間に明らかな差異は認められなかった。予後予測からみた群分類と合わせて考えると、TDF60以下の奏効率は不良なことより、最低でもTDF60以上は必要で、TDF66以下の群でも6カ月時点の寛解率が73%あることを考えると、生存期間中央値6カ月の第3群ではTDF60~66前後を目標に照射すべきものと思われる。19カ月時点ではTDF66以下の群では寛解率42%であるのに対し、TDF67~82の群では寛解率76%であり、生存期間中央値19カ月の第2群ではTDF67~82を目標に照射すべきと考えられる。長期生存が期待できる第1群では、32カ月以降の寛解率

に総線量ごとの差異がなく、34カ月で24~48%と不良であることから考えると、組織型と画像等の腫瘍径から推測される腫瘍制御に必要な根治的線量の照射、または腫瘍切除術と術後照射の組み合わせといった、より根治的治療法を考慮すべきではないかと考えられる。

## 結 論

乳癌骨転移症例の多変量解析による予後因子および放射線治療症例の寛解持続期間の検討を行い、生存期間を念頭に置いた治療方法につき考察した。

1. 生存期間を従属変数とした多変量解析では、年齢(40歳以下 vs. 41歳以上)、重要臓器転移の有無、骨転移の分布の3因子が重要な予後因子であった。

2. 上記3因子の組み合わせにより、乳癌骨転移症例は4群に分けられ、この群分類は予後予測に有用であった。

3. 寛解持続期間はTDF66以下の群でTDF67~82の群より短かったが、32カ月以降は両者の差は消失していた。TDF83以上の群では67~82の群との間に明らかな差は認められなかった。

4. 年齢41歳以上、骨転移巣の分布が限局しており、重要臓器転移が認められず、長期生存が期待できる第1群では可能であればより根治性のある治療を施行すべきである。放射線治療は、生存期間中央値19カ月の第2群(年齢、骨転移分布、重要臓器転移の有無の3つの予後因子中、1つの予後不良因子を有する症例)ではTDF67~82、生存期間中央値6カ月の第3群(2つの予後不良因子を有する症例)ではTDF60~66を目標に照射すべきであると考えられた。

## 文 献

- 1) 全国骨腫瘍患者登録一覧表, 国立がんセンター, 1984.
- 2) Sherry MM, Greco FA, Johnson DH, et al: Metastatic breast cancer confined to the skeletal system. An indolent disease. *Am J of Med*, 81: 381-386, 1986.
- 3) Sherry MM, Greco FA, Johnson DH, et al: Breast cancer with skeletal metastases at initial diagnosis. Distinctive clinical characteristics and favorable prognosis. *Cancer*, 58: 178-182, 1986.
- 4) Orton CG and Ellis F: A simplification in the use

- of the NSD concept in practical radiotherapy. **Br J Radiol**, 46: 529-537, 1973.
- 5) 山田章吾, 高井良尋, 根本建二, 他: 乳癌骨転移例に対する放射線療法の検討. **癌の臨**, 38: 111-115, 1992.
  - 6) Swernerton KD, Lephah SS, Hortobagyi GN, et al: Prognostic factors in metastatic breast cancer treated with combination chemotherapy. **Cancer Res**, 39: 1552-1562, 1979.
  - 7) 山下和夫: 乳癌の骨転移における予後因子の研究. **日整外会誌**, 62: 191-203, 1988.
  - 8) Stoll BA: Natural history, prognosis and staging. In: **Bone metastasis. —Monitoring and treatment.** Raven press, New York, 1983, p1-20.
  - 9) 安達勇, 鈴木昌文, 土橋孝之, 他: 乳癌—進行乳癌の骨転移の実態と治療成績の解析—. **癌と化療**, 14: 1688-1695, 1987.
  - 10) Coleman RE and Rubens RD: The clinical course of bone metastases from breast cancer. **Br J Cancer**, 55: 61-66, 1987.
  - 11) 山下和夫, 富士武史, 浜田秀樹, 他: 乳癌の骨転移における生命予後評価法. **日整外会誌**, 63: 393, 1989.
  - 12) 米延策雄, 山下和夫, 小野啓郎: 転移性骨腫瘍のステージ分類と生命予後判定. **脊椎脊髄**, 3: 287-290, 1990.
  - 13) Aisner J, Weinberg V, Peroff M, et al: Chemotherapy versus chemoimmunotherapy (CAF v CAFVP v CMF Each±MER) for metastatic carcinoma of breast: A CALGB study. **J Clin Oncol**, 5: 1523-1533, 1987.
  - 14) 山下和夫: 乳癌の骨転移における予後因子の検討. **日整外会誌**, 62: 191-203, 1988.
  - 15) 浜島信之: 多変量解析による臨床研究. 比例ハザードモデルとロジスチックモデルの解析と SAS プログラム, 名古屋大学出版会, 1990, p89-99.
  - 16) 川野壽, 徳橋泰明, 松崎浩巳, 他: 乳癌骨転移に対する整形外科的治療. **乳癌の臨**, 3: 65-74, 1988.
  - 17) Yarnold JR: Role of radiotherapy in the management of bone metastases from breast cancer. **J of Royal Soc of Med (suppl)**, 9: 23-25, 1985.
  - 18) Allen KL, Johnson TW, and Hibbs GG: Effective bone palliation as related to various treatment regimens. **Cancer**, 37: 984-987, 1976.
  - 19) Gilbert HA, Kagan AR, Nussbaum H, et al: Evaluation of radiation therapy for bone metastases: pain relief and quality of life. **AJR**, 129: 1095-1096, 1977.
  - 20) Acrangeli G, Micheli A, Acrangeli G, et al: The responsiveness of bone metastases to radiotherapy: The effect of site, histology and radiation dose on pain relief. **Radiother Oncol**, 14: 95-101, 1989.

## Prognostic Factors in Breast Cancer with Bone Metastasis

Tamio HISHINUMA, Akihiko HOSHI and Hiroshi ASAKAWA

Department of Radiology, Miyagi Cancer Center

### Summary

Sixty-six patients were analyzed to determine the prognostic factors in breast cancer with bone metastasis. The following were elucidated by multivariate analysis as favorable factors that independently influenced the overall survival (OS): 1) distribution of bone metastases (confined to the level of cervical spine 1~lumbar spine 5), 2) patient's age (more than 40 years old), and 3) absence of dire organ metastasis. It was also clarified that these three factors possessed the same degree of influence on OS.

The patients were categorized into four groups by prognosis. Group 1, which presented the most favorable prognosis, had all of the three favorable factors. The remaining groups, in ascending order, had two, one and none of the factors. Group 4 had the shortest survival time. Median survival times of group 1 to group 3 were 34 months, 19 months, and 6 months, respectively.

Pain relief was achieved in 86.8% of the irradiated sites. Lower doses (TDF < 60) gave lower response rates. The duration of pain relief from radiation of TDF40~66 was shorter than that from TDF 67~82, but the difference between the two groups of radiation dose disappeared after 32 months. There was no significant difference in the duration of pain relief between the radiation dose of TDF67~82 and TDF83 or more.

Radiation doses of TDF60~66 for Group 2 patients and TDF67~82 for Group 3 patients would be recommended to avoid pain relapse. For Group 1 patients more radical treatments for bone metastases seems necessary.

**Key words** : Breast cancer, Bone metastasis, Prognostic factor

## 原 著

## 擦過細胞診による胆嚢癌診断の有用性と適用限界について

宮城県立がんセンター<sup>1)</sup>, 武田内科クリニック<sup>2)</sup>小室 邦子<sup>1)</sup> 佐藤 郁郎<sup>1)</sup> 武田鐵太郎<sup>2)</sup> 小野寺博義<sup>1)</sup>大沼真喜子<sup>1)</sup> 植木 美幸<sup>1)</sup> 阿部 美和<sup>1)</sup> 中村 克宏<sup>1)</sup>立野 紘雄<sup>1)</sup>

早期胆嚢癌の発見率向上を目的として、摘出胆嚢の粘膜域全面の擦過細胞診が施行された 717 症例を対象として、擦過細胞診の胆嚢疾患の診断に果たす問題点の洗い出しと有用性ならびに診断能の限界について検討を加えた。

1) 肉眼的にほとんど異常を認めない胆嚢からも擦過細胞診により癌細胞が検出され、早期胆嚢癌の術中診断が可能であった。擦過細胞診は病変の存在が不明瞭な表面平坦型早期胆嚢癌を含む胆嚢癌の発見のための有力な方法と考えられた。

2) 胆汁細胞診や捺印細胞診よりも擦過細胞診の方が確実に細胞が採取され、スクリーニングに有効な検査法と思われた。胆嚢の短冊状全割組織標本を作製する前段階として行うべき簡便スクリーニング法として位置づけたい。

3) 粘膜表面に癌が存在しない転移性胆嚢癌では粘膜擦過によっても癌細胞は検出されず、そのような症例では割面擦過を行う必要がある。

4) 隆起型早期胆嚢癌では、癌細胞の陽性率は低かったが細胞所見を熟知することにより診断は可能と考えられた。

**Key words :** Gallbladder—Scrape cytology—Early cancer—Intraoperative diagnosis

## I. はじめに

胆嚢癌の術前診断は以前に比べかなり容易になったとはいえ、早期胆嚢癌、とりわけ隆起性病変を形成し

Application of abrasive cytology for rapid diagnosis of gallbladder tumors

Kuniko KOMURO<sup>1)</sup>, C.T., I.A.C., Ikuro SATO<sup>1)</sup>, M.D., Tetsutaro TAKEDA<sup>2)</sup>, M.D., F.I.A.C., Hiroyosi ONODERA<sup>1)</sup>, M.D., Makiko ONUMA<sup>1)</sup>, C.T., C.M.I.A.C., Miyuki UEKI<sup>1)</sup>, C.T., I.A.C., Miwa ABE<sup>1)</sup>, C.T., Katsuhiko NAKAMURA<sup>1)</sup>, M.D., Hiroo TATEN<sup>1)</sup>, M.D.

<sup>1)</sup>Miyagi Cancer Center

<sup>2)</sup>Takeda Medical Clinic

論文別刷請求先 ☎ 981-12 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 8 年 1 月 5 日受付

平成 8 年 6 月 14 日受理

ない胆嚢癌の診断はいまだ非常に困難であり、摘出胆嚢の肉眼的検索でも見逃されることが少なくない。

術後の病理組織学的検索で偶然発見された胆嚢癌症例の場合、切除断端部が癌陽性の際には再手術が不可避となり、一期的手術がなされなかった患者や医療従事者の負担は計り知れない。

したがって、肉眼的に確認できないような胆嚢癌を術中診断することは臨床医の手術術式に直結した問題であり、癌治療の向上に繋げることが期待できる。

われわれの施設では、摘出胆嚢粘膜域全面の擦過細胞標本を作製し、術中および術後の病理組織標本切り出し前における早期胆嚢癌の発見を試みてきた<sup>1,2)</sup>が、今回、その有用性ならびに診断能の限界について検討を加えたのでここに報告する。

## II. 対象および方法

対象は1986年から1994年の9年間に当院外科で胆嚢摘出術を施行され、同時に擦過細胞診がなされた717例であり、その内訳は胆石症、胆嚢炎、胆嚢小隆起性病変（腺腫、コレステロールポリープ、腺筋腫症など）を含む良性疾患697例、早期癌6例、進行癌11例、転移性癌2例、肉腫1例である（表1）。そのうちの51件は、術中迅速細胞診が施行された。

切除された胆嚢は手術室からただちに病理検査室に送られ、胆嚢肝床面を胆嚢長軸に沿って切開して粘膜面および壁肥厚の状態を観察した。写真撮影後、肉眼的に異常のない場合は胆嚢粘膜を頸部側、底部側におおよそ二分して、幅18mmのカバーガラスでそれぞれ擦過し、Papanicolaou染色1枚、M・G・G染色1枚を一組とする計4枚の標本を作製した。病巣が観察された場合は、病巣部と非病巣部をべつべつに擦過して、細胞診用標本を作製した。

染色方法は、通常症例ではPap.染色とM.G.G.染色によったが、術中迅速細胞診は主としてDiff-Quik法を行い、1993年以降は迅速Pap.染色を併用した。

組織診用標本は、摘出胆嚢を10%ホルマリンで固定後、再び写真撮影し、細胞診で疑診ないし陽性とさ

れた症例については胆嚢を全割し詳細に検討した。細胞診陰性例については胆嚢長軸にそって頸部から底部まで数本の切り出しを行い検鏡するにとどめた。

胆嚢癌は早期癌と進行癌に分け、早期癌の定義は渡辺ら<sup>3)</sup>の定義「癌の深達度が粘膜内または固有筋層までの癌で、RAS (Rokitansky-Aschoff sinus) 内進展は粘膜内進展とみなす」に従った。また、早期癌は早期胃癌の肉眼分類に準じて、Ip (有茎性隆起型)、Is (広基性隆起型)、IIa (表面隆起型)、IIb (表面平坦型) に分類した。早期胆嚢癌6例中、隆起型は4例、表面型は2例であった（表2）。

胆嚢の擦過塗抹標本を観察すると、良性病変ではシート状、柵状配列集塊に加えて、乳頭状集塊もごく普通に観察され、散在傾向が著しいのも一般的であり、胃や腸で集塊辺縁の散在傾向が悪性のポイントとなるのとは異なる。

随伴炎症所見の著しい胆石症などでは、細胞、核の腫大や大小不同、著明な核小体など多彩な細胞像を呈する。

これに対して、早期胆嚢癌細胞は、N/C比が大、やや腫大した類円形核は過クロマチンだが微細顆粒状で、2 $\mu$ 以上の核小体が目立つ。異型高度な部分では不規則重積を認める小集塊が多くなり、極性が乱れ、不整形核の混在もみられる。しかし、標本の全体像としては、胆石症などの良性病変や進行癌にくらべ、背景はきれいで、細胞は小型均一、単調である。

以上のような細胞所見を判定の基準とした。

## III. 結果

はじめに擦過細胞診を施行した早期胆嚢癌2症例を供覧し、それをふまえたうえで擦過細胞診の精度管理と組織診・細胞診不一致症例の検討結果について述べてみたい。

症例6：41歳、女性

現病歴：平成5年、職場検診の超音波検査にて胆嚢

表1 対象717例の内訳

組織診	細胞診			計
	陰性	疑陽性	陽性	
良性	684	10	3	697
早期癌	1	2	3	6
進行癌	1		10	11
転移癌	2			2
肉腫			1	1

感度 (sensitivity) = 70.0% (14/20)

特異度 (specificity) = 98.1% (684/697)

正診率 (accuracy) = 97.4% (698/717)

表2 早期胆嚢癌6例の内訳

症例	年齢	性別	胆石	肉眼型	大きさ (mm)	細胞診	組織診
1	75	f	+	Is	14×14×5	II	高分化型管状腺癌
2	41	m	+	Ip	6×6×5	III	乳頭腺癌
3	60	f	-	Ip	12×10×8	III	高分化型管状腺癌
4	58	m	-	Ip	14×10×7	V	乳頭腺癌
5	57	f	+	IIa	15×26×7	V	乳頭腺癌
6	41	f	-	IIb	50×50	V	高分化型管状腺癌



写真 1 症例 1 の擦過細胞像。細胞は小型だが、極性が乱れ不規則に配列する異型細胞集塊。このような集塊がスメアの大部分を占めた (Pap. 染色, 対物×40)



写真 2 症例 1 の擦過細胞像。左方には密な腺腔が存在したことを窺わせる間質成分, 右方には N/C 比の大きい類円形核細胞の重積集塊を認める (Pap. 染色, 対物×20)

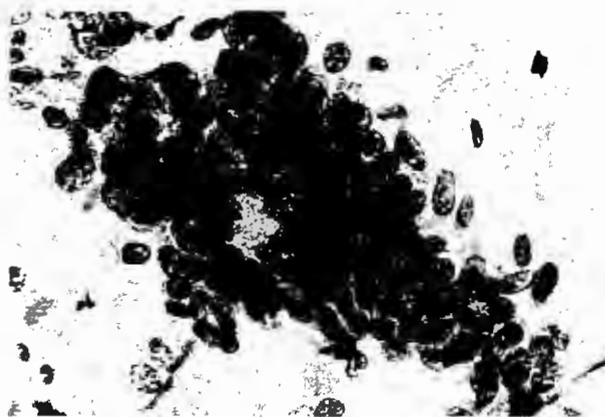


写真 3 右方集塊の拡大像 (Pap. 染色, 対物×40)

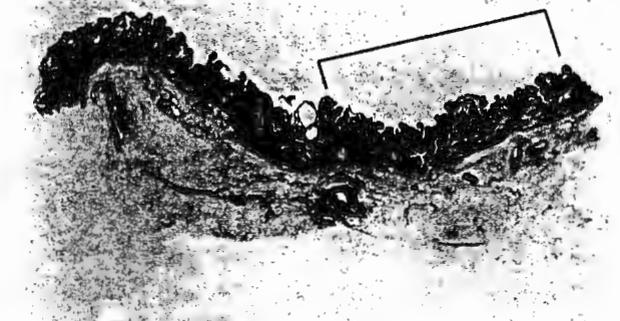


写真 4 症例 1 のルーベ像

の変形を指摘される。右季肋部の不快感が持続し、平成 6 年 9 月、当院内科を受診。各種画像診断にて、胆嚢の悪性腫瘍を否定できず、平成 6 年 12 月、胆摘術が施行された。

摘出標本：砂時計状の胆嚢が摘出され、切開後の肉眼所見では胆嚢のくびれた部位を中心として粘膜に cholesterol deposit が点在していた。固定前では肉眼で明らかに診断できるような病変は確認できなかったが、軽度の壁肥厚があったため迅速細胞診が施行された。固定後、二房性胆嚢の頸部側に IIb 型病変が顕在化した。

細胞所見：細胞集塊は小乳頭状を呈し、孤在性の細胞も多数みられた。細胞は小型で、核形は楕円形から類円形まで多様で不規則に配列し、ところにより不規則重積が著明で極性の乱れも認められた。クロマチンは細顆粒状から粗顆粒状で濃染性、核小体の目立つ細胞も観察された。高分化型の乳頭管状腺癌と判定され

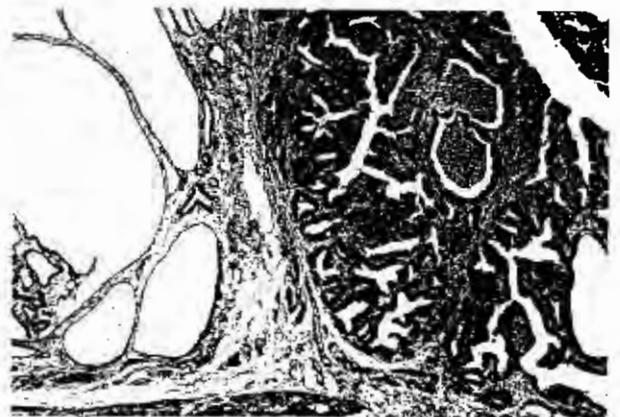


写真 5 症例 1 の組織像 (H-E 染色, 対物×4)

た (写真 1, 2, 3)。

組織所見：この結果を受け、胆嚢管断端の術中組織診が追加されたが、切除断端への癌浸潤はみられなかった。なお、広範なリンパ節郭清がなされた。ホルマリン固定後、胆嚢頸部を中心に大きさ 50×50 mm の

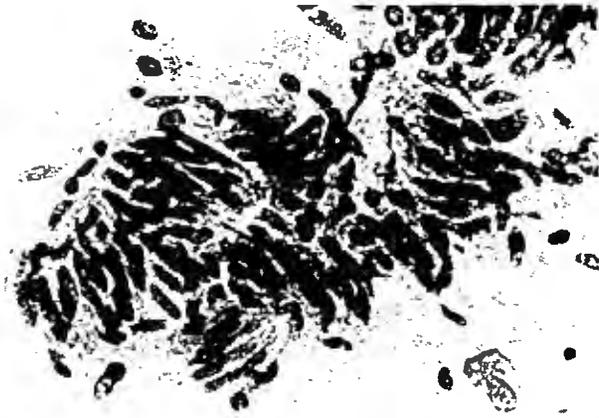


写真 6 症例 2 の擦過細胞像。細長核細胞の重積集塊 (Pap. 染色, 対物×40)

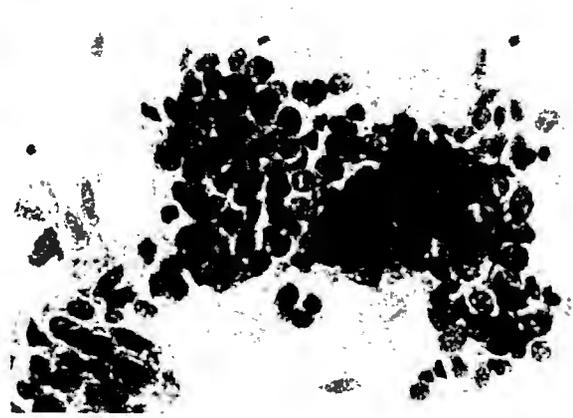


写真 7 症例 2 の擦過細胞像。スメア全体で癌を強く疑わせた唯一の細胞集塊。細胞は小型だが、類円核に混じって核形不整な濃染核細胞の不規則重積を認める (Pap. 染色, 対物×40)

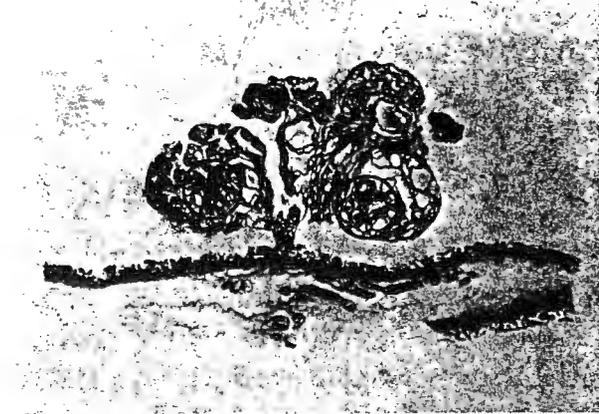


写真 8 症例 2 のルーベ像 (円内が腺腫内癌)

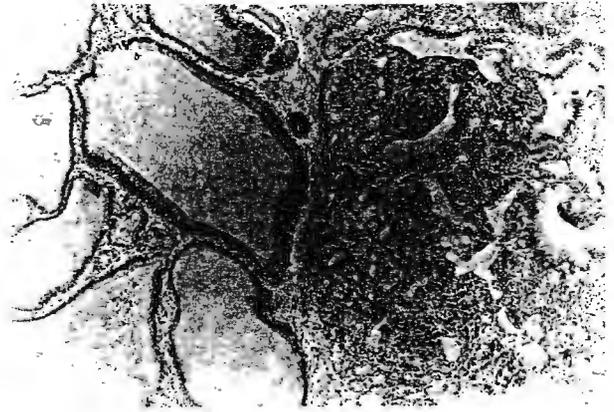


写真 9 症例 2 の組織像 (H-E 染色, 対物×10)

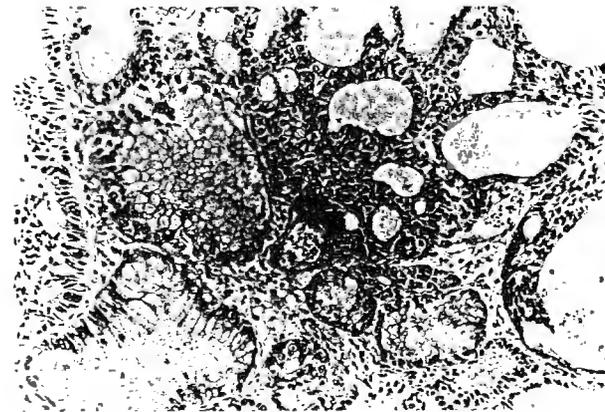


写真 10 症例 2 の組織像 (H-E 染色, 対物×20)

平坦な粘膜隆起で表面が絨毛状の粘膜増殖巣が肉眼的に観察できるようになった。非浸潤性の粘膜内癌 (m-RASs 癌) と最終診断された (写真 4, 5)。

症例 3: 60 歳, 女性

現病歴: 昭和 61 年, 無症状であったが, 腹部超音波検査にて偶然に胆嚢頸部に約 9 mm の胆嚢ポリープ

を指摘される。1 年間の経過観察後, ポリープは約 12 mm に増大し, 昭和 62 年 12 月, 胆摘術がなされた。

摘出標本: 細い茎を有する 12×8 mm の I p 型の隆起性病変が認められ, 術中迅速細胞診が施行された。

細胞所見: 主体は細長核細胞の密集する集塊で, 一部に長円形核あるいは類円形核を有する細胞の重積像, 極性の乱れ, 著明な核小体などが認められた。巣状の癌化を否定できない細胞像であった (写真 6, 7)。

組織所見: 腫瘤の大部分は腺腫より構成され, 腫瘤表面部は腺腫で, 腫瘤内部に高分化型管状腺癌が存在した。Adenoma with focal malignancy と診断された (写真 8, 9, 10)。

精度管理

表 1 に 717 例の組織診断と細胞診断との比較を示す。太枠内の疑診例 (class III または class II < III)

を偽陰性・偽陽性とみなすと擦過細胞診による胆嚢悪性腫瘍の感度 (sensitivity) は 70.0% (14/20), 特異度 (specificity) は 98.1% (684/697), 正診率は 97.4% (698/717) であった。組織診断と細胞診断の不一致は 19 例あり, 以下, 不一致例の検討を中心に述べてみたい。

偽陰性 6 例の内訳 (表 3) は, 早期癌 3 例, 転移性癌 2 例, 進行癌 1 例である。早期癌 3 例はいずれも有茎性・無茎性の腺腫内癌であった。早期癌に限ると sensitivity は 50.0% (3/6) と低率であった。その細胞所見は核が類円形で比較的小型均一であり, 過クロマチンで核小体の著明な細胞からなる集塊も認めるものの, 異型軽度なものが多かった<sup>1)</sup>。転移性癌 2 例は胃癌の浸潤あるいは再発例で, 組織診では粘膜下に印環細胞癌を認めたが, 細胞標本では細胞が採取されなかった症例であった。また, 進行癌 1 例は N/C 比の大きな大型細胞からなる異型高度な小集塊がみられたが, 標本不良なことと Diff-Quik 標本で核内所見が不明瞭なため見落したものであった。

一方, 偽陽性 13 例では, 表 4 に示すように, 胆嚢炎 (肉芽腫性・リンパ濾胞性・化生性), adenomyomatosis, cholesterol polyp などの組織背景が認められ, それ

に炎症性異型細胞が混在して観察された。これらの細胞所見は, 症例 1, 2 では集塊はシート状で核は類円形, 一部に核小体の著明な軽度大型核を認めたが N/C 比はそれほど大きくはなかった。症例 3, 4, 5 では, 集塊は柵状, 乳頭状集塊に加えて大型細胞からなる木目込み様シート状集塊を認めた。細胞質はライトグリーン濃染性, 核腫大, 大小不同など多彩な細胞像を呈した。症例 6 は, 印環細胞癌細胞や組織球との鑑別が問題となるような大型の goblet cell 集塊が多数出現した。症例 7 から 12 では, 乳頭状の大集塊を背景に, 核が類円形化し N/C 比が大で核も密になり一部に過クロマチン, 核小体著明な集塊も観察された。そのような集塊は大集塊よりも小集塊に多い傾向がみられた。症例により細長核細胞の密集重積集塊も多数観察された。また, 隆起性病変を形成した肉芽腫性胆嚢炎の症例 13 では組織球と線維芽細胞が storiform pattern 類似の所見を呈した集塊として認められ肉腫が疑われた<sup>2)</sup>。

#### IV. 考 察

##### 早期胆嚢癌の定義と臨床的特徴

胆嚢はその壁が薄く, 粘膜筋板を欠き, 重要臓器である肝に固着しているという解剖学的特異性を有する臓器である。そのため, 胆嚢に発生する癌では分化型癌が比較的多いにもかかわらず, 浸潤性発育の傾向がみられ, 胆嚢癌がいったん進展すればその予後はきわめて不良で, 臨床的に発見される胆嚢癌は世界的にみても 90~99% が進行癌, 治癒切除率は 10~48%, その 5 年生存率でさえ 10~33% と低い<sup>4)</sup>。

表 3 偽陰性 6 例の内訳

症例	年齢	性別	胆石	細胞診	組織診
1	54	m	-	II	胃癌の胆嚢転移
2	63	f	-	II	胃癌の胆嚢転移
3	75	f	-	II	進行癌 (中分化型管状腺癌)
4	75	f	+	II	I s 型早期癌 (高分化型管状腺癌)
5	41	m	+	III	I p 型早期癌 (乳頭腺癌)
6	60	f	-	III	I p 型早期癌 (高分化型管状腺癌)

表 4 偽陽性 13 例の内訳

症例	年齢	性別	胆石	細胞診	組織診
1	71	f	-	II < III	cholesterol polyp
2	66	f	-	II < III	cholesterol polyp, 偽幽門腺化生
3	53	m	+	II < III	リンパ濾胞性慢性胆嚢炎, 黄色肉芽腫
4	54	m	+	III	慢性胆嚢炎, cholesterol polyp
5	75	m	+	III	黄色肉芽腫性胆嚢炎
6	65	m	-	III	adenomyomatosis, 腸上皮化生
7	76	f	+	III	偽幽門腺化生, 腸上皮化生 (軽度)
8	72	f	+	III	dysplasia, 腸上皮化生
9	73	f	+	III	dysplasia
10	81	f	+	III	リンパ濾胞性慢性胆嚢炎, 腸上皮化生, dysplasia
11	72	f	+	III < IV	腸上皮化生, 偽幽門腺化生, adenomyomatosis
12	74	f	+	IV	adenomyomatosis
13	74	f	+	V	黄色肉芽腫性胆嚢炎

早期胆嚢癌の定義は癌深達度に規定されるが、m癌かmp癌か微小ss癌か、漿膜下のRAS内進展癌はm癌かss癌かなどについては確立されていなかった。渡辺らの定義「早期癌はm癌ないしmp癌で、RASss内癌はm癌とみなす」は、RAS内癌が間質浸潤を開始すると生物学的に重要な意味を持つてくることを配慮して、組織学的予後因子と生存率から提唱されたものだが、臨床的にも認知され、もはや結論づけられたものと考えて良いと思う。

渡辺ら<sup>5)</sup>の報告では、早期胆嚢癌のうち、約80%は胆石ないし胆嚢炎の診断で切除された胆嚢に見出されたという。また、武藤ら<sup>6)</sup>は良性胆嚢疾患として胆嚢摘出された614例の胆嚢を短冊状に全割し10例(1.6%)を粘膜内癌と診断している。そのうち1例が隆起型の癌で、他の9例は表面型癌であったと報告している。Vallilengua<sup>7)</sup>にいたっては120例中8例(6.7%)に、肉眼的異常所見を認めない早期胆嚢癌が検出されたという驚くべき結果を報告している。

早期胆嚢癌は早期胃癌と違って陥凹型はほとんど存在せず、隆起型病変と表面型病変に大別されるが、渡辺らの報告<sup>4)</sup>によると早期癌211病変中I p型10%、I s型27%、IIa型30%、IIb型32%で隆起型より表面型が多いことを裏付けている。

このうち、早期癌の術前画像診断や術後肉眼診断の重要な手がかりとなるのはI型ないしIIa型であり、術中肉眼診断率はI p型96%、I s型100%であったのに対し、IIb型ではわずか2%であり、IIa型では両者の中間の42%と報告されている。

早期癌の60%以上を占めるIIa型とIIb型では早期癌の肉眼診断率は現在でも依然として低く、武藤らの報告<sup>6)</sup>でも癌病巣が肉眼的に確認不能だったのは10例中4例もあったという。

当施設では摘出胆嚢717例中早期胆嚢癌は、6例、0.8%であった。そのうち平坦型は2例で、肉眼的に病変の不明瞭な癌は1例であった。早期癌で見られる細胞所見は、化生性胆嚢炎でも部分的に観察されたことから、他施設との頻度の違いは、基準となる組織診断の違いによる可能性が示唆される。

いずれにしても、胆石症・胆嚢炎と術前診断された症例の中にも早期胆嚢癌が発見され、しかも、術前診断・術中肉眼診断の困難な表面型が多いという点が早期胆嚢癌の最大の特徴となっていることをしっかりと記憶にとどめておきたい。

### 捺印細胞診と擦過細胞診の比較

胆嚢癌の治療成績向上のためには早期の症例を臨床医が術前に発見するとともに、術前診断されなかった病変については組織診断・細胞診断に携わるわれわれ病理部門のスタッフが術中診断により存在診断・深達度・進展度を明らかにすることを心掛け、再手術を防ぎ1回の手術ですべてが完了するよう努める必要がある。以上のことから、早期胆嚢癌の存在診断・質的診断に細胞診の果たす役割は大きいと思われる。

細胞診で胆嚢癌を発見する試みはいくつか報告されているが、このような目的でなされた研究として特筆すべきものは佐竹ら<sup>8)</sup>の手術中に胆汁やスタンプ標本を用いて迅速細胞診を行った成績であろう。佐竹らはこの方法で、良性病変として手術された184例から早期癌3例(1.6%)を含む4例の胆嚢癌を発見している。胆汁とスタンプ標本の併用が望まれるのだろうが、標本中の細胞数の多いことや細胞が確実に採取されることからスタンプ標本のみでも良いとしている。

われわれは捺印細胞診は行わなかったが、佐竹らの捺印細胞診とわれわれの擦過細胞診の成績を比較すると、佐竹らの方が早期癌の発見率が数段優れた成績を得ている。しかし、胆汁細胞診やスタンプ細胞診より擦過細胞診の方が確実に細胞が採取されるはずである。

捺印細胞診ではスタンプされる範囲が限られ、特に胆嚢拡張例では全面スタンプは無理と思われるが、擦過細胞診は捺印細胞診より細胞採取が確実であることに加え、胆嚢拡張例でも2~4枚位標本作製すれば済んでしまう。また、擦過細胞診後の組織標本は粘膜の剥離のため判読に悪影響を与えることが懸念されたが、擦過によっても粘膜表面のごく一部の細胞が喪失するに過ぎず、組織標本は、一部に粘膜の欠損がみられたが、摘出後の自己融解によるものか、擦過によるか不確実であり、組織診の判読に支障はなかった。

なお、胆嚢の微細粘膜像は症例6のように新鮮材料では捉えがたいが、固定材料では病変が明瞭となる。Shiraiら<sup>9)</sup>は「手術室でただちに切開、10分間10%ホルマリン固定」による肉眼診断を推奨しており、診断率の向上を得ているが、それでも肉眼診断率はI p型100%、I s型100%、IIa型91%、IIb型70%で、表面型は隆起型に比して低い。

肉眼的に病変が捉えやすくなったとしても、もし疑わしい病変がチェックされた場合、ホルマリン固定後では捺印や擦過により採取される細胞の新鮮度が低下し、数も少なくなることが予想される。細胞診の立場

からすればホルマリン固定は望ましくないが、外科医からすれば術中肉眼診断は重要と思われ、今後、この問題は臨床・病理双方で十分な検討がなされなければならない。

### 偽陰性例・偽陽性例の検討

細胞診の判定の誤りには偽陰性と偽陽性の二種類があるが、これらはトレードオフの関係にあり、一方を減らすと他方が増えるという二律背反な性質をもっている。これら2つの判定の誤りを同時に減少させることはできないのだが、実際には二者択一でなく「偽陰性は少なく、偽陽性も少なく」が要請される。

われわれは二兎を同時に追いかける必要があるのであるが、偽陰性の原因の大半は標本作製上の technical error に起因するものであり、また、偽陽性の原因は全例 interpretation error と考えられた。

#### 1. 擦過上の technical error とその対策

擦過細胞診が有用であった症例6の平坦型早期胆嚢癌の組織標本は、粘膜表層部は高分化型の癌細胞で覆われていて、細胞診においても、組織像を反映するように異型軽度の癌がみられた。

一方、症例3のようなポリープ型の腺腫内癌では、しばしば粘膜表面は異型軽度な腺腫細胞で覆われている。そのため、擦過によっても癌細胞がわずしか採取されなかったものと思われる。また、胃癌からの転移であった印環細胞癌例でも癌細胞が採取されなかったことから、隆起型早期胆嚢癌や転移性胆嚢癌では刮面擦過の必要があると考えられた。

#### 2. 染色上の technical error とその対策

粘稠性の胆汁が粘膜面から拭いきれない検体では粘膜上皮が採取されにくいのみならず、そのような材料が厚く塗抹されたとき急速乾燥が必要な M. G. G 染色や Diff-Quik 法では、乾燥が不完全で中に取り込まれた細胞は染色不良となる。迅速標本では十分な染色結果が得られないことは致し方ないが、Diff-Quik 法では核内の微細な観察が不十分になりやすいので、迅速 Pap. 染色や Shorr 染色の同時併用が望ましい。

#### 3. dysplasia の取り扱いについて

進行期の胆嚢癌に限らず、早期胆嚢癌でも胆石保有率は高く、諸家の報告を集計すると 46.4%~86.9% である。肉眼型別では表面型に胆石保有率は高いのだが、これは表面型が胆石の術前診断で切除され、顕微鏡レベルで初めて診断された症例が多いことと近年の画像診断学の進歩によって結石を伴わない隆起型胆嚢癌の術前発見率が向上しているためであろう。

胆石症・胆嚢炎でも高度異型細胞がしばしばみられるが、それに対し早期癌の組織型は乳頭管状腺癌・分化型管状腺癌といった高分化型腺癌が多数を占め、高度の構造・細胞異型を示す中～低分化型癌は少数である。さらに、癌病巣の周囲には癌とは断定できない異型上皮が存在する。このことが、胆嚢疾患の細胞診を難しくしている最大の原因であろう。

われわれは、dysplasia (異型上皮・異形成) とは低異型度癌、腺腫、反応性異型上皮を含んだ用語と理解しているが、癌の組織診断基準が施設により若干異なる原因であると思う。

それに対し、Oohashi ら<sup>10)</sup>は通常の組織所見と p53 蛋白の過剰発現から癌と非癌は明確に鑑別可能で、dysplasia は理論的には腫瘍性であり、用語「dysplasia」は不要であるとの見解を示している。

しかし、実際の診断例ではこれらの区別を明確にすることは難しく、中等度以上の異型上皮と癌の鑑別は重要である。全胆嚢癌中、25% が早期胆嚢癌だったとする報告<sup>7)</sup>もあるが、その成績は日常の経験からはとても受け入れがたく、母集団の違いや早期胆嚢癌の定義の違いはあるにせよ、もっとも大きな違いは dysplasia の解釈上の差異に基づいているものと思われる。この問題の結論づけはわれわれの能力を越えた問題であり、また、この論文で述べることは労多くして実りが少ないと思われるので、今回の検討事項からは除外せざるを得ない。

われわれの所期の目的は、肉眼的にほとんど異常を認めない胆嚢から早期胆嚢癌を発見し、胆嚢癌に対する適切で合理的な手術に寄与することであり、現在のところ、overdiagnosis はある程度仕方がないと考えているが、胆嚢の早期癌では良性異型細胞、特に severe dysplasia との鑑別は細胞診上の未解決問題として今後に残された研究課題となった。

われわれは、dysplasia の問題には触れなかったし、本論文ではむしろ意図的に避けて通ったが、組織診の立場からも細胞診の立場からも改めて論じる必要があると考えている。諸賢のご意見を乞いたい。

## V. おわりに

摘出胆嚢の短冊状全割組織標本作製を日常業務の一環として行っている施設も多いと思われるが、それに要するマンパワーの負担はかなり大きいものがある。そのため、組織標本作製する前に、おおまかであっ

でも病変の存在の有無とその性質を知っておくことは負担の軽減になると思われる。

短時間で容易に判定できる胆嚢擦過細胞診は術中迅速診断としても有用であり、また、組織標本の作製の点からも非常に簡便な省力検査法であることを強調しておく。今後の臨床応用を期待したい。

稿を終えるにあたり貴重な症例を提供して頂きました大内清昭博士をはじめ宮城県立がんセンター外科の諸先生に深謝致します。

### Summary

In order to detect a macroscopically inapparent carcinoma of the gallbladder and to avoid the risk of reoperation, 717 abrasive cytologies were performed immediately after cholecystectomy. Histologically, 697 patients were diagnosed as having benign diseases including cholelithiasis, cholecystitis, cholesterol polyp and adenomyomatosis, 6 early gallbladder carcinoma, 11 advanced carcinoma, 2 secondary carcinoma and 1 primary sarcoma of the gallbladder.

By abrasive cytology, one case of macroscopically inapparent carcinoma, two polypoid carcinomas and ten grossly evident carcinomas were confirmed during surgery. The overall sensitivity for carcinoma was 70%, the specificity 98%.

If grossly evident carcinomas are excluded, the sensitivity for early carcinomas decreased to 50%. In particular, the usefulness of abrasive cytology in diagnosing the polypoid type of adenoma with focal malignancy or metastatic carcinoma located beneath the mucosal surface was found to be limited. Such lesions should be scraped from the cut surface of the gallbladder.

However, the diagnosis of macroscopically inapparent gallbladder carcinoma is impossible before surgery. Coupled with its efficiency, simplicity and rapidity, abrasive

cytology is recommended as the only intraoperative procedure for the detection of inapparent carcinoma.

### 文 献

- 1) 小室邦子, 大沼真喜子, 村田孝次, 佐藤裕美子, 武田鐵太郎, 小野寺博義・ほか. 有茎性ポリープ型早期胆嚢癌 4 例の細胞所見. 日臨細胞誌 1993; 32: 222.
- 2) 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・ほか. 肉腫と炎症性偽腫瘍の鑑別が問題とされた胆嚢病変の 2 例. 日臨細胞誌 1995; 34: 1165~1171.
- 3) 渡辺英伸, 鬼島 宏, 内田克之, 近藤公男, 岩淵三哉. 早期胆嚢癌の定義と病理形態学的特徴. 胃と腸 1986; 21: 483~495.
- 4) 渡辺英伸. 早期胆嚢癌の病理. 日本病理学会誌・宿題報告 1994; 83: 110.
- 5) 渡辺英伸, 味岡洋一, 岩淵三哉, 本山悌一, 大橋泰博, 武井和夫. 早期胆嚢癌の概念—病理形態と予後からみて一. 胆と膵 1992; 13: 113~117.
- 6) 武藤良弘, 内村正幸, 脇 慎治, 林 輝義, 鮫島恭彦, 瀬川 徹・ほか. 早期胆嚢癌—その形態について—. 癌の臨床 1980; 26: 1665~1671.
- 7) Vallilengua, C., Rodriguez Otero, J.C., Proske, S., Celoria, G.C. Imprint cytology of the gallbladder mucosa. Acta Cytol. 1995; 39: 19~22.
- 8) 佐竹立成, 今井律子, 夏目園子, 新福正人, 平野みえ. 細胞診による早期胆嚢癌の術中診断について. 日臨細胞誌 1988; 27: 887~893.
- 9) Shirai, Y., Yoshida, K., Tsukada, K., Muto, T., Watanabe, H. Early carcinoma of the gallbladder. Eur. J. Surg. 1992; 158: 545~548.
- 10) Oohashi, Y., Watanabe, H., Ajioka, Y., Hatakeyama, K. p 53 immunostaining distinguishes malignant from benign lesions of the gallbladder. Pathol. Int. 1995; 45: 58~65.

## 尿細胞診における標本作製法の検討

— 2%ポリエチレングリコール加70%エタノール

固定法を中心として—

宮城県立がんセンター臨床検査技術部\*

小室邦子 加藤浩之 植木美幸  
阿部美和 佐藤裕美子 白井克彦

(H. 8. 8. 9 受付)

<Key words> 尿細胞診 標本作製法  
2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定液 細胞集塊の計数

細胞診全般にわたる標本作製の留意点としては、検体中の細胞回収率を高めること、塗抹面に細胞が均等に塗抹されること、細胞変性を避けること、染色性に優れていること、短時間でかつ簡便に行えること、経済的であることなどがあげられる。

尿細胞診に限らず、標本作製過程における細胞の喪失はある程度避けられないが、標本上の細胞数の多寡は診断精度を大きく左右する最も重要な因子であり、固定・染色時の細胞剥離を防止することの臨床的意義はきわめて大きい。

われわれの施設では、尿の検体処理に2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定液による標本作製法を用いているが、旧来の方法に比べ集細胞効果が高まり、しかも変性が少ないという良好で望ましい成績が得られた。ここに報告したい。

### I 対象および方法

検体処理を行った対象は自排尿 65 検体であ

**“Cytological analysis of accumulation method of urothelial cells—with emphasis on fixation technique in uro-cytology, using 2% polyethylenglycol added 70% ethanol—”**

Kuniko Komuro, *et al*: \*Department of Medical Technology, Miyagi Cancer Center (名取市愛島塩手字野田山 47-1 : 47-1, Nodayama, Medeshimashiote, Natori-shi, Miyagi 981-12, Japan)

る。50 ml の尿を 1500 rpm (360 G) で 5 分間遠心、対照用に供する一部～1/2 量を除いた沈渣の全量に、2%ポリエチレングリコール 1540 加 70%エタノール固定液約 3 ml を加えて攪拌し 30 分以上静置した。その検体を再度 1500 rpm (360 G) 5 分間遠心し、沈渣を通常のスライドガラス 2 枚に挟んで擦り合わせるか、またはピペットの軸にて引き延ばして乾燥させた後、95%エタノールで再固定後 Pap. 染色を施行した。この群を以下 A 群と略すが、沈渣の層が肉眼的に 2 層以上に分かれた検体は、各層ごとに上述の方法で処理した。

対照としては、沈渣の一部～1/2 量を引きガラス法で塗抹した固定・染色法の異なる 2 群、すなわち、乾燥固定・May-Grünwald-Giemsa 染色群 (以下 B 群) と 95%エタノール湿固定・Pap. 染色群 (以下 C 群) を選んだ。

スライドガラス上の塗抹細胞を遺漏なく数えあげることは困難を伴うことから、塗抹細胞量のおおよその指標として 10 個以上の細胞からなる集塊 (ただしシート状の表層扁平上皮細胞集塊を除く) を鏡検下で計数し、3 種類の方法で処理した検体を比較検討した。

なお、血性の尿検体は固定前に 1.4%シュウ酸アンモニウム水溶液 5 分による溶血操作を行った。

表1 標本1枚当たりの集塊数  
(65例)

集塊数	A群	B群	C群
0	19	43	50
1	20	4	5
~10	14	12	8
~20	5	2	
~40	2		1
~80	2	3	
~120			1
~140	1	1	
140~	2		
平均集塊数	11.5	5.5	2.5

表2 2%ポリエチレングリコール加70%エタノール  
固定法の奏効例

症例	病変	組織型	A群	B群	C群
1	膀胱癌, 尿管癌	移行上皮癌	0, 4, 69	0	0
2	膀胱癌	移行上皮癌	8, 15	11	2
3	前立腺癌	腺癌	12, 17	0	0
4	転移性膀胱癌	腎癌	11, 13	7	0

## II 成績

A法で各層ごとに処理した例の上層部からは、全例集塊を認めなかった。

表1にA, B, Cの各群で得られたスライドガラス1枚当たりの細胞集塊数を比較した結果を示す。平均細胞集塊数は、A群では11.5個、B群では5.5個、C群では2.5個であった。

子細にみると、細胞集塊が全く認められなかった検体は、B群43例(66.2%)、C群50例(76.9%)に対し、A群では19例(29.2%)であった。したがって、旧来法のB群、C群で細胞集塊が認められなかった症例の半数以上は、2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定液を用いることにより細胞集塊が検出されたことになる。また、細胞集塊を2個以上認めた検体は、A群では26例(40.0%)、B群18例(27.7%)、C群10例(15.4%)であった。

細胞集塊数は検体によって著しい差があり、データ分布が非対称形を示したため、ウィルコクソンの符号つき順位和検定にて各群の細胞集塊数を比較した。その結果、A群はB群、C群に比べ、有意の集細胞効果を示した( $p < 0.001$ )。また、B群とC群の間にも有意差が認められた( $p < 0.001$ )。

引きガラス法と2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定法の塗抹細胞量を比較した結果、引きガラス法では塗抹される細胞量

が制限されるという欠点があり、さらに、湿固定・Pap.染色では標本作製過程での細胞剝離が著しく、多くの細胞を喪失していることが明らかとなった。

表2には、2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定法が特に有用であった症例のデータを示した。表中の数値は、症例1では沈渣を各層ごとに処理した場合の細胞集塊数、症例2から症例4では、2枚のスライドガラスのそれぞれにおける細胞集塊数である。

症例1は膀胱癌、尿管癌の同時多発例で、多量の沈渣が認められたが、その沈渣は3層に分かれて観察された。最上層からは孤在性の有核細胞が観察されたものの細胞集塊はみられなかった。中間層は肉眼的に有核細胞層、最下層は赤血球層と思われたが、予想に反し、中間層からは4個/枚の細胞集塊のみで、最下層から最も多くの細胞集塊(69個/枚)が得られた。

## III 考察

尿細胞診は膀胱・尿路系腫瘍の診断に有用な検査法で、スクリーニングや治療効果の判定にも用いられている。しかし、尿細胞診の検体処理法はいまだに確立されたものがなく、施設ごとにさまざまな処理方法を工夫して行っているのが現状である。裏を返せば、液状検体ではこれといった標準的な標本作製法がなく、各施設でさまざまな方法でなされてきた標本作製法の

標準化が日本臨床細胞学会・教育シンポジウム(1992年, 1993年)のテーマとして取りあげられたのもそのためであろうと思われる。

### 1 2%ポリエチレングリコール加70% エタノール固定法の特長について

尿細胞診標本の作製に, オートスメアや Thin Prep, CYTO-RICH など特別な集細胞機器のない場合, サコマノ液や YM 式液状検体用固定液を使用し, 塗抹標本を一度乾燥させた後, Papanicolaou 染色する方法があり, 細胞回収率が良好であったことがすでに報告されている<sup>1-3)</sup>。われわれの追試でも, 集細胞法のスライドガラス1枚当たりの細胞数は群を抜くものであった。

その際の固定液としてエタノール濃度が50, 70, 95%, 乾燥防止剤としてポリエチレングリコール濃度が2, 4, 6, 10%を用いて, 種々の組合わせで, その成績の比較検討がなされている<sup>4)</sup>。エタノール濃度は高くなるほど, 良好な細胞所見を呈するが, われわれの経験によると, 95%エタノール固定では, 鏡検にはそれほど支障ないが, 検体処理中に肉眼的に認識できる大きさの集塊形成を生じ, 遠沈管に凝集付着するなどの標本作製上の難点がみられた。2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定液を使用した理由がそこにあり, また, 70%エタノールでは細胞変性を招来したり, 染色性に問題があるという欠点も認められなかった。

2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定液の使用により, オートスメアや Thin Prep, CYTO-RICH などの機器がなくても十分な集細胞は可能なこと, 卵白グリセリンや poly-L-lysine, silane などのコーティングスライドを用いなくとも剥離防止ができたこと, 細胞の保存状態が良好で染色性にも優れていたことが確認され, 臨床検査としての意義はきわめて大きいと考えられた。

さらに, 2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定液は, 尿50mlの沈渣当たり約3mlを加えるだけで十分な細胞保存効果, 集細胞効果が得られ, コストの点でも利点が認め

られた。

現在, 集細胞法として遠沈法が広く用いられているが, われわれが行っているような簡便集細胞法は, 今後も改良が加えられ, 施設によって多少の遅速はあっても, ますます普及していくものと思われた。

### 2 血性尿検体の処理方法について

遠心により沈渣が多層化した場合, 一般的にはバッフィーコート部分から細胞を採取することが推奨されている<sup>2,3)</sup>が, 表2にあげた症例1のように, 赤血球を多量に含んだ尿検体のなかには, 肉眼的に赤血球層と思われた最下層に最も多くの細胞集塊が含まれていることがある。

旧来法であれ, 2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定法であれ, どちらの方法にも共通していえることであるが, このような血性尿検体では, 細胞の採取部位を誤ると観察すべき細胞を見落とす危険があることが示唆される。

また, 遠沈条件は尿検査では1500rpm, 5分が一般的であるが, 佐竹ら<sup>3)</sup>は, 尿細胞診では, 3000rpm, 2分を推奨している。われわれは遠沈条件の優劣についての検討は行っていないが, 以上のことから, 大量の血性検体では溶血操作を勧めたい。少量の血性検体の場合, 溶血操作を省力している施設は少なくないと思われるが, そのような場合であっても, 固定液を加えることによって血球成分が凝固するので, よく攪拌してから静置することが大切であると思われた。

## IV 結 語

自排尿65検体を対象として, 2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定法による細胞回収率を中心に比較検討を試みた。

尿沈渣の固定に, 2%ポリエチレングリコール加70%エタノール固定液を用い, 標本を一度乾燥させる方法は, 細胞の変性や剥離が少なく, 細胞の観察に有用な方法であると考えられた。また, 少量の固定液で染色性に優れた標本が得られ経済性も高いことが実証された。

(稿を終えるに当たり、御指導御校閲を賜りました武田内科クリニックの武田鐵太郎先生、宮城県立がんセンター病理の佐藤郁郎先生に深謝いたします。

本論文の要旨は、第 37 回日本臨床細胞学会総会(1996 年、盛岡)にて発表した)

#### 文 献

- 1) 南雲サチ子：細胞診に用いられる固定染色法；Papanicolaou 染色を中心に。検査と技術

18：877～880，1990

- 2) 福島範子，朝隈蓉子：尿の細胞診標本作製法，2～8，武藤化学薬品株式会社，東京，1988
- 3) 佐竹立成：泌尿器の細胞診，80～88，武藤化学薬品株式会社，東京，1994
- 4) 小林康夫ほか：パパニコロウ染色のための液浸乾燥固定法—固定液の作製とその使用法—。日臨細胞誌 19：459～466，1980

## 症 例

# 奇怪な細胞像を呈し良悪性の鑑別が 問題となった髄膜腫の2例

宮城県立がんセンター<sup>1)</sup>, 宮城県立瀬峰病院<sup>2)</sup>, 武田内科クリニック<sup>3)</sup>

阿部 美和<sup>1)</sup> 佐藤 郁郎<sup>1)</sup> 小室 邦子<sup>1)</sup> 大沼眞喜子<sup>1)</sup>

植木 美幸<sup>1)</sup> 立野 紘雄<sup>1)</sup> 村田 孝次<sup>2)</sup> 武田鐵太郎<sup>3)</sup>

圧挫標本細胞診にて大小不同性と異型性を示し、良悪性の鑑別が問題となった微小嚢胞型髄膜腫2例の細胞所見を中心として報告した。

症例は44歳の女性と35歳の男性。細胞像は、前者では核は楕円形で大小不同が目立ち、N/C比も大きく、一見悪性腫瘍を疑わせたが、細胞間には大小さまじまの間隙が確認され、また、腫瘍細胞には多数の偽核内封入体をみることができた。後者では、前者に比べて異型性・多形性に乏しいものの通常型の髄膜腫に比べ核の大小不同を認めた。組織像は、両者とも大小不同の目立つ星形の腫瘍細胞が細長い細胞突起を出しながら結合し、細胞間には多数の小嚢胞が形成されていた。

微小嚢胞型髄膜腫は良性の経過をとる腫瘍であるが、その細胞所見は異型性に富み悪性腫瘍との鑑別を要する。微小嚢胞型髄膜腫の鑑別診断や亜型診断にとっては細胞集塊中の海綿状構造や偽核内封入体を確認することが有用であった。

**Key words :** Microcystic meningioma—Cytology—Histology—Electron microscopy—Immunohistochemistry

## I. はじめに

髄膜腫は原発性脳腫瘍の13~18%を占める代表的な脳腫瘍であり、多彩な組織型を呈することでよく知られているが、組織学的に微小嚢胞を形成するいわゆる

microcystic meningiomaの報告は比較的まれで散見されるにすぎない。最近、われわれは微小嚢胞型髄膜腫の2例を経験し、若干の知見を得たので細胞所見や鑑別診断を中心として報告する。

## II. 症 例

症例1: 44歳, 女性

主 訴: 左手の脱力

家族歴: 特記すべきことなし

既往歴: 75年, 卵巣嚢胞で手術

現病歴: 94年12月, 物を落としやすくなり, 左手の脱力に気づく。某医を受診したところ脳腫瘍が疑われ, 当院脳外科に紹介された。

画像診断所見: 右前側頭葉に接し, シルビウス溝を押し広げる嚢胞性腫瘤を認める。腫瘍内に偏在する壁に結節が腫瘍実質部で, 周囲の脳組織との間に嚢胞が

Pitfalls of cytodiagnosis of microcystic meningioma—Report of two cases—

Miwa ABE<sup>1)</sup>, C.T., Ikuro SATO<sup>1)</sup>, M.D., Kuniko KOMURO<sup>1)</sup>, C.T., I.A.C., Makiko ONUMA<sup>1)</sup>, C.T., C.M.I.A.C., Miyuki UEKI<sup>1)</sup>, C.T., I.A.C., Hiroo TATENNO<sup>1)</sup>, M.D., Takatsugi MURATA<sup>2)</sup>, C.T., I.A.C., Tetustaro TAKEDA<sup>3)</sup>, M.D., F.I.A.C.

<sup>1)</sup>Miyagi Cancer Center

<sup>2)</sup>Miyagi Prefectural Semine Hospital

<sup>3)</sup>Takeda Medical Clinic

論文別刷請求先 ☎ 981-12 名取市愛島塩手字野田山47の1 宮城県立がんセンター 阿部美和

平成7年9月13日受付

平成8年2月9日受理



写真1 症例1のMR像



写真2 症例1の細胞像 (Pap. 染色, 対物10倍)

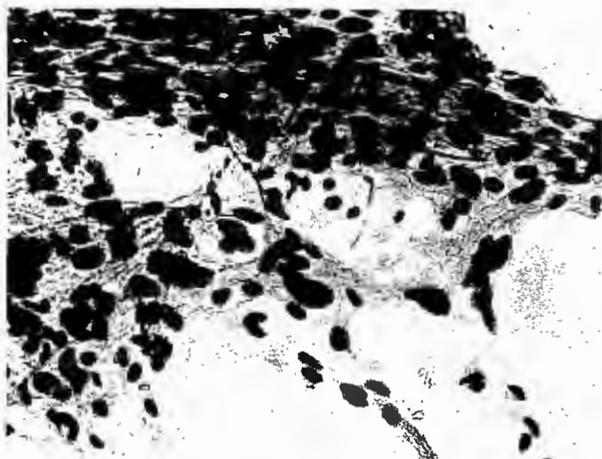


写真3 症例1の細胞像 (Pap. 染色, 対物20倍)

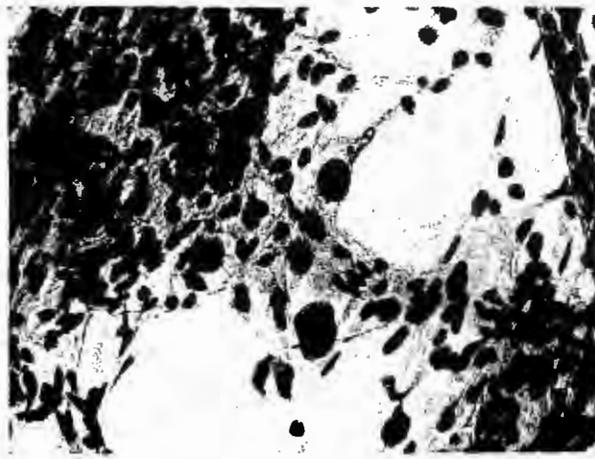


写真4 症例1の細胞像 (Pap. 染色, 対物20倍)

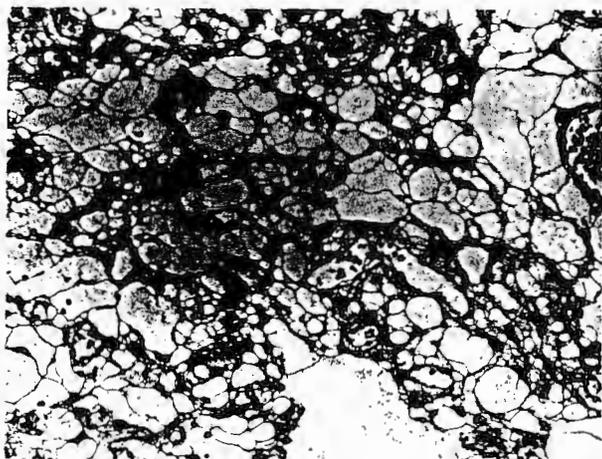


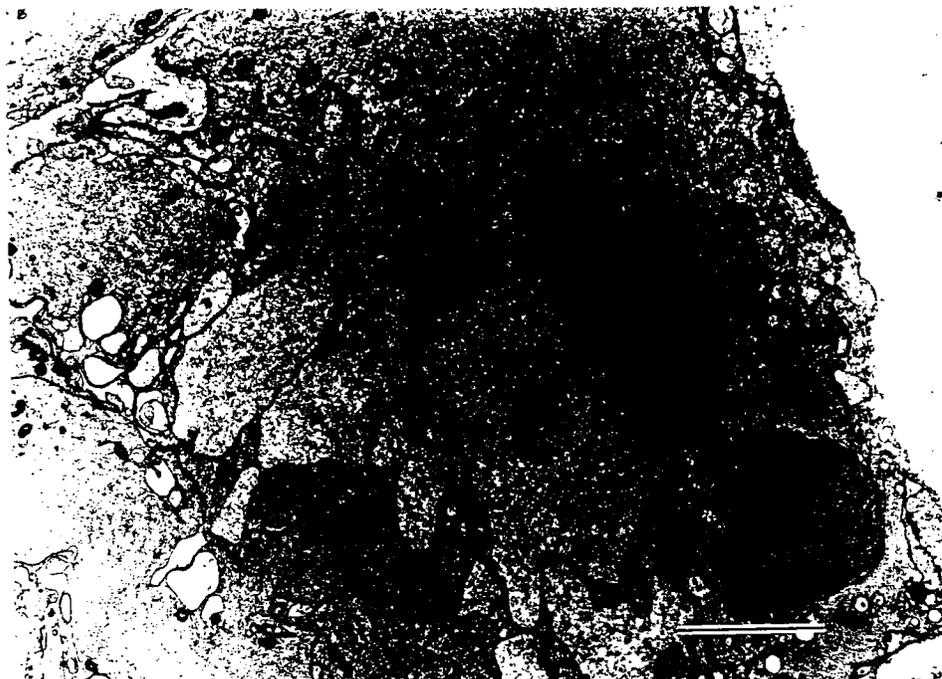
写真5 症例1の組織像 (H-E 染色, 対物10倍)

薄い被膜を介して接している。周囲の白質には浮腫がみられ、右側脳室の圧排変形, midline shift など mass effect を伴っている (写真1)。嚢胞を形成して

いたことから cystic glioma が疑われたが、血管造影により髄膜腫であることが判明した。

細胞学的所見：手術摘出標本の断面をスライドガラスで擦過し、約1mm角の組織を採取したのち、もう一枚のスライドガラスとの間に挟みながら、それぞれのスライドガラスを横に滑らせて組織を引き延ばして、パパニコロー染色し診断に供した。圧挫細胞診では、大型の星状細胞や中型の紡錘形細胞よりなる細胞集塊がみられ、核は楕円形で大小不同が目立ち、N/C比も大きく、一見すると悪性腫瘍を疑わせた。特に星形細胞ほど bizarre かつ hyperchromatic な異型核を有していた。強拡大で観察すると、細胞質内空胞や細胞間に大小さまざまな間隙を、また、腫瘍細胞の核内には通常型髄膜腫と同様に偽核内封入体を確認することができた (写真2, 3, 4)。

組織学的所見：大小不同の目立つ星形の腫瘍細胞が細長い細胞突起を出しながら結合し、細胞間には多数

写真 6 症例 1 の電顕像 (bar, 5  $\mu$ m)

の微小嚢胞が形成されている。きわめて特徴的な像であり、微小嚢胞型髄膜腫と最終診断された。血管も豊富に形成されているが、この症例では髄皮腫型、線維腫型、移行型など通常型髄膜腫との合併や細胞分裂像、壊死や出血などは認められなかった。また、xanthomatous change や偽砂粒体と呼ばれる PAS 染色陽性物質はみられず、脂肪染色も陰性であった (写真 5)。

電顕所見：隣接する細胞の細胞膜には interdigitation と desmosome による接着像が認められた。細胞質内には中間径 filament の形成がみられ、髄膜腫に特徴的な電顕所見であった。また、光顕でみられた microcyst は電顕により intercellular space であることが確認できた (写真 6)。

症例 2：35 歳，男性

主 訴：頭痛と左足の不全片麻痺

家族歴：特記すべきことなし

既往歴：特記すべきことなし

現病歴：94 年 6 月，頭痛とともに左足をひきずるようになった。同年 8 月，霧視が出現。同年 9 月の眼底検査にて著明な乳頭浮腫を認め，紹介入院となる。

画像診断所見：右前頭頂葉円蓋部に腫瘤を認める。左方向への正中偏位など mass effect も強く，subherniation の状態にある (写真 7)。腫瘍の血管造影では，外頸動脈系のみならず内頸動脈系からの feeding

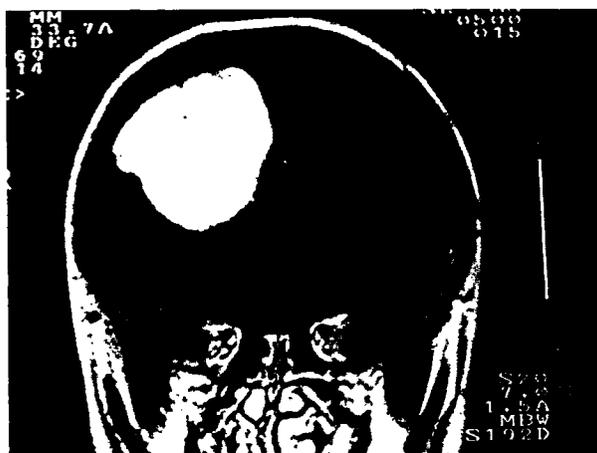


写真 7 症例 2 の MR 像

も認められた。

細胞学的所見：圧挫細胞所見は，前例に比べて異型性・多形性に乏しいものの通常型の髄膜腫に比べ核の大小不同を認め，一見，異型髄膜腫を思わせた (写真 8, 9)。

組織学的所見：豊富な血管を有する angiomatous component と多数の microcystic component の混在を認めた。microcystic component は症例 1 とほぼ同様で，クロマチンの増量した細胞があたかもレースのカーテンを思わせる配列をとっていた。粘液様変性や水腫様変性所見は認めなかった。腫瘍内血管壁のヒアリン化，狭窄は症例 1 より目立っているが，肉眼的な

嚢胞形成はみられなかった。また、PAS染色は陰性であったが、症例1と異なり、脂肪染色では腫瘍細胞の細胞質に陽性像が認められた(写真10)。

電顕所見：腫瘍細胞は細長い細胞突起を有していて、intercellular spaceに加えて、intracellular spaceがみられた。脂肪染色の結果よりこの細胞質内空胞はlipoid dropletと考えられた。また、粗面小胞体の発達や分泌顆粒は認められず、腫瘍細胞に旺盛な分泌能は示されなかった(写真11)。

免疫細胞化学的検索：症例1、症例2に対して免疫細胞化学的検索を行った結果を表1に示す。この腫瘍は、Vimentin強陽性、上皮性マーカーであるEMA



写真8 症例2の細胞像 (Pap. 染色, 対物10倍)

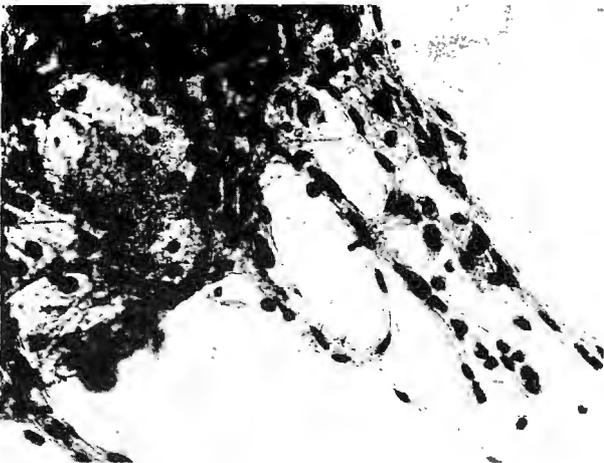


写真9 症例2の細胞像 (Pap. 染色, 対物20倍)

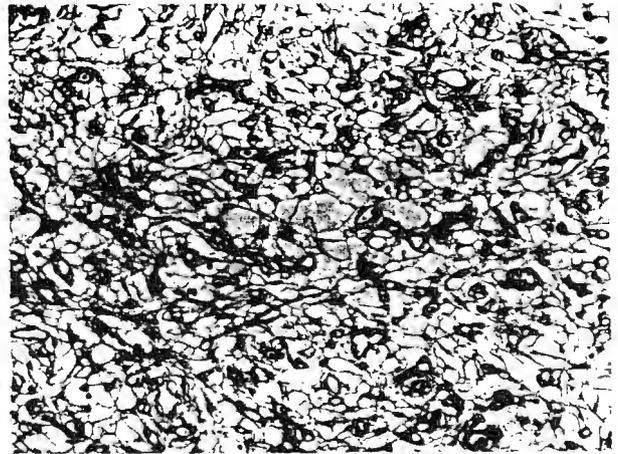


写真10 症例2の組織像 (H-E 染色, 対物10倍)

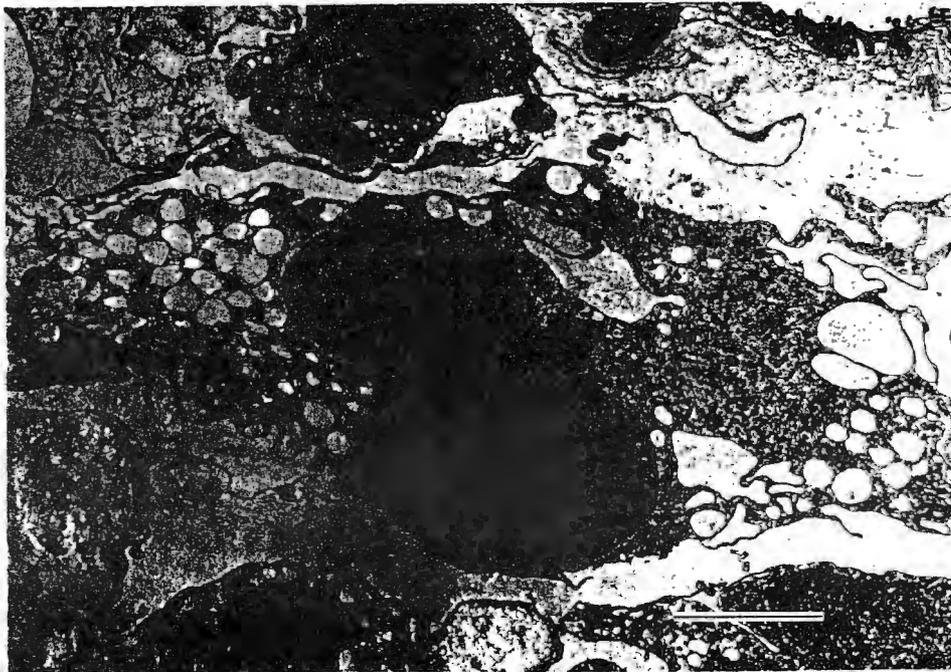


写真11 症例2の電顕像 (bar, 5 μm)

表 1 免疫細胞化学的検討

抗体	結果
抗ビメンチン	+
抗 EMA	±
抗サイトケラチン	-
抗 GFAP	-
抗 S-100 蛋白	-
抗アクチン	-
抗第 8 因子関連抗原	-

は弱陽性を示した。cytokeratin, S 100 蛋白, アクチン, 第 8 因子に対する免疫染色はすべて陰性であった。

### III. 考 察

#### 1. 微小嚢胞型髄膜腫の発生頻度について

原発性脳腫瘍は年間約 1 万人に 1 人の割合で発生し, 組織型別の発生頻度に関しては, (1) 神経膠腫, (2) 髄膜腫, (3) 神経鞘腫, (4) 下垂体腺腫, (5) 頭蓋咽頭腫, (6) 松果体腫の順となる。約 1/3 を神経膠腫, また, (3) 以下の腫瘍が併せて約 1/3 を占めている。膠腫について多い髄膜腫は脳腫瘍の約 20% を占める代表的脳腫瘍の一つである。

さて, 多数の空胞形成を示す髄膜腫に関しては 1956 年, Masson<sup>1)</sup> により humid meningioma として報告されて以来, いろいろな名称で呼ばれてきたが, Kleinman ら<sup>2)</sup>, Michaud ら<sup>3)</sup> は microcystic meningioma, Eimoto ら<sup>4)</sup> は vacuolated meningioma と命名している。1993 年の WHO 脳腫瘍分類<sup>5)</sup> では, 統一名称として microcystic meningioma が採用された。

星状を呈する髄膜腫細胞の突起によって囲まれた microcyst が定型的な髄膜腫 (髄皮腫型, 線維腫型, 移行型, 砂粒体型, 血管腫型など) の組織内に部分的に混在することは報告されていたが, 腫瘍全体が microcystic な組織像を呈することは非常に珍しく, 散発的に症例報告されるにすぎない。また, 髄膜腫内のどれだけの範囲を微小嚢胞型が占拠した腫瘍を microcystic meningioma と呼ぶかについては統一された取り決めはない。したがって, microcystic meningioma の名称は診断する人の定義によって異なり, 必ずしも用いられているとは限らないのでその頻度を記載することは難しいと思われる。われわれが収集し掌握し得たかぎりでも, 微小嚢胞型髄膜腫が髄膜腫全

表 2 髄膜腫の組織型分類 (WHO, 1993)

A. Grade I meningioma
1) 髄皮腫型 (meningotheiomatic type)
2) 移行型 (transitional type)
3) 線維腫型 (fibrous type)
4) 砂粒体型 (psammomatous type)
5) 血管腫型 (angiomatous type)
6) 微小嚢胞型 (microcystic type)
7) 分泌型 (secretory type)
8) 明細胞型 (clear cell type)
9) 類脊索型 (chordoid type)
10) リンパ球形質細胞浸潤型 (lymphoplasmacyte-rich type)
11) 化生型 (metaplastic type)
B. Grade II meningioma
12) 異型 (atypical meningioma)
C. Grade II-III meningioma
13) 乳頭型 (papillary meningioma)
D. Grade III meningioma
14) 退形成型 (anaplastic meningioma)

体のどれだけの割合を占めるか, 発生頻度に関する集計はなされていなかった。多施設による集学的な研究が待たれるゆえんである。

#### 2. 微小嚢胞型髄膜腫の細胞像と細胞診上の鑑別診断について

髄膜腫の術中細胞診や穿刺細胞診の成績については, これまで諸家の報告通り高い正診率をあげていて, その有用性はすでに証明済み<sup>6-8)</sup>で, われわれの施設でも, 脳外科領域の手術の迅速診断に対して, 圧挫細胞診を応用することを試みている。簡単にしかもアーチファクトの少ない標本が作成でき, 凍結切片標本と併用されるべきと考えているが, 今後の細胞診のありかたとしては, 臨床側が手術様式や術後の治療方針を決定するために, 腫瘍・非腫瘍の鑑別のみならず組織型や悪性度の判定が重要になってくるものと思われる。

表 2 に WHO 脳腫瘍組織型分類 (1993 年)<sup>5)</sup> を示すが, この分類では髄膜腫は 14 種類の subtype に分類となっていて, 1) から 11) までが良性, 12) 13) 14) は中間群ないし悪性に属するものである。良性髄膜腫の中では, 1) から 5) までは通常型髄膜腫, 6) から 11) までは特殊型髄膜腫に相当するものと考えられる。

微小嚢胞型髄膜腫は特殊型髄膜腫に属するものであるが, 臨床的な特徴や経過・予後に関しては通常型髄膜腫と何ら差はないとされ, 良性の経過をとる腫瘍で



写真 12 髄皮腫型髄膜腫の細胞像 (Pap. 染色, 対物 20 倍)



写真 13 線維腫型髄膜腫の細胞像 (Pap. 染色, 対物 20 倍)

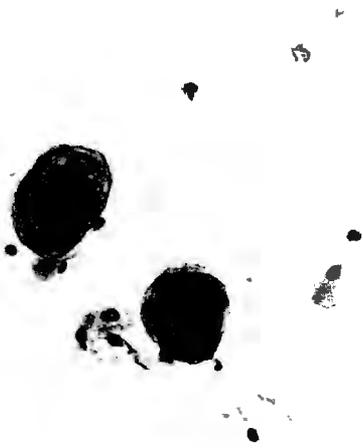


写真 14 移行型髄膜腫の細胞像 (Pap. 染色, 対物 20 倍)

ある。一方、その細胞所見は異型性に富み悪性腫瘍との鑑別を要するものであった。鑑別診断の対象としては、異型ないし悪性の髄膜腫、膠芽腫を含む神経腫、癌の髄膜転移、原発性肉腫などがあげられよう。

#### 1) 通常型髄膜腫との鑑別

微小嚢胞型髄膜腫は症例1, 症例2のように単独で存在することもあるが、通常型髄膜腫と混在することもあり、同一の腫瘍内でも部位によっていろいろ移行し合うことも少なくない。そこで、まず、通常型髄膜腫との相違についておさえておきたい。

通常型髄膜腫の中で発生頻度の高い髄膜腫は、髄皮腫型、線維腫型、それらの混合型である移行型の3タイプである。これらの基本形に多数の砂粒体形成が加わると砂粒体型、血管の豊富なものは血管腫型に分類される。たとえば、細胞がZellballenと呼ばれる平面状、敷石状に配列してみられれば、髄皮腫型髄膜腫(写真12)、紡錘型細胞が束状に配列したものが線維

腫型髄膜腫(写真13)である。線維腫型髄膜腫は発生母細胞であるクモ膜細胞のmesodermal, mesenchymalな潜在能が誇張されたと考えられていて、その意味で微小嚢胞型髄膜腫と近縁にあると思われる。このタイプが小脳橋角部に発生した場合は、神経鞘腫との鑑別がしばしば問題となることはよく知られている。また、タマネギを連想させる渦巻き状の細胞配列(whorl構造)を呈したものは移行型髄膜腫(写真14)の範疇に入れられる。渦巻きの中心部は髄皮腫型、辺縁部が線維腫型の細胞から構成されている。

細胞診においても、髄膜腫診断の手がかりとなる特徴的な砂粒体やwhorl構造が認められれば、細胞診でもある程度亜型分類が可能である。髄皮腫型の腫瘍細胞は比較的広い胞体を有し、核は円形ないし類円形、線維腫型では紡錘形細胞が主体をなし、細胞核も紡錘形となる。いずれにも共通して、軽度の核の大小不同がみられることがあるが、核クロマチンは均一、核分裂像は認められない。また、特に髄皮腫型では、偽核内封入体はしばしばみられる所見である。

われわれが経験した微小嚢胞型髄膜腫では、核は楕円形のものが多く、偽核内封入体も多数観察された。細胞の配列は通常型髄膜腫に比べ不規則であるが、腫瘍細胞の間質に大小さまざまな間隙がみられ、細胞によっては胞体内空胞がみられるものもあった。

これらの細胞像はきわめて特徴的なものであり、たとえ、以上のような定型的な組織型に混在したとしても、微小嚢胞型髄膜腫というentityを知っておりさえすれば、良悪性の鑑別に特に苦慮することはないと思われた。

## 2) 異型ないし悪性髄膜腫との鑑別

当施設では、異型・悪性髄膜腫の細胞診の経験はなく文献的に考察することになるが、de la Monteら<sup>9)</sup>は髄膜腫の再発例の特徴として、高細胞密度、旺盛な核分裂像 (>5/10 HPF)、N/C比の増加、核異型、腫大した核小体、Zellballen構造の消失、帯状壊死などをあげている。

ここ20年の間に、髄膜腫の局所浸潤例や再発例に対する集学的検討が加えられ、異型ないし悪性髄膜腫の形態学的特徴が次第に明らかになってきたが、WHO分類やAFIP分類の編者であるScheithauer<sup>10)</sup>は、とくに、細胞異型、核分裂像、壊死の存在をその診断基準とすることをあげ、新分類のほうが髄膜腫の生物学的特徴を反映し臨床的にも有用であることから、もはや旧分類は使うべきではないという意を強調している。

症例1、症例2はきわめて多形性に富み悪性と紛らわしい細胞像を呈した。われわれは微小嚢胞型髄膜腫に対する知識の欠如から異型ないし悪性髄膜腫と誤診してしましたが、retrospectiveにみると、微小嚢胞型髄膜腫では細胞壊死や核分裂像はみられず、異型ないし悪性髄膜腫でも偽核内封入体が認められることより、なにより細胞間の海綿状構造の存在が異型ないし悪性髄膜腫との鑑別診断にとって最大の決め手となるものと思われた。

## 3) 他の脳腫瘍との鑑別診断

症例1は画像診断上、著明な peritumoral edema を示したところから、cystic glioma が疑われたが、Scheithauer<sup>10)</sup>は微小嚢胞型髄膜腫と鑑別すべき脳腫瘍として原形質性星状神経膠腫 (protoplasmic astrocytoma) と毛様細胞性星状神経膠腫 (pilocytic astrocytoma) をあげている。どちらも星形細胞が線維でつながり、間にしばしば小嚢胞構造を形成する腫瘍である。

これらの鑑別は、発生部位が脳実質の内か外かが最も重要な鑑別点であることはいうまでもないが、細胞診上の鑑別点としては、これらの星状神経膠腫の細胞突起が主として双極性ないし単極性で細胞質がはっきりしないのに対し、微小嚢胞型髄膜腫では細胞突起が明瞭で多極性を示すことや、微小嚢胞型髄膜腫ではしばしば偽核内封入体が観察されるなどの点が重要であると思われる。

以上、鑑別点を列挙してきたが、微小嚢胞型髄膜腫の細胞は異型性に富み、悪性を疑わせるクロマチンの

増量した核をもつ反面、悪性を否定させるような繊細なクロマチンおよび小さな核小体、核分裂像の欠如、壊死を伴わないきれいな背景などの二面性をもつものであった。その特徴的な細胞間の海綿状構造や偽核内封入体を読みとることによってその診断は可能になるものと考えられた。

## IV. ま と め

比較的まれな組織像を呈し、細胞診上、大小不同性と異型性を示したため良悪性の鑑別が問題となった微小嚢胞型髄膜腫2例について細胞像を中心として報告した。

われわれの症例から、微小嚢胞型髄膜腫の細胞診断の正否は、腫瘍内の海綿状構造や偽核内封入体をいかに読みとるかに関わってくると考えられたが、実際問題としては、その腫瘍の存在を知らないと悪性腫瘍との鑑別はきわめて困難と思われる。すなわち、このような悪性と紛らわしい良性腫瘍があることをしっかり認識しないかぎり、珍しい組織型のために診断できないことが往々にして起こり得ると懸念された。

1. 微小嚢胞型髄膜腫は悪性腫瘍と紛らわしい良性腫瘍であり、その entity を認識することが重要である。

2. 微小嚢胞型髄膜腫の鑑別診断や亜型診断にとっては細胞集塊中の海綿状構造や偽核内封入体を確認することが有用であった。

3. 微小嚢胞型髄膜腫は最近になって新たにWHOの脳腫瘍組織型分類に記載されたばかりの variant であり、新分類の理解と普及が望まれるところである。

稿を終えるにあたり、貴重な症例を提供していただいた宮城県立がんセンター脳外科・片倉隆一博士、鈴木洋一博士、画像診断所見をご教示下さった放射線科・松本 恒博士、小山 洋技師に深謝いたします。

## Summary

Two unusual variants of meningioma with abundant vacuolization (microcystic meningioma) were studied by cytology and light/electron microscopy. The first patient was a 44-year-old woman, who complained of motor weakness of her left hand. The second was a 35-year-old man, who developed headache, blurred vision, hemiparesis and

hypesthesia on the left side.

At the operation, a 65×50×50-mm encapsulated tumor attached to the parasagittal dura of the right fronto-temporal area was removed in the first case and a 55×35×20-mm solid tumor was resected from the right fronto-parietal convexity in the second. The tumor from the first patient was composed of a 35×9×9-mm solid nodule within a large eccentric cyst.

By light microscopy, the tumor cells of both patients were seen to be stellate with long thin cytoplasmic processes, delimiting extracellular spaces and forming a spongiform and lacy configuration. The final diagnosis was the microcystic type of meningioma, an uncommon benign tumor. In spite of its unique morphological features, the clinical features and prognosis of microcystic variant did not differ from those of the usual meningioma.

Ultrastructurally, interdigitations, desmosomes and intracytoplasmic intermediate filaments of the tumor cells showed similarity to the normal arachnoid trabecular cell. It was suggested that the pathogenesis of microcyst formation was exaggeration of the mesodermal potential and expression of a pia-arachnoid differentiation by the meningioma cells.

Cytological examination of microcystic meningiomas revealed a reticular texture of clusters, intracytoplasmic vacuoles, pseudo-intranuclear inclusions and bizarre hyperchromatic nuclei. The nuclear pleomorphism and hyperchromasia of microcystic meningiomas were rather characteristic compared with those of the usual meningiomas. Because of atypias, this rare variant of meningioma may be mistaken for a malignancy. Therefore, in practical cytodiagnosis, for the recognition of this entity it is most important not to misinterpret the tumor as malignant. Microcystic meningioma is a newly described variant of the

WHO classification. The adoption and routine application of the WHO classification should be required for cytologists.

## 文 献

- 1) Masson, P. Les meningiomes : Les tumeurs humaines, ed 2. Paris : Librairie Maloine, 1956 ; 977~988.
- 2) Kleinman, G.M., Liszczak, T., Tarlov, E., Richardson, E.P. Microcystic variant of meningioma. *Am.J. Surg. Pathol.* 1980 ; 4 : 383~389.
- 3) Michaud, J., Gagne, F. Microscopic meningioma. *Arch Pathol. Lab. Med.* 1983 ; 107 : 75~80.
- 4) Eimoto, T., Hashimoto, K. Vacuolated meningioma. *Acta Pathol. Jpn.* 1977 ; 27 : 557~566.
- 5) Kleihues, Burger, Scheithauser : (WHO) Histopathological typing of tumors of the central nervous system, second edition, Springer-Verlag, Berlin, 1993.
- 6) 畠 榮, 山元しのぶ, 福屋 宗, 日浦研哉, 津嘉山朝達, 調 輝男・ほか. 脳・神経系腫瘍の迅速診断. *J. Jpn. Soc. Clin. Cytol.* 1983 ; 22 : 792~800.
- 7) 小林省二, 三木 洋, 大森正樹, 船本康申, 岸田不二夫, 河野幸治・ほか. 圧挫標本細胞診による脳腫瘍の診断. *J. Jpn. Soc. Clin. Cytol.* 1989 ; 28 : 378~383.
- 8) 沢田達男, 楠美嘉晃, 桜井 勇. 圧挫標本細胞診標本の中枢神経系腫瘍迅速診断への応用. *臨床病理* 1990 ; 3 : 830~834.
- 9) de la Monte, S.M., Flickinger, J., Linggood, R.M. Histopathologic features predicting recurrence of meningiomas following subtotal resection. *Am.J. Surg. Pathol.* 1986 ; 10 : 836~843.
- 10) Scheithauser, B.W. Tumors of the meninges : An overview of new entities 第12回日本脳腫瘍研究会プログラム・抄録集 1994 ; 11 : 28~33.

## 症 例

## UFT 経口投与で壊死に陥った肝細胞癌の1例

小野寺博義\*<sup>1</sup> 鵜飼 克明\*<sup>1</sup> 松本 恒\*<sup>2</sup>  
小田和浩一\*<sup>2</sup> 佐藤 恒明\*<sup>3</sup>

**要旨** 症例は77歳，男性。近医で肝腫瘍を発見され精査と治療のために紹介となった。超音波検査，CT，MRIにて肝臓のS<sub>5</sub>に直径7.2cmの腫瘍があり，肝細胞癌の所見であった。AFPは600ng/ml，PIVKA-IIは3.5AU/mlであった。肝動脈塞栓術や超音波映像下エタノール局注療法は適応とならず，UFT-E顆粒を300mg/日経口投与したところ，しだいに腫瘍は縮小し，12か月後には1.4cmとなった。投与開始後14か月に実施したCTの結果はエンハンスメントにより濃染しないことから，腫瘍は壊死に陥っていると考えられた。なお，10か月後の超音波映像下肝生検では腫瘍細胞は証明されず，壊死物質のみが確認された。また，PIVKA-IIは正常値となった。UFTの有効性を示す症例と考えられた。

[癌と化学療法 23(7):911-913, 1996]

## はじめに

超音波検査による早期発見，あるいは外科的切除・肝動脈塞栓術(TAE)・超音波映像下エタノール局注療法(PEI)などにより肝細胞癌の予後は改善<sup>1)</sup>しているが，なかにはこれらの治療法が適応困難である症例も存在する。今回われわれは，UFT-E顆粒(以下UFTと記す)の経口投与にて腫瘍が著明に縮小し壊死に陥った症例を経験したので報告する。

## I. 症 例

患者：77歳，男性。

既往歴：72歳より高血圧，76歳より気管支喘息と十二指腸潰瘍で近医通院中であった。

家族歴：特記すべきことなし。

現病歴：通院中の近医にて超音波検査を受けたところ，脾腫と肝右葉の腫瘍を指摘された。HC-V抗体陽性，AFPが236ng/mlであったため，

精査・治療を目的に紹介された。

入院時現症：身長168cm，体重71kg，血圧144/80mmHg，脈拍66回/分で整。栄養は良。眼瞼・眼球結膜に異常なし。腹部は平坦で，肝・脾・腫瘍を触知せず。腹水・浮腫を認めず。

入院時血液検査所見：貧血なく，血小板は $19.1 \times 10^3/\text{mm}^3$ 。AST 40IU/l， $\gamma$ -GTP 285IU/lと高値のほかは総ビリルビン，ALT，ALP，LDH，ChE，ZTT，TTTは正常。血清蛋白，蛋白分画は正常。NH<sub>3</sub>は82 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 。プロトロンビン時間105.7%。AFPは600ng/ml，PIVKA-IIは3.5AU/ml。HBs抗原は陰性であった。

超音波検査所見：肝S<sub>5</sub>に最大径7.2cmの腫瘍が認められた。内部エコーは不整で，周囲の肝とほぼ同じエコーレベルを呈し，nodule in nodule像や隔壁形成，外側陰影を認めた。肝硬変の所見もみられた。

CT所見(図1)：肝S<sub>5</sub>に直径7cmの円形の低吸収域が認められた。エンハンスメントによりほぼ一様に濃染され，隔壁と思われる所見がみられた。

MRI所見：肝S<sub>5</sub>に直径7cmの円形の腫瘍

\*<sup>1</sup> 宮城県立がんセンター・内科

\*<sup>2</sup> 同 放射線科

\*<sup>3</sup> 恒心会佐藤医院

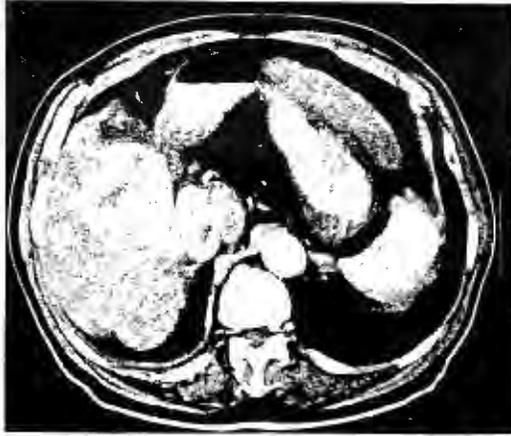


図1 治療前の CT 所見  
肝 S<sub>5</sub> に最大径約 7 cm で、エンハンスメントにより濃染する腫瘍を認める。

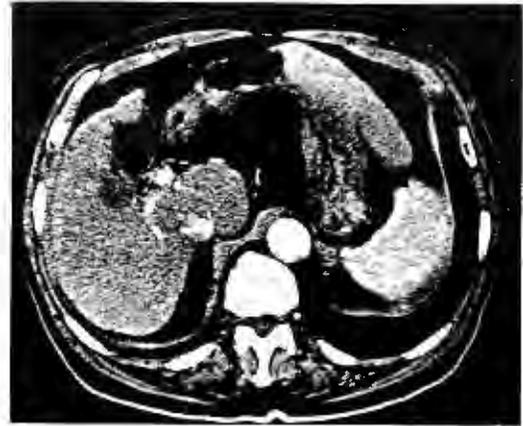


図2 UFT-E 顆粒投与 14 か月後の CT 所見  
腫瘍は約 2 cm に縮小し、エンハンスメントによっても濃染せず、壊死と考えられる。

が認められた。T<sub>1</sub>WI では肝臓とほぼ等信号、T<sub>2</sub>WI ではやや不均一な高信号で周囲に halo 様の高信号のリングがみられる。ダイナミックスキヤンでは肝細胞癌に典型的な初期濃染がみられ、被膜も認められた。

以上、血液検査所見と画像診断より肝細胞癌と診断した。

臨床経過：TAE を予定したが、意識障害を伴う重篤な喘息発作が出現したこと、また入院後のアンモニアが 82 μg/100 ml とやや高値のため TAE を中止。腫瘍の直径が大きいため PEI は実施せず、発見後 4 か月後から UFT 300 mg/日の経口投与を開始した。UFT 投与直前の AFP は 2,070 ng/ml、PIVKA-II は 6.3 AU/ml、腫瘍最大径は 7.7 cm（超音波検査での計測）であった。腫瘍最大径は投与開始 2 か月後には 6.4 cm に縮小、4 か月後に 2.5 cm、12 か月後には 1.4 cm となった。PIVKA-II は投与開始 2 か月後には 0.06 AU/ml に低下、3 か月後に 0.016 AU/ml 以下となり 12 か月後までこの値を継続している。AFP も漸減し 12 か月後に 169 ng/ml となった。投与開始 14 か月後の CT では腫瘍は約 2 cm と縮小しており、内部はエンハンスメントにより濃染せず壊死と考えられた（図 2）。なお、10 か月後の時点で残存腫瘍の PEI による治療を予定して再入院したが、この時の超音波映像下肝生検の結果は壊死物質のみで腫瘍細胞が認められなかったため、結局 PEI は実施せず、UFT

の経口投与を継続した。投与開始 14 か月後の現在も UFT 経口投与継続中であり、腫瘍の増大傾向、再発の徴候はない。

## II. 考 察

現在、肝細胞癌に対する治療としては外科的切除のほか PEI や TAE が実施されており、当院における 5 年生存率はそれぞれ 53.7、38.7、13.5% である<sup>1)</sup>。これらの治療法が適応とならない症例に対しては全身的な化学療法が行われており、経口剤の著効、有効症例の報告が散見される<sup>2-7)</sup>。本症例でも UFT 投与開始後に腫瘍が縮小し、14 か月後の CT で壊死と考えられ、また約 10 か月後に実施した超音波映像下肝生検の所見でも壊死物質が確認され、固形がん化学療法直接効果判定基準で partial response に相当する。

全身化学療法の効果を論ずる場合には spontaneous regression<sup>8)</sup>であったのか否かが問題となる。本症例では発見から UFT 投与開始までの 4 か月間に腫瘍の最大径に大きな変化はなく、UFT 投与後に徐々に腫瘍の縮小がみられている。また、腫瘍塞栓などにより栄養血管が閉塞し壊死に陥った場合に予想される腹痛、発熱、肝機能や凝固能の変動などがみられていないことから、UFT の著効例であると考えられる。

経口化学療法が著効となる症例は少ないものの、TAE や PEI が適応とならない場合には、積極的に実施してみるべきであると思われる。

## 文 献

- 1) Onodera, H., Ukai, K. and Minami, Y.: Hepatocellular carcinoma cases with five-year survival and prognostic factors affecting the survival time. *Tohoku J. Exp. Med.* 176: 203-211, 1995.
- 2) 安藤文英, 井上 薫, 古賀俊逸・他: 経口抗腫瘍剤 UFT の単独投与により腫瘍の消失を認めた切除不能肝癌の1例. *癌と化学療法* 13: 3261-3265, 1986.
- 3) 林 克裕, 丸山俊博, 中津留邦展・他: UFT により肺転移巣像がほぼ完全に消失し, 原発巣の縮小をみた原発性肝細胞癌の一例. *癌と化学療法* 14: 2775-2778, 1987.
- 4) 稲田正己, 南 雄三, 河田純男・他: UFT が有効であった骨転移を伴う肝細胞癌の1例. *癌と化学療法* 14: 531-535, 1987.
- 5) 中西孝至, 西川正博, 永瀬寿彦・他: UFT が有効であった門脈本幹腫瘍塞栓を有する原発性肝癌の一例. *癌と化学療法* 14: 2783-2786, 1987.
- 6) 宮川秀文, 上岡教人, 小原弘之・他: UFT 経口投与により著明な改善を示した進行肝細胞癌の1例. *癌と化学療法* 20: 2211-2215, 1993.
- 7) 陳 超, 今田敏夫, 竹鼻敏孝・他: 骨転移を伴う原発性肝細胞癌に UFT が有効であった1例. *癌と化学療法* 22: 403-406, 1995.
- 8) Lam, K. C., Ho, J. C. I. and Yeung, R. T. T.: Spontaneous regression of hepatocellular carcinoma. A case study. *Cancer* 50: 332-336, 1982.

## Summary

[*Jpn J Cancer Chemother* 23 (7): 911-913, June, 1996]

## A CASE OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA RESPONDING TO ORAL ADMINISTRATION OF UFT

Hiroyoshi Onodera\*<sup>1</sup>, Katsuaki Ukai\*<sup>1</sup>, Ko Matsumoto\*<sup>2</sup>, Koichi Otawa\*<sup>2</sup> and Tsuneaki Sato\*<sup>3</sup>

\*<sup>1</sup> Dept. of Internal Medicine and \*<sup>2</sup> Dept. of Radiology, Miyagi Cancer Center Hospital, \*<sup>3</sup> Sato Clinic

A 77-year-old male with liver cirrhosis was admitted to our hospital for further examination and treatment of liver tumor. A tumor, which was in the S<sub>5</sub> of liver and 7.2 cm in diameter, was revealed by ultrasonography, CT scan and MRI. The titers of serum AFP and PIVKA-II were 600 ng/ml and 3.5 AU/ml, respectively. According to the findings of imaging diagnosis and laboratory data, the patient was diagnosed as having hepatocellular carcinoma. He was treated by the oral administration of UFT (300 mg/day). Ultrasonically guided aspiration biopsy of the tumor and CT scan, which were performed ten and fourteen months after the beginning of administration of UFT, respectively, revealed the necrosis of the tumor. Twelve months later, the tumor size reduced to 1.4 cm in diameter, and the titer of PIVKA-II was reduced to the normal range. This case shows the clinical effectiveness of oral administration of UFT.

**Key words:** Hepatocellular carcinoma, UFT

(Received Nov. 28, 1995/Accepted Jan. 10, 1996)

# 論説

## 肝障害の見方 — 肝機能検査の解釈を中心に —

鵜飼 克明\* 小野寺 博 義

### はじめに

各種肝機能検査は様々な肝の病態を反映している。すなわち肝細胞の変性壊死（炎症）によりAST, ALT, 総ビリルビンは上昇し、肝細胞の機能低下により蛋白合成能の低下と黄疸を認め、間葉系の反応（線維化）は膠質反応やγグロブリンの増加を示し、胆汁うっ滞では胆道系酵素、総ビリルビンの上昇を示す（図1）。従って肝機能検査の解釈に際しては、個々の検査の持つ意味を十分に理解し、いかなる病態を反映するかを考える必要がある。

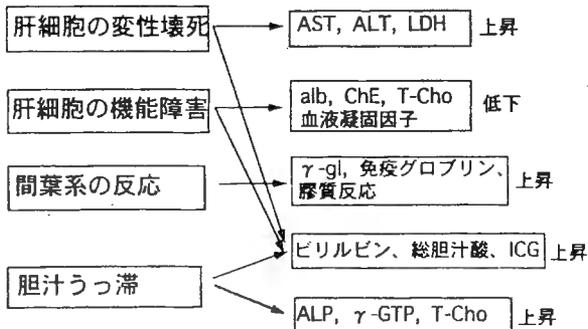


図1 肝の病態と血液検査

1994年8月に改訂された日本消化器病学会肝機能研究班の肝機能検査法の選択基準を表1に示す。これに示される肝機能検査を用いて肝疾患患者の日常診療がなされるが、今回はこれらの各種肝機能検査の解釈を概説し、さらに数例の症例を呈示する。

表1 肝機能検査法の選択基準（1994年）

	肝疾患発見		肝細胞障害の発見	胆汁うっ滞の診断	重症度の判定	経過観察	
	集検	ドッグ				急性	慢性
AST	○	◎	◎	◎		◎	◎
ALT	◎	◎	◎	◎		◎	◎
γ-GTP	◎	◎	◎	◎		○	◎
ALP	○	◎	◎	◎		○	
総ビリルビン		◎	◎	◎	◎	◎	○
直接ビリルビン		○	○	◎	◎	◎	○
総蛋白		◎	○		◎		○
アルブミン		◎	○		◎	◎	◎
ChE			○		◎	◎	○
ZTT	○	◎	○	◎			◎
総コレステロール		◎	○	○	◎	◎	◎
プロトロンビン時間			○		◎	◎	◎
ICG試験					○		○

◎必須、○できるだけ行う

### 各種肝機能検査の解説

#### (1) アスパラギン酸トランスフェラーゼ (AST, GOT), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT, GPT)

ヒト組織中のAST活性は肝臓のみならず心筋、骨格筋等に多く活性を認め、一方ALTは主に肝臓に認める。血中のAST, ALTは一般的には肝細胞の変性・壊死により増加するが、ASTは心筋や骨格筋の障害でも増加する。

500KU異常の急激かつ高度の上昇を示す場合は①急性肝炎（初期はAST>ALT, 極期を

\* 宮城県立がんセンター

## 論説

過ぎるとAST<ALT)や劇症肝炎, ②ショック肝(AST>ALT)などが考えられる。

100~500KUの中等度上昇の場合は ①慢性活動性肝炎(AST<ALT), ②アルコール性肝障害(AST>ALT), ③胆汁うっ滞(AST>ALT), ④心筋梗塞や筋疾患(AST≫ALT)等が考えられる。

100KU以下の軽度の障害は様々な疾患に認められるが, 主な疾患は ①脂肪肝(AST>ALT), ②慢性肝炎(AST<ALT), ③肝硬変・肝細胞癌(AST>ALT)などである。

ASTやALTの上昇の程度とは肝疾患の重症度は平行しない。なお, 一般的には慢性肝障害の進展に伴いAST/ALT比の上昇が認められるが, これは肝組織中のAST, ALTの非活性が肝硬変・肝細胞癌ではAST活性が高く, ALT活性が低いことによっても説明される。

### (2) アルカリフォスファターゼ (ALP)

血清ALP活性は, 肝臓, 骨, 小腸, 胎盤に由来し, 生理的には骨の成長や妊娠の後期にその上昇を認める。病的に上昇を示すのは ①肝外胆汁うっ滞(閉塞性黄疸), 肝内胆汁うっ滞, 肝実質障害(急性肝炎など)で, これらいずれの場合もγ-GTPと平行して増減を示す。②骨転移などの骨疾患でも上昇を示すが, γ-GTPの上昇は伴わない。③アルコール性肝疾患でも上昇を認めるがγ-GTPの上昇に比して軽微である。

### (3) γグルタミールトランスぺプチターゼ (γ-GTP)

肝組織内では肝細胞のミクロソーム分画で生成され, 組織化学的には毛細胆管から門脈域の胆管上皮内に分布している。γ-GTPが異常高値を示す病態は ①アルコール性肝障害, ②薬剤性肝障害, ③肝内・肝外胆汁うっ滞, ④慢性肝疾患, ⑤原発性肝癌や転移性肝癌の占拠性病変などであ

る。なお, 骨疾患では上昇を示さない。

### (4) 総ビリルビン

ヘモグロビンあるいは無効造血に由来する血中の非抱合型ビリルビン(間接ビリルビン)は, 肝で抱合型ビリルビン(直接ビリルビン)となり胆汁中に排出される(図2)。この経路の何れかに障害が存在すると黄疸となる。すなわち, 溶血などのビリルビンの生成亢進では非抱合型が(肝障害を伴わない), 肝細胞での摂取・抱合障害(体質性黄疸の一部)でも非抱合型が増加し, 肝細胞から胆汁中への排出障害(体質性黄疸の一部, 肝細胞性黄疸, 肝内・肝外胆汁うっ滞)では抱合型が増加する。(表2)

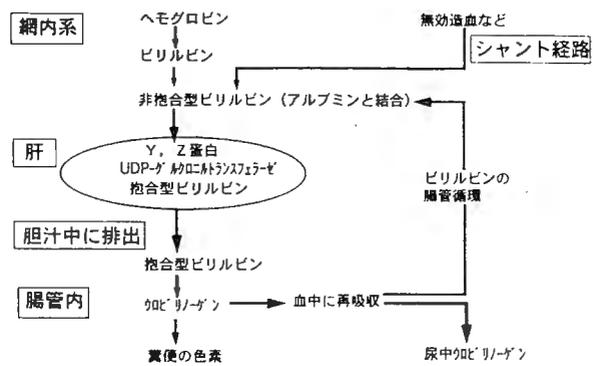


図2 ビリルビン代謝

表2 黄疸の分類

	ビリルビン		ALT	ALP
	非抱合型	抱合型		
肝前性黄疸 溶血	↑		正	正
肝性黄疸 肝細胞性黄疸 肝内胆汁うっ滞 体質性黄疸		↑	↑	↑
Rotor 症候群		↑	正	正
Dubin-Johnson 症候群		↑	正	正
Gilbert 症候群	↑		正	正
Criger-Najar 症候群	↑		正	正
肝後性黄疸 胆管閉塞		↑		↑

### (5) アルブミン

血清アルブミンは肝細胞で合成される蛋白で、肝細胞機能をよく反映する。しかし、半減期が約14日と長く、急性の変化とは必ずしも平行して変動しない。血清アルブミンの低下は、①肝での蛋白合成能の低下（肝硬変、劇症肝炎など）の他に②蛋白の体外への漏出（ネフローゼ、蛋白漏出性胃腸症、出血など）、③蛋白の摂取不足（飢餓、低栄養など）がある。

### (6) コリンエステラーゼ (ChE)

血清中のChEは肝で合成される蛋白で、Ⅱ型（偽性）であり、肝の蛋白合成能の指標となる。血清ChEの低下は①肝での蛋白合成能の低下（肝硬変、劇症肝炎など）、②有機燐中毒。一方増加を示すのは①脂肪肝、肥満、②ネフローゼ症候群などである。なお、体質的に異常低値を示す例がある。

### (7) 膠質反応 (ZTT, TTT)

膠質反応は免疫グロブリンや脂質の増加、及び血清アルブミンの低下により上昇する。なお、TTTはIgMの増加をよく反映する。

ZTTの異常高値は①肝硬変、慢性活動性肝炎、急性肝炎、自己免疫性肝炎等の肝疾患、②慢性炎症、膠原病、骨髄腫など非肝疾患でも増加する。

異常低値は①胆汁うっ滞、②副腎皮質ホルモンの長期投与等である。

### (8) 総コレステロール

血漿コレステロールの約75%は肝で合成された内因性のもので、従って肝障害の重症化とともに総コレステロール値は低下する。

また、肝臓のコレステロールの一部は胆汁酸合成に利用され、一部は胆汁中に排出されるので、この経路の障害された胆汁うっ滞では総コレステ

ロール値は増加する。

### (9) 凝固因子 (PT, HPT)

第Ⅱ, Ⅶ, Ⅸ, X因子は肝臓で合成され、ビタミンKの存在下で完成された凝固因子となる。特に第Ⅶ因子は半減期が最も短く（90～300分）肝の蛋白合成能を鋭敏かつ迅速に反映する。従って第Ⅶ因子と相関の強いプロトロンビン時間（PT）、ヘパプラスチンテスト（HPT）の活性低下は肝細胞の蛋白合成障害やビタミンK欠乏を反映する。なお、%PTが40%以下を示す場合は一般には肝障害は重篤である。

### (10) 色素排泄能 (ICG試験)

インドシアニングリーン（ICG）は、血中では主にリポ蛋白と結合して存在し、肝細胞に摂取され代謝されずに胆汁中に排出される。血中停滞率（R15）の増加、血漿消失率（KICG）の低下は肝細胞障害の程度、有効肝血流量の減少を反映する。最大除去率（Rmax）は肝細胞機能を反映する。

### 黄疸の鑑別 (表2)

黄疸の鑑別は、まず腹部超音波検査で肝内・肝外胆管の拡張の有無を検討し、肝外胆汁うっ滞（閉塞性黄疸）か否かを鑑別する。肝機能検査ではALP、 $\gamma$ -GTPに比してAST、ALTの上昇が高度の場合は肝細胞性黄疸を考え、ALP、 $\gamma$ -GTPの上昇が高度の場合は肝内・肝外胆汁うっ滞を考え、肝機能検査が正常の場合は体質性黄疸、溶血を考える。

### 肝予備能について

肝予備能評価の意義は、内科的には①急性肝不全の劇症化の予知、予後判定、治療効果の評価、②慢性肝不全の予後判定に重要である。外科的には、手術の危険度の評価、肝切除可能な範囲の決

## 論説

定, 原発性肝癌の治療(手術, TAE等)に際しては, 治療方針の決定に重要である。

予備能の指標には ①肝の合成能 (PT, HPT, アルブミン, コリンエステラーゼ, 総コレステロール等), ②解毒代謝能 (直接ビリルビン/総ビリルビン比, アンモニア等), ③ICG, ④糖負荷試験などである。なお, 当科に於いて用いている肝予備能評価基準である日本肝癌研究会の臨床病期を表3に示す。

表3 臨床病期分類

臨床病期(clinical stage)	日本肝癌研究会		
	I	II	III
腹水	無い	治療効果がある	治療効果が少ない
血清ビリルビン	2.0未満	2.0~3.0	3.0超 (mg/dl)
血清アルブミン	3.5超	3.0~3.5	3.0未満 (g/dl)
ICGR15	15未満	15~40	40超 (%)
プロトロン時間	80超	50~80	50未満 (%)

2項目以上の項目により該当した病期が2カ所に生じる場合は高い方の臨床病期をとる。

### 慢性活動性肝炎と肝硬変の鑑別 (表4)

肝硬変と慢性活動性肝炎の鑑別には, 大久保らの検討ではAST>ALT, ChEの低下, ICG>25%が有用とされているが, その他には血小板が $10 \times 10^4 / \text{mm}^3$ 未満, アルブミンの低下,  $\gamma$ グロブリンの増加 (ZTTの増加), %PTの低下等が有用な検査成績とされている。

表4 肝機能検査値による肝硬変と慢性活動性肝炎の鑑別

	大久保昭行: 肝機能検査による肝硬変症の診断, 1989		
	sensitivity	specificity	reclassification
AST/ALT > 1	64.4%	96.1%	81.3%
ChE < 300 IU/l	62.2%	96.1%	79.2%
ICGR15 > 25%	53.3%	96.1%	76.0%
血小板 < $10 \times 10^4 / \text{mm}^3$	75.6%	92.2%	84.4%

その他の参考となる検査 ①Alb ② $\gamma$ -gl ③%PT ④ZTT

### 症例呈示

症例: 小○辰○ 55歳, 女性 (表5)

主訴: 全身倦怠感 (約2ヶ月間)

参考となる検査: HCV-Ab (2nd) 陽性。

診断: 小葉改築傾向を伴うC型慢性活動性肝炎

解説: 膠質反応が高値で血小板が低下傾向にあるが, ALT優位でアルブミン, ChE等の蛋白合成能は正常範囲内にあり肝硬変には至っていない。

表5

【症例】小○辰○ 55歳, 女性 全身倦怠感 (約2ヶ月間)

【尿所見】	【血液生化学検査】
蛋白 (-)	T-Bil (0.2-1.2) 0.65mg/dl
糖 (-)	D-Bil (0-0.4) g/dl
ウビリノゲン (±)	T.P (6.4-8.1) 7.7 g/dl
潜血 (-)	alb (3.8-5.3) 3.8 g/dl
ビリルビン (-)	ChE (1258-2344) 1524 IU/l
	ZTT (4.0-12.0) 25.0 KU
【血液検査】	TTT (0-5.0) 17.2 IU/l
WBC (4800-8000) 4100	AST (12-35) 115 IU/l
RBC (410-530) 402	ALT (5-35) 146 IU/l
Hb (14.0-18.0) 13.5	LDH (180-465) 378 IU/l
Ht (40.0-48.0) 37.9	ALP (55-135) 74 IU/l
MCV (84.0-99.0) 94.2	$\gamma$ -GTP (11-51) 59 IU/l
MCH (30.0-38.0) 33.5	T-Cho (120-230) 183mg/dl
Plt (12.0-35.0) 13.0	

表6

【症例】横○き○ 67歳, 女性 C型肝炎の精査・加療

【尿所見】	【血液生化学検査】
蛋白 (-)	T-Bil (0.2-1.2) 2.06mg/dl
糖 (-)	T.P (6.4-8.1) 6.6 g/dl
ウビリノゲン (±)	alb (3.8-5.3) 2.8 g/dl
潜血 (-)	ChE (1258-2344) 634 IU/l
ビリルビン (-)	ZTT (4.0-12.0) 28.8 KU
	TTT (0-5.0) KU
【血液検査】	AST (12-35) 74 IU/l
WBC (4800-8000) 2500	ALT (5-35) 42 IU/l
RBC (410-530) 326	LDH (180-465) 846 IU/l
Hb (14.0-18.0) 11.9	ALP (55-135) 208 IU/l
Ht (40.0-48.0) 33.4	$\gamma$ -GTP (11-51) 33 IU/l
MCV (84.0-99.0) 102.4	T-Cho (120-230) 130mg/dl
MCH (30.0-38.0) 36.5	
Plt (12.0-35.0) 5.2	

症例: 横○き○ 67歳, 女性 (表6)

主訴: C型肝炎の精査

参考となる検査: ICG R15 22%, PT 53%

診断: 肝硬変 (臨床病期II), 原発性肝細胞癌 (高分化型, 1cm)

解説: 汎血球減少症, 軽度の黄疸, AST優位の肝障害, ZTTが高値, アルブミン, ChE等の蛋白合成能は低下し典型的な肝硬変の所見。IC



論説

表10

【症例】 萱○利○ 71歳, 男性 腰痛を主訴

【尿所見】		【血液生化学検査】	
蛋白 (±)		T-Bil (0.2-1.2)	0.39mg/dl
糖 (-)		T.P (6.4-8.1)	11.9 g/dl
加ヒリノーゲン(±)		alb (3.8-5.3)	3.6 g/dl
潜血 (-)		ChE(1258-2344)	1574 IU/l
ビリルビン (-)		ZTT (4.0-12.0)	69.3 KU
		TTT (0-5.0)	33.9 KU
【血液検査】		AST (12-35)	28 IU/l
WBC(4800-8000)	3900	ALT (5-35)	15 IU/l
RBC (410-530)	278	LDH (180-465)	194 IU/l
Hb (14.0-18.0)	9.4	ALP (55-135)	131 IU/l
Ht (40.0-48.0)	26.4	γ-GTP (11-51)	16 IU/l
MCV (84.0-99.0)	94.8	T-Cho(120-230)	mg/dl
MCH (30.0-38.0)	33.8		
Plt (12.0-35.0)	20.1	【血沈】	146 mm/hr

症例：萱○利○ 71歳, 男性 (表10)

主訴：腰痛

参考となる検査：蛋白分画でγ-g1 63.1%と著増し, 泳動でMpeakを認める。

診断：多発性骨髄腫

解説：膠質反応の増加が著しく, 他の肝機能が正常な場合は肝以外の疾患で, γグロブリンの増加を示す病態を考える。この症例は血沈の著明な亢

進, 総蛋白の増加, 免疫電気泳動より容易に多発性骨髄腫の診断がなされた。

(本論文の要旨は, 平成8年3月16日, 平成7年度白石市医師会産業医学研修会にて発表したものである。)

文 献

1. 日本消化器病学会肝機能研究班：肝機能検査法の選択基準。日消誌 1994, 91:1376-1381。
2. 大久保昭行編：肝障害の診断的アプローチ。文光堂, 1993年。
3. 血液・尿化学検査, 免疫学検査：日本臨床1989年増刊。
4. 大久保昭行：肝硬変の臨床B。肝機能検査。最新内科学大系第49巻, 中山書店, 1991年。
5. 日本肝癌研究会編：臨床・病理 原発性肝癌 取り扱い規約第3版, 金原出版, 1992年。

# インスリン非依存糖尿病 (NIDDM) 患者における 尿中トランスフェリン, アルブミン排泄と 糖尿病性網膜症との関係

佐々木 明德<sup>①</sup> 及川 真一<sup>②</sup> 赤井 裕輝<sup>③</sup>  
内藤 孝<sup>④</sup> 早坂 恭子<sup>③</sup> 星 勝彦<sup>②</sup>  
豊田 隆謙<sup>②</sup>

## はじめに

糖尿病性腎症の初期より尿中に増加するアルブミン (Alb) は陰性荷電蛋白である<sup>1)</sup>。腎糸球体の透過性亢進には、基底膜の荷電変化が関与すると考えられ、尿中 Alb の出現もまたその結果とされている<sup>2)</sup>。糖尿病性腎症の早期診断に重要なアルブミン尿の測定は、これまで RIA 法や免疫比濁法により行われてきた。一方、従来の尿蛋白定性試験紙よりも約10倍の感度を持ち、アルブミン尿を2分間の操作時間で検査可能な定性キット (ED002, アルブシユア<sup>®</sup>) もあり、外来でのスクリーニング検査法として用いられている。今回我々は、Alb とは異った等電点を有する尿中トランスフェリン (Tf) の測定を行い、さらに Alb 定性試験を施行し、網膜症との関連性について検討した。

## I. 対象と方法

各施設の糖尿病外来に定期的に通院しているインスリン非依存糖尿病 (NIDDM) 患者でかつ試験紙法 (BM テスト) にて尿蛋白陰性の245名を対象とした。主な臨床背景を表1に示した。平均年齢は61

表 1 臨床背景

症例数 (男性/女性)	245(120/125)
年齢 (歳)	61±0.7
罹病期間 (年)	10±0.5
食事療法/経口剤/インスリン	60/102/83
網膜症 (単純性/増殖性)	57/31
空腹時血糖 (mg/dℓ)	131±2.3
HbA <sub>1c</sub> (%)	7.4±0.3
収縮期血圧 (mmHg)	129±1.1
拡張期血圧 (mmHg)	75±0.7
総コレステロール (mg/dℓ)	197±2.3
中性脂肪 (mg/dℓ)	102±3.9
HDL-コレステロール (mg/dℓ)	58±1.3

(mean±SE)

①宮城県立がんセンター内科 ②東北大学医学部第三内科  
③仙台厚生病院糖尿病科 ④坂総合病院内科

歳、糖尿病の平均罹病期間は10年であった。治療法は食事療法のみが60名、経口血糖降下剤治療例が102名、インスリン使用者が83名であった。網膜症については、単純性、増殖性がそれぞれ57、31例であった。網膜症は糖尿病専門医による判定で、血糖コントロールは空腹時血糖 (グルコースオキシダーゼ法にて測定) および HbA<sub>1c</sub> (HPLC 法にて測定) で評価した。また血圧は安静時座位にて測定した。

尿中 Alb, 尿中 Tf, および尿中クレアチニン (Cr) の測定には外来受診時の随時尿を用い、検体は4℃にて保存し、24時間以内に測定を行った。

Tf は、ラテックス凝集法 (日本 DPC コーポレーション) により測定を行った<sup>3)</sup>。すなわち、検体とラテックス懸濁液を反応させると、検体中の Tf とラテックス粒子に吸着した抗 Tf 抗体が抗原抗体反応を始め、ラテックス粒子が凝集を開始する。この凝集反応を吸光度変化としてとらえたとき、その変化量は検体中の Tf 濃度に比例する。既知濃度の標準品を用いて検量線を作成し、検体中の Tf 濃度を求めた。なお、測定波長は、主波長が570nm、副波長が800nmである。

Alb は、免疫比濁法 (日本 DPC コーポレーション) により測定を行った<sup>4)</sup>。すなわち、uAlb と試薬中の抗ヒト Alb 抗体とによって起こる抗原抗体反応を直接濁度として定量を行った (主波長が<sup>5)</sup> 340nm、副波長が<sup>6)</sup> 700nm)。

また尿中クレアチニン (Cr) をアルカリ性ピクリン酸法で測定した。uTf の値は、Cr との重量比 (Transferrin index, mg/gCr) として換算した。uTf の cutoff point は1.00mg/gCr<sup>3)</sup>を採用した。また、自動分析装置は Cobas Mira (Roche Diagnostics, Basle, Switzerland) を用いた。

Alb 定性試験については、図1に示した如く、アルブミン被覆ポリスチレン微粒子ラテックス粒子と特異抗体 (抗ヒトアルブミン山羊抗体) による凝集

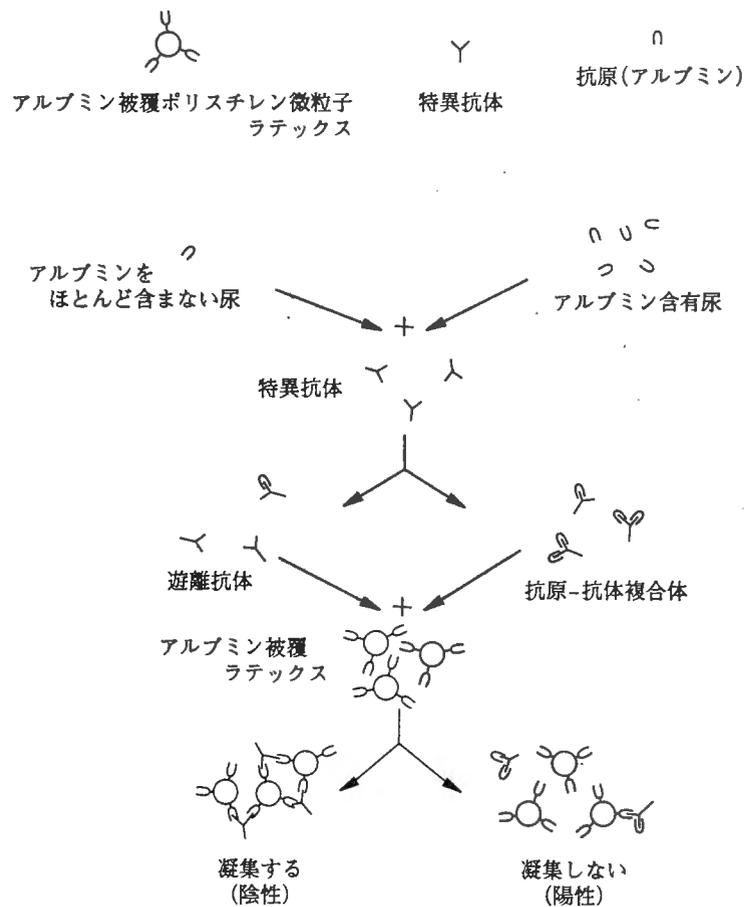


図 1 尿中アルブミン定性試験 (ED002, アルブシュア®) 測定原理

反応を検体(ヒト尿)中のアルブミンが、その濃度により阻止し得ることから、微量アルブミンの存在を定性的に検討するものである。具体的な操作手順を図2に示した。すなわち、1滴の抗体試液をスライド板上のサークル内に滴下し、これに陰性コントロール液を1滴滴下した。他のサークルに陽性コントロールを同様に1滴滴下した。これらと同様に尿検体をそれぞれの抗体試液に1滴滴下した。これらの混合液を攪拌した後、1滴のラテックス懸濁液を滴下しさらに混和した。このときスライド板を持ち、混合液がサークルの内側に沿って回転するように2分間揺動した。この測定法の cutoff point は30 mg/l であるが、アルブミン10mg/l を含む陰性コントロールでは約30秒後に明瞭な凝集が認められ、60mg/l 以上を含む陽性コントロールではこのような凝集が認められなかった。これら尿 Alb および尿中 Tf 測定値、およびアルブミン定性試験判定値と、糖尿病性網膜症の関連について検討した。統計処理は、尿中 Alb, Tf の検定にはノンパラメトリック分析(Mann-Whitney の U 検定)を使用し、その他の検定には unpaired-t test を使用した。

## II. 結 果

対象の245例について RIA 法による尿中アルブミン濃度と、定性試験による陰性・陽性の関係を比較した。これらを尿中アルブミン濃度30mg/l 未満および以上の2群に分け、定性試験陽性例との対比を検討し、表2に示した。すなわち、false positive rate は5.0%、false negative rate は20.0%、efficiency は92.2%であった。

全症例の尿中 Alb は  $22.7 \pm 1.5$  (mg/l, M $\pm$ SE 以下同じ)、尿中 Tf は  $2.91 \pm 0.27$  (mg/gCr) であった。両者間の相関係数は  $r=0.74$  であり、有意 ( $p<0.001$ ) な正相関を認めた(図3)。しかし回帰直線から乖離する例も多数認められたことから、尿中の Alb 排泄と Tf 排泄とが必ずしも一致しない例が存在すると考えられた。

網膜症なし ( $n=157$ 例) の尿中 Alb 値は  $20.3 \pm 1.8$  であり、単純性網膜症あり ( $n=57$ ) では  $27.9 \pm 3.3$ 、増殖性網膜症あり ( $n=31$ ) では  $25.6 \pm 4.0$  であった。網膜症を有しない群に比し、単純性網膜症を有する群においては有意 ( $p<0.03$ ) に高値で

1	抗体試液(試液瓶1)をスライド板のサークル内中央に1滴滴下する。この時、試液瓶は垂直にする。	
2	最初のサークル上の抗体試液に陰性コントロール(試液瓶2)を1滴滴下する。次のサークルに陽性コントロール(試液瓶3)を1滴滴下する。それ以降のサークルに尿検体を1滴滴下する。	
3	スポイトの頭の平らな部分でサークル内の混合液を攪拌する。	
4	それぞれのサークルにラテックス懸濁液(試液瓶4)を1滴ずつ滴下し混合する。	
5	スライド板を持ちサークル内の混合液がサークルの内側に沿って、ゆっくりまわるように2分間揺動する。  正常尿検体あるいは陰性コントロールは約30秒後に明瞭な凝集が現れる。ミクロアルブミン尿症あるいは陽性コントロールは凝集が認められない。	判定(2分後に判定)   (凝集) (非凝集) 陰性コントロール 陽性コントロール

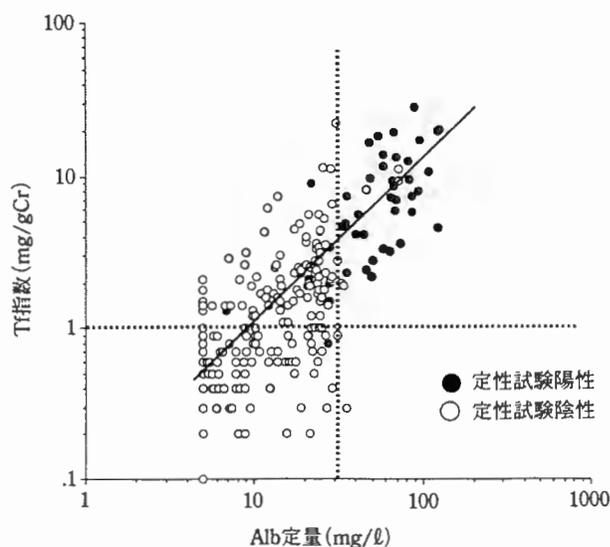
図 2 尿中アルブミン定性試験 (ED002, アルブシュア®) 操作法

表 2 尿中アルブミン定性と定量法の比較

尿中アルブミン濃度	定性試験判定	
	陰性	陽性
30 (mg/l) 未満	190	10
30 (mg/l) 以上	9	36
Sensitivity	80.0% (36/45)	
Specificity	95.0% (190/200)	
Efficiency	92.2% (36+190/245)	
False positive rate	5.0% (10/200)	
False negative rate	20.0% (9/45)	

あり、増殖性網膜症を有する群では高値傾向を認められた。一方、尿中 Tf 値はそれぞれ  $2.62 \pm 0.34$ ,  $3.40 \pm 0.52$ ,  $3.47 \pm 0.83$ であった。網膜症を有しない群に比し、単純性、増殖性それぞれの網膜症を有する群において有意 ( $p < 0.04$ ,  $p < 0.05$ ) に高値であった(表3)。

さらに、単純性網膜症ありの症例について、尿中



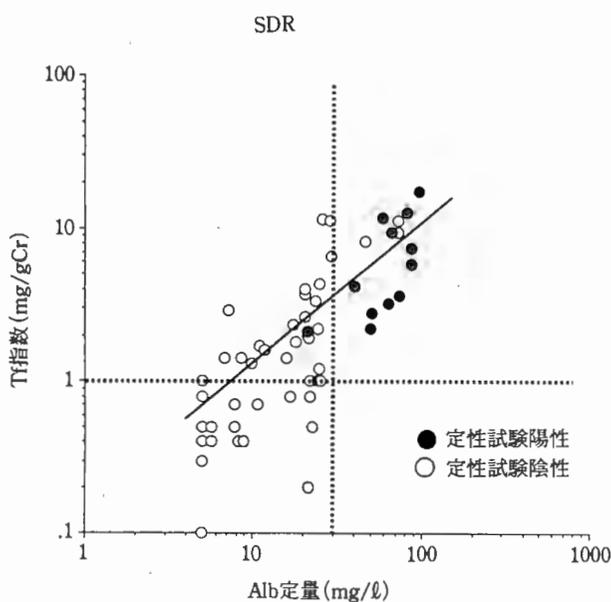
$y = 0.136x - 0.184$ ,  $r = 0.74$ ,  $p < 0.001$  ( $n = 245$ )

図 3 尿中 Tf 指数と Alb 定量の関係

表 3 網膜症の有無別にみた臨床背景

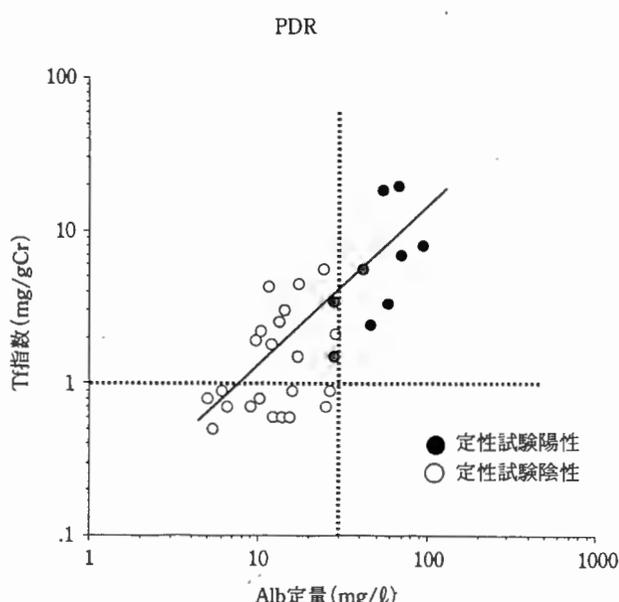
	NDR (n=157)	SDR (n=57)	PDR (n=31)
尿中トランスフェリン (mg/gCr)	2.62±0.34	3.40±0.52*	3.47±0.83**
尿中アルブミン (mg/l)	20.3±1.8	27.9±3.3***	25.6±4.0
空腹時血糖 (mg/dl)	125±2.3	149±6.5#	131±5.3
HbA1c (%)	7.4±0.5	7.5±0.2	7.1±0.2**
収縮期血圧 (mmHg)	129±1.3	128±2.4	129±2.5
拡張期血圧 (mmHg)	76±0.9	73±1.3***	74±1.8
総コレステロール (mg/dl)	203±2.7	186±5.0#	189±6.7**
中性脂肪 (mg/dl)	108±5.3	101±7.2###	76±7.4##
HDL-コレステロール (mg/dl)	59±1.7	56±2.3	57±3.3

(mean±SE), NDR;網膜症なし, SDR;単純性網膜症, PDR;増殖性網膜症  
 \*; P<0.04 vs NDR, \*\*; P<0.05 vs NDR, \*\*\*; P<0.03 vs NDR, #; P<0.01 vs NDR,  
 ##; P<0.02 vs NDR, ###; P<0.04 vs PDR



$y=0.119x+0.07, r=0.76, p<0.001 (n=57)$

図 4 尿中 Tf 指数と Alb 定量の関係 (単純性網膜症あり)



$y=0.14x-0.126, r=0.67, p<0.001 (n=31)$

図 5 尿中 Tf 指数と Alb 定量の関係 (増殖性網膜症あり)

アルブミン濃度と尿中 Tf 値との関連を検討した。尿中アルブミン濃度30mg/l 以上かつ尿中 Tf 排泄 1.0mg/gCr 以上の症例は14例, 24.6%であったが, そのうち定性試験陽性症例は11例, 78.6%と高率であった (図4)。

同様に増殖性網膜症ありの31例について検討した。尿中アルブミン濃度30mg/l 以上かつ尿中 Tf 排泄 1.0mg/gCr 以上の症例は7例, 22.6%であったが, その全例が定性試験陽性であった (図5)。

Ⅲ. 考 察

今回我々は定性および定量の2法により尿中アルブミン濃度を測定した。その結果, 他の報告<sup>5)6)</sup>にも見られるように ED002 は簡便でかつ信頼性の高い測定法であった。本測定法は極めて容易にかつ5

分以内で全ての検査過程を終了し得た。また, 従来の尿蛋白定性試験のみでは検出不可能なアルブミン濃度を検出し得ることから, 多数の患者を扱う糖尿病外来では, 1次スクリーニングとしての有用性が考えられる<sup>7)</sup>。本法では, 陰性・陽性の cutoff point は30mg/l に設定されている。Mogensen らは早朝尿中アルブミン濃度が30mg/l 以上の NIDDM では, 約10年後の腎症発現率 (22%) が30mg/l 未満の発現率 (5%) に比し, 高頻度であることを報告<sup>8)</sup>した。このようなことから, 本法陽性者の予後に対する検討が必要と思われる。

糖尿病患者における尿中 Tf に関する報告によると, 糖尿病患者の尿中 Alb 排泄に比し, Tf 排泄が腎症の早期診断のマーカーになるとする意見が多い<sup>9)~12)</sup>。今回の我々の成績では Alb の尿中排泄量

が正常でも Tf 排泄が増加する例を認め、これまでの報告を支持すると考えられる。

Tf の検体保存については、凍結保存 (-20℃) では測定値の低下を認め<sup>13)</sup>、また 4℃ で 8 週間保存しても低下を認めない<sup>14)</sup> など様々である。我々は検体採取から測定までの期間凍結せずに、冷蔵 (4℃) 保存し、24 時間以内に測定を行った。糖尿病性網膜症を有する群では尿中 Tf 排泄が増加していると報告されている<sup>15)16)</sup>。しかしこれらの報告では、尿中 Alb 排泄も同時に増加しており、かつ Alb 排泄量と Tf 排泄量との比較検討がなされておらず、尿中 Tf 排泄増加の意義付けは明らかではない。

このため我々は尿中 Alb 排泄量が正常 (20mg/gCr 未満) な糖尿病患者 (NIDDM) を対象とし網膜症と尿中 Tf 排泄量との関係を報告した<sup>17)</sup>。尿中 Tf 排泄は網膜症を有する群で増加し、特に罹病期間 10 年以上の長期罹病者では有意に増加した。さらに糖尿病患者 (NIDDM) について網膜症と尿中 Tf 排泄量との推移を検討したところ、網膜症改善を認めた 9 症例については収縮期および拡張期血圧、空腹時血糖、尿中 Alb いずれも経過中に有意な変化がなく、尿中 Tf が有意に減少していた。(投稿中)

Tf (分子量 77000) は等電点 5.5 の血漿鉄搬送蛋白であり、Alb (分子量 67000, 等電点 4.7) とは性質を異にしている。糖尿病性腎症の尿蛋白漏出機序の一因に charge selectivity loss があり、腎症の初期病変と考えられている<sup>18)</sup>。即ち我々が認めた尿中 Tf 排泄亢進は、尿中 Alb に比しより陰性荷電の弱い Tf が charge selectivity の変化をより鋭敏に反映したものと考えられる。

糖尿病性細小血管障害としての網膜症および腎症は、共通の代謝異常を基盤として発症することが考えられる。したがって、網膜症を有する群で尿中 Alb 排泄が正常でも Tf 排泄亢進を認めたことは網膜血管における透過性亢進の存在を疑わせ、このような変化が臨床的に認められた網膜の病変と関連した理由と考えられた。

## 結 語

Tf の尿中排泄亢進は、細小血管障害の初期病変を意味する可能性が示唆された。また、糖尿病では陰性荷電の弱い蛋白がより早期に尿中に増加する可能性が示唆された。以上のように、尿中 Tf の測定は糖尿病性血管合併症を早期に診断する上で重要な

意義があると考えられた。

## 文 献

- 1) Mogensen, C.E. and Christensen, C.K.: Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N. Engl. J. Med.*, 311, 89-93, 1984.
- 2) Parthasarathy, N. and Spiro, R.G.: Effect of diabetes on the glycosaminoglycan component of the human glomerular basement membrane. *Diabetes*, 31, 738-741, 1982.
- 3) 遠藤隆, 佐藤雅子, 平田洋子ほか: 尿中トランスフェリン測定的基础検討—スベリオル・マイクロトランスフェリン測定キット—. *医学と薬学*, 28 (5): 1055-1061, 1992.
- 4) Teppo, A.M.: Immunoturbidimetry of albumin and immunoglobulin G in urine. *Clin. Chem*, 28 (6), 1359-1361, 1982.
- 5) Spooner, R. J. and Prier, B.M.: Detection of microalbuminuria in diabetic patient using a simple latex agglutination test. *Clin. Chim. Acta*, 166, 247-253, 1987.
- 6) Close, C.F., Scott, G.S. and Viberti, G.C.: Rapid detection of urinary albumin at low concentration by an agglutination inhibition technique. *Diabetic Medicine*, 4, 491-492, 1987.
- 7) Marshall, S.M. and Alberti, K.G.M.M.: Screening for early diabetic nephropathy. *Ann. Clin. Biochem*, 23, 195-197, 1986.
- 8) Mogensen C.E.: Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 310, 356-360, 1984.
- 9) Howard, R.L., Buddington, B. and Alfrey, A.C.: Urinary albumin, transferrin and iron excretion in diabetic patients. *Kidney Int*, 40, 923-926, 1991.
- 10) O'Donnell, M. J., Martin, P., Florkowski, C.M. et al.: Urinary transferrin excretion in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, 8, 657-661, 1991.
- 11) Bernard A.M., Ouled Amor, A.A., Goemaere-Vanneste, J. et al.: Microtransferrinuria is a more sensitive indicator of early glomerular damage in diabetes than microalbuminuria. *Clin Chem*, 34, 1920-1921, 1988.
- 12) McCormick, C.P., Koenen J.C., and Shihabi, Z.K.: Microtransferrinuria and microalbuminuria. *Clin Physiol Biochem*, 8, 53-58, 1990.
- 13) Vittinghus, E.: Preanalytical handling of stored urine samples, and measurement of  $\beta_2$ -microglobulin, orosomucoid, albumin, transferrin and immunoglobulin G in urine by enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). *Scand. J. Clin. Invest*, 50, 843-849, 1990.
- 14) Magnotti, R.A., Stephens, G.W., Rogers, R.K. et al.: Microplate measurement of urinary albumin and creatinine. *Clin. Chem*, 35/7, 1371-1375, 1989.
- 15) Teppo, A.M. and Groop, L.: Urinary excretion of plasma proteins in diabetic subjects. *Diabetes*, 34, 589-594, 1985.
- 16) Cheung, C.K., Cockram, C.S., Yeung, V.T. et al.: Urinary excretion of transferrin by non-insulin-dependent diabetics: a marker for early complications? *Clin. Chem*, 35, 1672-1674, 1989.
- 17) 佐々木明徳, 及川真一, 豊田隆謙: NIDDM における尿中トランスフェリン排泄増加と糖尿病性網膜症の関係. *医学のあゆみ*, 165: 177-178, 1993.
- 18) Rohrbach, D.H., Hassel, J.R., Kleinman, H.K. et al.: Alterations in the basement membrane (heparan sulfate) proteoglycan in diabetic mice. *Diabetes*, 31, 185-188, 1982.



# 部 ・ 科 だ よ り



# 医 療 局

## 内 科

内科は総勢14名で、専門分野別に担当している。上部消化管、下部消化管、肝胆膵、血液及び非癌領域の循環器及び糖尿病である。午前中は全員で一般外来（新患と再来）と専門外来及び消化器検査（スクリーニング検査としての上下部消化器内視鏡検査、大腸造影検査、腹部超音波検査）を分担し、午後は、消化器内視鏡や腹部超音波を駆使した検査と治療を行っている。消化器系の医師は午後にも検査や治療があるため、検査の合間或いは夕刻になってから病棟診療を行わざるを得ない。平成8年度の人事では5月に血液担当の奥田医師が着任、12月には成人病センター以来25年間勤務された循環器担当の粉川医師が退職された。

上部消化管グループは、胃癌を中心に担当している。外科術前患者は112例であった。術前の検査では、色素散布による病巣範囲の評価、クリッピングによる病巣範囲の明示、超音波内視鏡による深達度診断、腹部超音波検査やCT検査による転移病巣の検索を行い、外科との術前カンファランスを行っている。内視鏡的治療は、早期胃癌や胃腺腫の粘膜切除術及びレーザー治療80例のほか、食道癌の内視鏡治療、ポリープ摘除、食道静脈瘤硬化療法、消化性潰瘍からの出血に対するエタノール局注止血法、術後或いは放射線治療後の狭窄部の内視鏡的拡張術なども施行した。

下部消化管グループはスクリーニング検査として約1,400例の大腸二重造影検査、約1,800例のS字結腸及び全大腸内視鏡検査を施行した。外科術前患者は69例であった。外科と放射線科との術前カンファランスで、総合的に検討し、治療方針を決めている。内視鏡的治療は、大腸癌17例、大腸腺腫307例の切除術を施行した。そのほか、7年前より名取市の大腸癌住民検診の精検を担当しており、平成8年度は91例中、進行癌4例、早期癌4例、腺腫34例が発見された。啓蒙活動として、成人病検診従事者指導講習会や名取市民への講演会も行った。

肝胆膵グループは肝細胞癌の発見（定期的な腹部超音波検査と腫瘍マーカー測定）と治療（超音波映像下エタノール局注療法、肝動脈塞栓術、化学療法）及び胆道癌膵臓癌の進展度診断（超音波内視鏡検査、管腔内超音波内視鏡検査、血管造影検査）と閉塞性黄疸の治療（超音波映像下胆道ドレナージ法、内視鏡的逆行性胆管ドレナージ法、内視鏡的結石除去術など）を行った。肝癌のハイリスク群（肝炎ウィルス陽性者、慢性肝炎患者）を管理している肝臓外来で発見された肝細胞癌の75%は内眼的進行程度Iで良好な予後が得られている。成人病センター時代の1980年からの肝細胞癌252例における3年、5年、10年生存率はそれぞれ26%、18%、4%であった。

血液疾患は5月に赴任した奥田医師が主に担当した。54例の造血器悪性腫瘍（急性白血病10例、悪性骨髄腫21例など）の入院治療を行った。外来では、上記患者の経過観察のほか、慢性白血病、再生不良性貧血、特発性血小板減少性紫斑病などの治療を行った。初発急性白血病患者の完全寛解率は42%、初発悪性リンパ腫は64%で満足できるものではなかった。高齢者、CD7陽性白血病などのハイリスク症例が多かったことが原因と考えられた。3月には6階病棟の無菌室2床がオープンした。クラス100の無菌状態が得られ、より

強力な化学療法が施行できるようになったので、治療成績の向上が期待できる。また自家抹消血幹細胞移植の施行に向けて、医療機器の購入準備をすすめている。血液疾患は実質1名の医師が担当しているといえる。血液疾患患者に最新の治療を行うためには、早急な血液専門医の増員が絶対必要である。

非癌領域の循環器及び糖尿病は慢性疾患で担癌患者も多く合併している疾患である。循環器グループは心臓疾患と高血圧症を担当している。外来受診者の約2割が担癌患者で、延べ130名/月であった。入院患者の術前、術後の管理数も増加している。粉川医師が退職したため、1月以降は週1日瀬峰病院からの応援医師で急場を凌いだ。糖尿病グループは担癌患者の糖尿病治療を担当している。術前、高カロリー輸液時及び化学療法に伴う食欲不振時などで血糖管理を要した入院患者は1年間に約70例であった。

(鈴木 裕 記)

## 外 科

県立がんセンターとして開設して以来3年目を迎え、当科の診療体制もようやく軌道に乗りはじめた感があります。症例は成人病センター時代にも増して消化管悪性腫瘍症例の占める割合が増え、平成8年度の手術件数は計318例、食道13例、胃121例、結腸・直腸89例、肝胆膵36例、乳腺46例、その他13例で食道、膵疾患の増加が目立ちます。これまでの3年間の症例の3年累積生存率は胃癌(100症例)、結腸癌(33例)、直腸癌(23例)でそれぞれ $73.0 \pm 4.4$ 、 $81.8 \pm 6.7$ 、 $82.6 \pm 7.9\%$ (mean $\pm$ SE)でありました。

当科は現在、大内部長以下、菅原、小野、神山、藤谷、角川、三国、山並の8名で診療、研究に当たっており、各自がそれぞれ臓器別担当を持ち症例の集積、解析を行っております。

大内部長は臨床面では主治医の1人として診療されるとともに長時間に亘る手術にも積極的に入られ後輩の手術指導に当たり、研究面では臨床にも増して精力的に各臓器担当の研究指導をされ多くの学会活動をこなし、本年度からは当センターの医局長として多忙な毎日を送られております。

菅原 暢(54年卒)先生は乳腺担当で乳癌の専門家として診療に携わるかたわら在宅医療チームの一員としてターミナルケアに情熱を注いでいます。

小野日出麿(55年卒)先生は成人病センター以来、大腸癌を担当し、最近では癌の転移機構にとける接着分子の関与についてカドヘリンおよびカテニンの面からの検討に着手しております。

藤谷 恒明(56年卒)先生は胃癌を担当し、臨床では進行胃癌に対するtype oriented surgeryの確立と実践に努め、また、成人病センター時代からの症例を含めた胃癌症例の集積、解析を行って成果を着実に発表しております。

角川陽一郎(59年卒)先生は膵と食道癌を担当しており、最近では症例の増加に伴い手術、術後管理と休む暇もない毎日ですが、研究面では宮城先生と共同で癌におけるシアリダーゼの関与について検討を進めています。

三国 潤一(61年卒)先生は肝・胆道癌を担当しており、臨床では後期研修を終え今後の肝胆領域での活躍が期待されます。コンピューターの分野ではテレビ会議システムを含め病院全体のシステム確立と管理運

営において今やなくてはならぬ存在となりつつあります。

山並 秀章（63年卒）先生は平成9年4月より仙北組合病院から赴任となりました。後期研修を終えての赴任で、藤谷先生とともに胃癌を担当することになりました。

小生（56年卒）は小野先生とともに大腸癌を担当し、特に直腸癌症例における臨床病理学的検討を行っております。

以上の8名の常勤に加え平成7年8月から橋本博史（平成5年防衛医大卒、防衛医大2外科在籍）先生が自衛隊船岡駐屯地医務室勤務にかたわら週2回、手術の研修に来ております。全員が学位を終了しているなかで若い彼の存在は良い刺激となっております。 （神山 泰彦 記）

## 呼吸器科

当センターの呼吸器科は、内科系2名、外科系3名の計5名で構成されている。平成9年4月に外科系2名の移動があった。岡部健先生が開業、植田信策先生が大学に戻り、新たに、加齢医学研究所から斎藤亮先生と杉田真先生が赴任した。

当科は、肺の悪性腫瘍の診断治療を主としており、入院症例の殆どは肺癌あるいは肺癌疑いの症例である。また、当呼吸器科は、宮城県の仙南以南の地域の呼吸器疾患の中心的な存在となっている関係上、非癌症例たとえば重篤な肺感染症や慢性閉塞性肺疾患の症例が近医から紹介されてくる。新しい診療技術として数年前から取り入れた、胸腔鏡をもちいた診断および治療の症例数が年々増加傾向にあることも、最近の変化である。また、地域の医療機関との連携を強める目的で、以前より隔月一回「仙南呼吸器疾患懇話会」を主催し、さらに、近隣の肺癌の専門医が集まって肺癌を中心とした呼吸器疾患の勉強会を年二回定期的に開催している。

平成8年一年間の当科の入院症例は、肺癌167例（うち、再入院68例）で全体の63%を占め、その他は転移性肺腫瘍13例、その他の腫瘍7例、呼吸器感染症27例、COPD17例などである。手術例は、77例で、そのうち、肺癌40例である。

平成8年に当科に新しく入院した肺癌99例を分析してみると、検診による発見41例、他疾患での偶然発見8例、自覚症状による発見50例で、全例医療機関あるいは検診機関からの紹介である。男性78例、女性21例で、組織別にみると、扁平上皮癌34例、腺癌46例、小細胞癌15例、その他2例、不明3例である。臨床病期は、1期34例、2期1例、3A期16例、3B期17例、4期31例である。治療別にみると、手術単独35例、手術＋化学療法2例、手術＋照射1例、化学療法単独26例、化学療法＋照射9例、照射単独7例、治療なし19例である。

肺癌の治療成績は依然として芳しくなく、遠隔転移特に脳、骨への転移が多いが、QOLを考慮にいれた脳転移の治療、骨転移の治療あるいは疼痛に対する治療などが各専門分野の協力で積極的に行えるようになった。さらに、終末期の在宅医療の症例も多くなっているのが現況である。 （小池 加保児 記）

## 麻 醉 科

麻酔科なる部門が出来てから久しいが、一般にはまだ馴染みの薄い科である。そのためか病院でも存在感がない事が多い。しかし、本院ではうるさい、にぎやか、頑固、しつこい、恐い、躁病的あるいは鬱病的、態度が大きい（一人一項目とは限らない複数選択法）など、特異的な性格の持ち主で構成されているためか、他の病院よりは麻酔科の存在感は多少なりとも強いように思われる。

しかし、総長に「当科は忙しいので、どうか人手を増やして下さい」と訴える科の手術や術後管理を行っているために、人材不足を話し会議にも出られないのが実状で、コスト制度で言えば、参政権のない最下層部門で在ることには変わりはない。

したがって各科が手術を増やしたいと考える時には、必ずそれを支える麻酔科の仕事にも配慮して下さいをお願いするしかないのである。

当科は何となく手術部門とターミナル・ケア部門の分業体制を取っているので各部門の長に現状を述べてもらった。

平成8年度、手術室では、全症例の80%に相当する約800例の手術が麻酔科管理下に行われた。大半は全身麻酔であるが、硬膜外麻酔、脊椎麻酔、静脈麻酔などを併用または単独で施行した症例もあった。また局所麻酔で行われる手術に立ち会い、全身管理を行った症例も数例あった。

様々なモニターを駆使し、呼吸や循環に合併症を持つリスクの高い患者の麻酔も安全に行われるように心掛けた。

HCUには、約580例の術後患者および重症患者が入室した。在室日数は1日から5日で、麻酔科医が外科系各科の主治医の協力のもとに患者管理を行った。

呼吸不全を来した重症患者では、長期間にわたり人工呼吸管理を行った。外来で急に心停止をきたし蘇生に成功した患者や、内科重症患者の受け入れも行った。

平日は麻酔科医が、休日は外科系医師が当直業務にあたり患者管理を行った。 (杉山 公利)

終末期癌患者の主症状は80%が痛みであるといわれる。当科では平成7年7月に全国のがんセンターに先駆けて癌性疼痛外来を開設した。麻酔科常勤医4名のうち2名が手術麻酔の合間に、外来（月、水、金）と病棟（麻酔科4床と、各科病棟）で年間約100例の院内外からの紹介患者の疼痛治療にあっている。

患者は主治医科によるモルヒネ等の治療では除痛されず、新たな入院や長期の入院継続を余儀なくされた例である。当科ではWHO方式のモルヒネ投与方法と神経ブロックを併用する疼痛治療を行い、その結果98%の患者が満足のいく除痛が得られた。また治療を受けた患者の40%は退院し、外来通院または在宅医療に移行した。

更に、疼痛治療の目標は「痛みを取って家に帰す」ことで、地域の病診連携が重要であり、宮城県におけるがん診療の中核病院として県下への疼痛管理技術の提供とモルヒネの供給体制（特に麻薬調剤薬局の普及）の整備に取り組んでいる。 (佐藤 智)

お互いの立場を尊重しつつそれなりに精一杯やっている現状を御理解いただければ幸いです。

至らぬ点多々あり、御不満もおありでしょうが、今後とも宜しくお願い申し上げます。

## 放射線科

人事面では放射線科は山本先生が、研修医として新たに加わり、貴重な戦力として、主に診断業務に活躍しております。ただ現状では放射線分野への要求をすべて満たすことはできず、各科の先生方の応援をいただきながら放射線診療を行っているのが現状です。諸先生方にこの場を借りてお礼を申し上げます。

各部門別に見ると、診断部門ではPACSシステムで単純撮影の読影を行っていて、読影依頼も増えつつありますが、全科の撮影分の読影には手が回りきらない状況です。従来のフィルムと手書き用紙による読影に比べて、非常に労力を要します。ただPACSの画像が、院内情報システムにリンクし、端末上ならどこでも検索できるようになり、参照可能なレポーティングシステムの情報の蓄積もあり、導入されたシステムのメリットが明らかになりつつあると思います。今後はオーダリングシステムや、データベースとのリンクがなされることにより、その有用性がさらに高まることを期待しています。新たな試みとして、MRによる胆道撮影、spiral CTによる乳癌症例の乳管内進展の検索などが行われています。臨床上有用な情報が得られるものと思われます。こういった新しい試みは従来の日常業務の質、量を落とさずに、さらには増えつつある各科の要望に応えながら行われなくてはならず、各科の先生方の協力によることも大きいと思います。マンパワーだけでなく、保険請求などの問題もありますが、地域がんセンターとして、果たさなければならない役割の1つでもあり、皆様方のご理解をいただきたいと思います。

治療部門は、各領域における標準的治療成績を最低限維持しているかどうかを含め治療成績をretrospectiveに検討し、一部を学会発表しています。県内で最初に導入されたstereotactic radiosurgeryについては、症例数の蓄積とともに線量効果関係があること、障害が従来の定説より低い線量でおこりうることなどが分かってきました。今後適応、適切な線量が組織型や腫瘍径ごとに確立するものと思われますが、脳転移巣に関しては、北日本でも症例数の多い施設であることから、これらに当施設の果たすべき役割は大きいものと思われます。新しい試みとしてはfractionated stereotactic radiotherapyを施行しております。PL法の施行により、通常と異なった直線加速器の使用にはメーカーで責任を負えないという通告があり、県当局でも実施に難色を示している状況です。関係各位のご理解を是非いただきたいと思います。保険点数の改定により従来よりは放射線治療の評価は高まりましたが、設備投資や労力に見合った十分な評価が得られているとは言えません。様々な事情により、放射線治療へのニーズに十分応えられていない状況ですが、少しでも応えられるよう努力していきたいと思います。

(菱沼 民生 記)

## 脳神経外科

当センター開設に伴い脳神経外科が開設して4年が経ちました。当初から下記2名で診療に当たっています。当科の入院患者は、9割が脳腫瘍であり、そのうち60%が転移性脳腫瘍、40%が原発性脳腫瘍となっています。全例が紹介患者で、県内外の脳外科医あるいは神経内科医からの紹介と、院内から紹介となります。

昨年の活動ですが、まず宮城悪性脳腫瘍研究会が発足してから3年目を迎えました。本会は当センターに

脳外科が開設されたのを期に、東北大学脳神経外科と共同で県内の悪性脳腫瘍の登録事業と臨床研究を行うことを目的としています。本会では県内全施設からの症例を事務局である当センターへ登録してもらい、またいくつかの疾患では県内同一プロトコールを設定し治療を行い、その成績を検討することで、いち早く患者さんにその成果を還元することになっています。過去2年間で300例の症例が登録されており、疫学的にも貴重な結果が得られそうです。

当科で治療の対象となる腫瘍で最も多いのが転移性脳腫瘍です。当科では、教科書に述べられている方針とは異なり、患者のquality of lifeの向上を第一の目的に独自の治療方針を決め治療に当たっております。Linac Radiosurgeryが開設と同時に使用できたことも本疾患の治療に貢献しています。次いで多い疾患が原発性脳腫瘍のグリオーマ系腫瘍です。悪性度が最も高いグリオーマを膠芽腫と言い、平均生存期間が1年前後で、ここ数十年成績の向上が見られていません。我々の研究もこの腫瘍の治療成績向上が目標で、免疫部門との共同研究を行っています。臨床では、国立がんセンター研究所と共同で免疫療法を初期治療終了後維持療法として行い、本療法を行った4例中3例が3～4年という長期間再発なく経過しております。この結果は、本年度日本癌学会で報告する予定です。次いで当科の紹介の多い疾患に中枢性悪性リンパ腫があります。これも他臓器に発生する悪性リンパ腫と異なり、脳血液関門の問題もあり化学療法の効果が充分得られず、難治性脳腫瘍となっています。本疾患に関しては、腫瘍細胞のclonarityについて鈴木洋一先生が分子生物学的に研究中で最近興味あるDataを得ています。臨床では、放射線科松本先生の協力を得て、抗癌剤の脳血管3 vessels動注を行い、その効果を検討中です。

いづれにしても、当科へ紹介される疾患は極めて難治性であることから、我々も現時点で最善と思われる治療法を独自に設定し、prospectiveに治療に当たることを目標とし今年度も活動していきたいと考えています。

(片倉 隆一, 鈴木 洋一 記)

## 耳鼻咽喉科 (頭頸科)

頭頸科の朝は早く、術後の患者がHCUに居る時は、朝8時にHCUへ集合し1日が始まる。再建のある長時間の手術は水曜日なので、木、金、月はたいてい朝8時集合である。HCUに患者が不在の場合には、8時30分に4階東病棟に集合し、各病室を回診し、患者の話を聞いたり、今後の治療などを話しながら回診する。

さて、この回診する頭頸科の医師3人を背の高い順に紹介しよう。

志賀清人先生 (182cm)

学生時代はラグビー部の選手、鼻骨骨折で耳鼻科で手術を受けている。鼻はまっすぐに治ったようだが、その後の経歴はまっすぐではない。東北大第二外科入局、臨床を3年半経験、その後、今日の分子生物学(癌遺伝子など)の隆盛を感じてか、基礎医学(医化学)に7年在籍し、研究一筋ののち、突然耳鼻咽喉科へ入局。癌遺伝子の研究を高くかわれてがんセンターへ。現在も着実に研究をすすめており、癌遺伝子の研究、

血中腫瘍細胞の検出、テロメラゼ活性等の研究で学会発表に忙しい。元来スポーツマンであり、飲み会で酒が入っても、スポーツ好きで、ダンスが上手。目が回った看護婦多数あり。

横山純吉先生（176cm）

3人のなかで、もっとも風格と威厳のある人物。土佐（高知）の生まれで、名の通り純で一本気な先生です。東京医歯大の歯科を卒業し、歯科医としての道歩んだのもつかのま、一念発起して東北大医学部へ入学、あらゆる方面に知識が豊富であり、特に我が頭頸科にとって口腔癌の治療にあたり、彼の歯科医としての知識はまさに千金に値する。某患者に、病院に1日中居る先生と言われた如く、朝早くから夜遅くまで、病棟と研究所を往復し、細胞の培養から免疫、癌遺伝子、自己血輸血の施行とその免疫学的な研究および松本先生との共同で、血管造影後の制癌剤動注など、その精力的に働く姿は年齢を感じさせない。皆がいつ寝ているのか心配しています。彼にも先日待望の第2子（女の子）が誕生。おめでとうございます。子供のためにも少しは家に居てあげてください。

西條 茂先生（168cm）

いちおう頭頸科の科長であるが、風格、威厳から言うと横山先生に一步ゆずっている。

平成8年度は5月に長崎大まで手術に行ったり、昔とったきねづかで、山登りを再開、カメラ、オーディオと忙しく頑張ったのはよいが、11月に無理がたたったのか、原因不明の肺炎になり、6階に1カ月入院。末期の肺癌とうわさがあつたらしく、まじめにそう言って来た見舞客あり、その後結核とうわさあるも、めげずに回復、呼吸器の先生方、6階の皆様、大変お世話になりました。

頭頸科は現在、癌の新患は80名/年くらい、2次治療例を合わせると年間約100例程を扱っていて、当センターが開院した平成5年5月～6年3月までの新患は51名、他因死も合わせて死亡例は17例あり、3年粗生存率は約67%。5生率は50%以上になると思われる。

平成9年3月には、当科に入院した患者さんの娘さんがディレクターということもあって、フジテレビの番組製作が始まり、いろいろとあわただしかったが、癌に関しては治せる癌を着実に治すことをモットーに頑張っています。

（西條 茂 記）

## 泌尿器科

〔人事について〕

これまでは、手術の時に大学よりお手伝いを頂きながら、桑原と栃木の2名で診療をしておりました。平成8年4月1日をもって泌尿器科が一名増員となりましたので、7月1日から東北大学泌尿器科より徳山聡先生を迎えることができました。これで以前よりは診療に余裕ができましたが、益々外来患者が多くなるため近いうちには外来を2診制にすることを検討中です。尚、徳山先生は、平成9年3月31日付で退職されました。後任として沼畑健司先生がみえられました。

〔診療について〕

平成8年度は、外来新患数約641名、入院患者数146名でした。手術は、徐々に件数も増え計98例でした。その内訳は、表に示した内容でした。

平成8年度施行手術の内訳と症例数			
膀胱全摘術 (インデアナパウチ:5回, 回腸導管:3、尿管皮膚瘻:2)	10例	腎尿管全摘術	7例
		腎全摘術	11例
膀胱部分切除術	4例	副腎摘出術	2例
TUR-Bt	17例	後腹膜リンパ節郭清術	1例
前立腺全摘術	12例	除  辜  術	6例
TUR-p	7例	精  巢  摘  出  術	5例
前立腺摘出術	1例	そ の 他	15例
		計	98例

〔名取市前立腺がん検診について〕

平成8年度の検診として、計4,965名に検診申込書を発送し前期と後期の二期に分けて行いました。926名が申込み（申込率18.7%）、823名が一次検診を受けました（受診率88.9%）。その結果、精検該当者が110名（精検率13.4%）となり、104名が二次検診を受け17名に前立腺がんが発見されました（発見率2.1%）。

平成6年度の名取地区前立腺がん検診予備調査に始まり、平成8年度の検診をもって名取市を一巡したことになります。平成6年度、平成7年度と平成8年度のがん発見率が各々2.1%、1.8%、2.1%と高い発見率であること、また申込率が約20%程度であることから、再度3年で名取市を一巡する予定で今後も検診を続行することになりました。

検診時には、外来看護部門、検査課、医事課、JMSサービス、薬剤部ならびに病理部等にご協力いただき感謝申し上げます。

（栃木 達夫 記）

## 婦 人 科

はじめに

平成6年度、ベッド10床、常勤医1名（田勢）でスタートした婦人科は、地域医療の定着による紹介患者の増加と累積患者の増加により、平成8年度には24床に増加していただいた。その間に地子久美子先生を迎え、2名による診療を行っている。診療の基本原則は、1）がんの告知を含めた病状の説明、2）治癒率の向上と機能温存の推進、3）がん根治療法→がん共存療法（緩和化学療法）→疼痛緩和療法などの病状に即した医療、としている。以下に、外来診療、病棟診療に分けて診療の現況について述べる。

外来診療

月、火、木曜日の週3日間診療をおこなっている。その内容は、1）新患の病巣の検索・術前検査、2）がん患者治療後の再発の検索、3）がん患者治療中の全身管理、4）子宮癌前癌病変の定期検診、5）子宮癌前癌病変・上皮内癌のレーザー治療、などである。

## 病棟診療

### 化学療法

子宮頸癌では、扁平上皮癌にはB I P療法、腺癌にはM E P療法を第一選択とし、子宮体癌では、C A P / P A I療法を、絨毛癌ではE M A C O療法をおこない、卵巣癌では、C A P / M E P / B E P療法などを組織型により選択している。絨毛癌や卵巣癌の一部を除いて、短期入院化学療法および回復期間の自宅療法を原則としている。

### 放射線療法

子宮頸癌のハイリスク患者やⅡ期以上で化学療法終了後の手術の適応のない患者については、放射線科に照射を依頼している。

### 手術療法

平成8年度の手術の内訳は、子宮癌51例、卵巣癌21例、子宮良性腫瘍15例、卵巣良性腫瘍15例で、計102例の手術を施行した。外科、泌尿器科、整形外科の諸先生には、多大なるご協力をいただいた。

### 終末医療

麻薬を主体にした疼痛管理などの終末医療は病棟診療にはかかせない。麻酔科の山室誠先生、佐藤智先生にご指導をいただきながらおこなっている。

### おわりに

当科での現体制におけるがん診療期間は浅く、3年生存率を出すまでにはいたっていない。今後、良い治療成績を報告出来るように努力したい。 (田勢 亨 記)

## 整形外科

整形外科の所属医師は当科開設以来2名で変化はない。

対象疾患は原発性悪性骨軟部腫瘍、転移性骨腫瘍、癌と鑑別すべき良性骨軟部腫瘍である。元来原発性悪性骨軟部腫瘍の発生頻度は他科領域の癌に比べてかなり低い。当科で扱った原発性悪性骨軟部腫瘍患者数は、当院開設以来年々順調に増加しているものの平成8年度は13名であった。一方、一般に癌患者の80%以上は骨転移を有しているといわれており、当科でも転移性骨腫瘍の患者数は極めて多く、整形外科的治療を要する骨転移患者も多い。

原発性悪性骨軟部腫瘍の場合、患者の生命予後に影響を与える重要な因子に局所根治性がある。当科では術前の画像診断から綿密な手術計画を立て、局所根治性の獲得とともに可及的に機能を温存した手術を行い良好な成績をあげている。過去3年間に手術を行った原発性悪性骨軟部腫瘍は30例であり、その内局所再発は2例のみである。局所再発2例の内、1例は他医で不十分摘出術後に紹介されてきた広範囲の腹壁悪性軟部腫瘍であり、もう一例は大動脈に接する胸壁の悪性骨腫瘍症例であり、いずれも解剖学的制約から切除縁評価がmarginal procedureとなった症例である。

悪性腫瘍の脊椎転移は骨破壊に伴う脊椎の構築学的不安定性と腫瘍の脊椎管内増殖による脊髄、神経根の

圧迫を引き起こし、その結果、臨床上重大な問題となる頸、胸、腰椎部や四肢の激痛、上肢・下肢麻痺、歩行障害や直腸膀胱障害が生じる。当科ではこれまで、進行期または、末期癌患者のQOLを高め、より密度の濃い余命を保証する目的で30例以上の患者に対して脊椎除圧固定手術を行ってきた。ほとんどの患者で神経学的改善がみられ、術前歩行不能から術後歩行可能になった患者も多く、平均すると一旦消失した神経機能の約70%を回復することができた。

転移性大腿骨腫瘍は頻度が高く、且つ患者のADLに重大な影響を与えるものとして、臨床上重要である。転移性大腿骨腫瘍患者に病的骨折がおこると、移動動作が不可能になるのみならず僅かな体動や体位変換でも激しい疼痛が起こりQOLが著しく低下する。治療は手術以外無効である。手術の目的が歩行移動能力の獲得、除痛、局所病巣のコントロールであることは言うまでもない。余命短い胆癌患者が治療対象である点が通常の骨折治療とはおおいに異なる。従って外科治療は腫瘍切除と罹患骨の支持性再建が1回の手術で確実に行われ術後早期より罹患骨が機能し、またその機能が生存期間を通じて維持されるものでなくてはならない。我々は主に骨外進展を有する患者に対して転移病巣切除後人工大腿骨置換術を選択し良好な成績をあげてきた。

また、他科との境界領域に発生する後腹膜腫瘍、胸壁腫瘍に対しても外科、呼吸器科等の協力を得て広範腫瘍切除と軟部組織再建術を行い良好な成績をあげている。

外来患者数は他院からの紹介患者が増えているため、増加の一途をたどっており、外来診療は本来の診療時間を大幅にオーバーしているのが現状である。

(村上 享 記)

# 研 究 所

## 免疫学部門

免疫学部門では以下の3研究主題を中心に研究を行っている。

### 1) 新養子免疫療法

従来の免疫療法は効果が今一つというところでした。一方化学療法、放射線療法は癌細胞を殺すが、分裂している正常細胞（特に骨髄細胞）も殺すため副作用が強い欠点があります。そこで我々は副作用がなく、QOLがいい状態のまま延命効果も期待できる2つの新養子免疫療法を考案しました。一つは新しいタイプのTリンパ球である $\gamma\delta$ T細胞を利用したBAK療法と活性化したNK細胞を利用したCAL療法で、パイロット研究に入っており、現在まで免疫治療開始後1年以上経過した進行癌2例の方が元気に通院しております。

### 2) BRMの抗腫瘍免疫増強機構解析

キノコやお茶などの抽出物のいわゆる生物製剤の免疫増強能を我々が考案したマウスの“二重移植腫瘍系”で解析している。BRMの局所投与によりマクロファージが活性化し原発巣のみならず遠隔転移巣まで縮小することを見出しているため、臨床応用可能なものを追求している。

### 3) 免疫Igによる受動免疫予防法の開発

胃潰瘍並びに胃癌発生に関与が疑われているヘリコバクター菌を妊娠牛に免疫することにより高抗体価を含む初乳並びに牛乳を得てその予防効果を東北大学農学部と共同研究中である。

研究スタッフ：現在、部長、技師、非常勤職員ひとりずつという職員構成のため、全国の研究所・大学から我々の考えに賛同してくれる共同研究員に手伝ってもらい研究を進めている。是非、正式研究員を増員してもらいたい。  
(海老名卓三郎 記)

## 病理学部門

研究所の病理部門は病院の病理検査部（病院病理）の役割も担っており、機構的には病理研究部門と病理検査部門の二つの名称が与えられています。

ヒト腫瘍の外科病理学を専門領域とすることから、病理検査部門としての日常の病理検査が内容的にも時間的にも日々の活動の中心となります。即ち、生検や手術摘出検体からの病理組織検査、及び体腔液、病変部からの擦過・吸引細胞診検査です。がんセンターとして発足して丸4年を経過して検体数は順調に増加し、年間5,000件規模となった組織検査数は約2倍に、細胞診検査も約1.4倍に増加し、病床（ベッド）数換算では宮城県内の病院のトップレベルに位置しています。そして数こそ少ないのですが病理解剖（剖検）も病理部

門ので大事な仕事であることに変わりはありません。

この様な日常の病理検査業務を病理医2名と技師5名で対応しています。病理の技師5名の全員が機構的には病院の臨床検査技術部に属する職員で、病理部門を担当するという形をとっています。

学会発表や論文等の研究面では貴重症例の報告等が現在中心となっていますが、免疫組織化学、電子顕微鏡を用いた検査を積極的に加味した日常の病理診断業務の中から、外科病理学的な疑問点、問題点を洗い出して研究面に繋げるべく心懸け、努力中です。

現在、1) 免疫組織化学、電顕検索から軟部腫瘍の分化能を検討し、中間悪性群の特徴的病態を明らかにする。2) 放射線及び化学療法の効果に関する組織学的判定規準の再検討に取り組んでいます(以上、立野)。

又、佐藤研究員は、科学研究計算、実験データのグラフ解析ソフトの開発を精力的に進めており、既に数冊の著書を著しています。

(立野 紘雄 記)

## 薬物療法部門

薬物療法学部のメンバーは、上席主任研究員の菊池寛昭、紅一点の技師・伊藤友美、それに部長の氏家重紀の3名です。我々の部門の特徴は研究所員としての癌薬物療法の基礎的研究と、病院の外来、入院患者の診療の両方を担当していることです。

研究活動から紹介しますと、菊池研究員は現在、アポトーシス細胞死の研究に没頭しています。細胞が死ぬ時にはDNAの切断が起こりますが、これにはメカニズムの異なった高分子レベルおよび低分子レベルでの切断があるらしいのです。しかしまだ確かなことは解っていません。そこで彼は、通常の電気泳動とパルスフィールド電気泳動の比較検討によってDNAの切断の様子を詳細に検討し、癌の薬物療法の観点から、効果的な細胞死への誘導報を研究中です。氏家は癌と微量金属代謝の関係を研究して来ましたが、現在はセレンによる癌の予防と治療の研究を伊藤技師の協力ですすめています。5,000余例の患者の血清セレン値の測定と非癌患者のその後の癌罹患率の追跡から、セレンの欠乏が癌のリスクを高め、またセレンの補給が癌を予防する可能性を示唆する結果を得ました。更にセレン化合物による新しい癌の治療についても検討中です。伊藤技師はこれらの研究を支える重要なメンバーとして、実験やコンピュータを駆使しての統計処理、その他事務的な仕事に至るまで大活躍をしています。そして、これらの研究成果は毎年日本癌学会、日本癌治療学会、その他種々の国際学会等に発表しています。

診療面では、消化器癌を中心とする進行再発癌の薬物療法を菊池と氏家で担当しています。現在、病院内科に固型癌の科学療法グループが無いため末期癌患者を我々が担当することになり、もう我々の処理能力の限界に来ています。そのため、研究の時間が中々確保出来ないのが最大の悩みです。病院内科のお手伝いとしてスタートした診療を今後も続けるか否かが現在の問題点です。

(氏家 重紀 記)

### 研究目的：

がん治療を困難なものとしている原因のひとつとして、がん転移という問題がある。正常細胞はがん細胞になると、細胞表層膜の糖質成分に異常が見られ、とりわけ、酸性糖であるシアル酸に量的・質的变化が起こる。そしてこのシアル酸変化はがん細胞の転移性と深く関連することが知られている。しかしながら、どのような機構で変化するのか、転移のどの過程に関与しているのかなど、その実体はほとんどわかっていない。われわれはがん転移抑制をめざして、このシアル酸量の調節を行っているシアリダーゼという酵素に着目し研究を進めている。まず、その性質や役割を明らかにする基礎研究を行い、そこで得られる知見をがん診療や治療に応用することが当面の研究の目標である。

### 研究内容：

上記目的の達成のためには、凡そ三つの研究過程がある。第一には、シアリダーゼという酵素それ自体の性質、構造、生理的役割をよく理解しなければならない。第二に、がん細胞のシアリダーゼが正常細胞のそれと比較したときなんらかの変化を受けているとすれば、その変化がいかなるものであるのかを詳細に検討する必要がある。第三に、見出された悪性変化を人工的に正常化し、がん転移抑制に至らしめる早期診断法や治療法を探る研究過程である。われわれは、このような観点からシアリダーゼ研究を行っているが、現在、第一および第二の過程を進めている。平成8年度に行った具体的な研究内容を以下に簡単に紹介したい。

シアリダーゼの生理的重要性については、旧くから指摘されてきた。しかしながら、この酵素は活性が低く極端に不安定であるため、研究の進展が容易ではなく、分子レベルの研究が遅れていた。このような世界の研究状況の中で、われわれは、ラット、マウス、ウシなどの組織を材料として、酵素の精製（純粋なものを取る）を進め、シアリダーゼはひとつではなく、性質や役割が異なる少なくとも4種類が存在することを明らかにしてきた。また、高い転移能をもつがん細胞では、ひとつのタイプのシアリダーゼ活性が非常に低下していることを見いだした。そして、4種のうちのひとつのタイプの遺伝子構造を3年前に世界で初めて明らかにした。最近、この遺伝子を転移能の高いがん細胞に移入したところ、著しい転移抑制が起こることがわかった。抑制の機構を詳細に検索している。一方、がん細胞が異常に増殖するときに変化する他のタイプのシアリダーゼについても、高度に精製する方法を昨年開発し、最近その遺伝子を取る（遺伝子クローニングという）に成功した。これまで実験動物レベルでの検索が多かったが、これらの結果を基盤にして今後は臨床各科と共同研究をさらに展開しつつ、本当に役に立つがん研究を目指していきたい。

### 研究スタッフ：

部長、研究員、非常勤職員ひとりずつという職員構成に、東北大学医学部からの大学院生を加えた状況で研究を行っている。使用している実験方法には長時間を費やすものが多く、専門的知識が必要であるので、正式研究員の増員が不可欠である。

(宮城 妙子 記)

## 疫学部門

疫学部門は平成7年12月に開設されたばかりで、平成8年度は研究体制の基礎作りに主眼を置いて活動しました。疫学研究では結果が出るまでに数年かかるというのが一般的ですが、最近はそのようなきなことを受けてはすまされない状況になりつつあります。

現在、疫学部門は研究員1名のみですが、院内各部門の協力を得て次の研究をおこないました。

- (1) 平成9年1月から、医療局、看護部と共同で当センターの入院患者を対象に質問紙による生活習慣調査を行っている。今後、この調査結果を各患者の病歴データとリンケージし、各種癌の発症要因、予後要因に関する臨床疫学研究をすすめる。
- (2) がん診療施設ネットワークプロジェクト（病歴データベース構築）に関する作業として、医療局の松田先生と共同でICD9からICD10への変換ファイルを作成した。
- (3) 企画情報室の院内がん登録運営をサポートし、国立がんセンターから要請のあった院内がん登録患者の生存率分析を行った。
- (4) 東北大学と共同で、乳癌及び良性乳腺疾患の危険因子に関する研究をすすめた。
- (5) 厚生省がん研究助成金「地域がん登録の精度向上と活用に関する研究」班の分担研究者として、
  1. がん罹患の地域差を規定する要因に関する研究
  2. がん登録者の死亡情報についてを分担研究として報告した。

(南 優子 記)

## 人文科学部門

1996年度を振り返ると、全国がんセンター協議会（全がん協）が、厚生省から長年に渡って予算を獲得している、がん研究助成金の班会議である「地域医療計画からみた地域がん診療施設の整備拡充に関する研究」の班員になったことが最も大きなことでした。2月下旬に浅川院長より話があり、6日以内に研究計画書を、班長である新潟県立がんセンターの臨床部長（当時；現副院長）の佐々木先生宛発送するよにとのことでした。あまりの大きなことに驚きつつ、何とか研究計画書を書き上げて班員となることが出来ました。

年に2回の班会議は、6月と11月でしたが、これがどちらも学会とぶつかりそうな日程でした。6月は日本プライマリ・ケア学会が15日（土）16日（日）と広島国際会議場であり、班会議は14日（金）東京でした。11月は日本癌治療学会が1日（金）2日（土）3日（日）と東京国際展示場・東京ファッションタウンであり、班会議は7日（木）福岡でした。浦井総長のお力添えのお陰で、癌治療学会では3割しか選ばれない口頭発表に選ばれましたが、発表の準備が間に合わず、1日目は欠席しました。随分と勉強になった癌治療学会でした。

班会議の予算のお陰でアルバイトを使用することが出来、本当に助かりました。外来患者に対して行っていたインフォームド・コンセント（IC：説明と同意）に関するアンケート（日本プライマリ・ケア学会お

よび日本サイコオンコロジー学会で発表)の入力作業、入院患者に対して行ったICとQOL(生活の質)に関する調査(日本癌治療学会で発表)のデータ打ち出しおよび入力作業を手伝って貰うことが出来ました。外来患者アンケートは、アンケート用紙が外来カルテに挟み込みになっているため、新患患者名簿により外来カルテを出庫してアンケート用紙を探し出し、コンピュータにデータ入力という大変手間のかかる作業です。しかし、外来患者のICへの希望が、臨床スタッフに届くためにはアンケート用紙をカルテに挟み込んだままにしておく必要があります。病歴室は、400名以上の外来患者が殺到した日にはパンク状態となり調査のためのカルテ出庫は出来ません。また、月末から10日までは保険点数請求事務のため調査をすることが出来ません。こういった、制限の中でのアルバイトの使用なので色々大変でしたが、3,533件の外来患者アンケートを完成することが出来ました。

(長井 吉清 記)

# 診療技術部

## 臨床検査技術部

〔構成員〕部長兼科長1名（技師），主任主査3名（技師），技術主査2名（技師），技師11名，助手1名の総勢18名体制で「質の高い検査を早く提供する」を目標に努力してきた。

〔購入機器〕搬送システム（TPS）＋生化学自動分析装置（TBA80FR）1式（更新），本格稼働の際には採血量の減量とスピーディーな報告が可能となるものと思われる。

〔検査業務〕(1)検査件数等統計資料は別記。(2)抹消血液像を自動血球計数器による5分画と血液像分類装置による方法に分けることにより大幅な能率アップにつながった。(3)査定の対象になっている抗体スクリーニング，血液凝固系検査のセット検査の見直しを行い効果を上げている。(4)診療放射線技術部との連携のもとに血液製剤の放射線照射を開始した。(5)無菌室の使用開始にともない無菌食の細菌検査も行っている。(6)Drによる緊急検査室の利用が減少し，勤務時間外での技師の呼び出しが大幅に増加した。

〔精度管理〕日常の精度管理はもとより日本臨床検査技師会精度管理，日本医師会精度管理，宮城県臨床検査技師会精度管理，メーカー主催精度管理などに積極的に参加し精度のチェックを行い高精度のデータを報告するよう努力をしている。

〔研究活動〕学会発表6題，邦文誌発表2題

〔その他〕ホームページを開設し院内外に情報の発信を行った。

Adrese

<http://www.mcc.pref.miyagi.jp/kensabu/kenstart.htm>

また，がん診療施設ネットワーク・システムを利用したTVカンファレンスに参加した。

（白井 克彦 記）

## 診療放射線技術部

平成8年度でがんセンターは4年目を迎えたが，診療放射線技術部の活動状況として，まず最初に，当技術部の機器導入から述べると平成7年度予算で2台目の放射線治療装置（リニアック）が導入され，平成8年4月から本格的に移動している。リニアックの導入により当初予定の機器がほぼ整備されてきたが，成人病センターから持ち込んだ装置（第2CT，X線TV，乳房撮影装置等）の使用年数がだいぶ経過してきて，現在の業務に支障が出始めている。

次に，人事の面では，4月に鈴木昌人，10月に板垣典子（旧姓濱尾）の2名が採用となり当技術部は14名体制へと移行した。その一方で，成人病センター開設以来，瀬峰病院，がんセンターと2病院の開設及び県

立病院の発展のためにご尽力を賜りました早川博文部長が平成9年3月をもってご退職されました。ご退職後は結核予防会宮城県支部の方へ勤務されるご予定であります。

さて、当技術部では、これまで学会発表及び論文発表に積極的に取り組むと同時にがんセンターの役割とも言える他施設（自治体病院、保健所等の診療放射線技師）からの研修受入れにも積極的に取り組んできた。発表の方は平成8年度の発表題数が少なかったため、今後は若い技師の奮闘を大いに期待したい。

診療業務については、画像検査件数、放射線治療件数が年々増加している。件数の一部を下表に示す。

	一般撮影		造影・特殊造影		CT撮影	
	件数	前年度比	件数	前年度比	件数	前年度比
平成5年度	14,063		562		2,603	
平成6年度	18,310	30.20%	817	41.37%	3,322	27.62%
平成7年度	19,017	3.86%	861	5.39%	3,952	18.96%
平成8年度	21,605	13.60%	1,434	66.60%	4,727	20.00%

	MRI撮影		リニアック		放射線治療計画	
	件数	前年度比	件数	前年度比	件数	前年度比
平成5年度	789		4,962		212	
平成6年度	1,326	68.06%	7,054	42.16%	470	121.70%
平成7年度	1,530	15.38%	6,861	-2.74%	835	77.66%
平成8年度	1,638	7.00%	10,334	50.60%	1,097	31.37%

最後となるが、当技術部では患者さん、術者にやさしい放射線部を目指して①施設環境とシステムの整備②機器の選定・改良③患者接遇④検査方法の検討——などこれまで総合的に取り組んできた。意識して取り組んできたので、僅かながら結果が出てきたが、まだ十分に満足できるものではない。今後も継続して実現可能なものから徐々に進めていかなければと思っている。（千葉 俊雄 記）

## ==== 看護部 =====

平成5年の開院時から4年の年月を経ているが、看護部の活動状況をまとめる機会がなかった。機会を与えて下さった年報編集委員の方々に、深く感謝します。

### 1. 看護部の理念と看護方式

看護部の看護理念は、がんセンター整備理念の第5項を基本姿勢としている。即ち「患者及び家族のクオリティ・オブ・ライフを尊重し、安全で快適な環境の中で、より良い療養生活を送れるよう継続性のあ

る看護をおこなう」である。

看護の役割は、患者がいかなる状況にあっても、その人の生命力を最大限に引き出し、その人らしく生きられるよう療養生活を整えることであり、医療チームの一員としての役割を果たすこと。また、常に新しい情報を得て、自己研さんに励みより豊かな人間性をはぐくみ、いたわりとやさしさがにじみ出るような、専門職として納得のできる看護を提供することを努力目標としている。

看護方式は、がんセンターに最も適切な方式にしたいと平成4年から検討を始めた。「患者中心の看護」「継続性のある看護」「看護の責任の所在を明確に」また、「看護者自身の生きがい」という点で今までのチーム・ナーシングには問題があった。看護の仕事は、人のプライバシーに触れることが多く、常に信頼関係を保持していること、更に診療方針を理解した上で、その人に必要なケアは何かを査定－看護計画の立案－実施－評価－修正－といった看護過程に責任を持てる看護方式を選ぶ必要があるとの結論に達し、プライマリ・ナーシング方式を導入することに決定した。

プライマリ・ナーシングとは、患者の入院から退院まで同じ看護婦が受け持ち、その患者の看護の責任と権限を持つものであり、患者・家族にとって、プライマリ・ナースは主治医と同じ意味があり重要な存在である。それだけに導入に当たっては十分な準備が必要であった。

看護部にプライマリ・ナーシング推進委員会を設け、看護職員と患者へのアンケート調査、勉強会、試行、問題点の検討等を繰り返し、平成6年10月22日（土）に看護職員全員に研修を行い、年度内に全病棟でプライマリナーシング方式を取り入れることができ現在に至っている。推進委員の活躍は勿論であるが、看護職員の一人一人の努力もあって患者・家族からよい評価を得ている。

## 2. 看護職員の動向

年度別看護職員の移動状況

区分 年度	採用			転入	転出	退職		備 考
	4月	5月	年度内			3月	年度内	
平成5年	27	17	15	4	5	1	4	* 4階東病棟は平成5年7月に看護婦の採用に合わせて開棟し、HCU病棟は11月から開棟した。 * 5月採用は新卒者。 * 平成8年度の4月は転勤等による異動者が多く（23%）6階病棟開棟を控え苦慮のスタートだった。
平成6年	11	7	0	5	5	4	2	
平成7年	5	17	0	11	11	3	1	
平成8年	2	12	7	11	17	4	2	
平成9年	4+4	(4/16付)	未	10	9	3	未	
合 計	49	57	22	41	47	19	9	

平成5年3月末日115名であったが、4月の開院当初は136名になり平成9年4月現在は210名になった。95名の増員であり、実に短期間の間に45%の伸びということになる、さらに、平成6年、7年、8年、9年と転勤による異動（88名）と結婚等による退職者（28名）があった。従って、開設準備からいる看護職員は全体の20%弱で80%の人が入れ替わったということになる。その内看護経験のない新卒者採用は57名で34%を占める。それに比例して看護職員の平均年齢の若返り現象があり、平成4年は36.5歳であったのが平成7年度には33.2歳となっている。

また、同時に産休・育児休暇の取得者も年々増加の傾向にあり、特に平成8年度は34名（17％）の取得者となっており、病休者を合わせると58名（4,070日）で全体の30％の者が休暇を取ったことになる。

#### 産休・育児休暇取得及び病休者の状況

区分 年度	産前・後休暇者	育児休暇者		病休者	合計
		6ヶ月～1ケ年	6ヶ月未満		
平成5年度	6（543）	0	3（252）	17（311）	26（1,106）
平成6年度	10（896）	2（482）	5（493）	15（437）	32（2,308）
平成7年度	10（906）	4（929）	6（508）	18（696）	32（3,039）
平成8年度	18（1,605）	3（686）	13（1,121）	24（658）	58（4,070）

### 3. 看護体制

#### 1) 基準看護について

平成5年4月30日（金）に旧病院から新病院へ、入院患者が移動し、3東、3西、4西、5東、5西病棟の5ヶ所が開棟した。基準看護は特2類（患者2.5人に看護婦1）で、日勤・準夜・深夜の3交代制をとり、夜勤は2-2体制の一人月8日以内で始まった。

同年7月に4階東病棟（内科、耳鼻科、婦人科の混合病棟）が開棟になり、11月にはHCU病棟を開いた。しかし、看護職員がそろわないままの開棟で、HCU加算はとれず、一般病棟と同じ基準看護としたが、夜勤は月8日以内には収まらず一人が9日～10日ということもあった。

平成6年10月基準看護の改正が有り、全病棟において新看護体系2.5：1、10：1を（患者2.5人に対し看護婦1人と患者10人に対し看護補助者1）導入した。また、同時期に適時適温給食の検討がなされ、夕食を6時配膳に変更しなければならず、準夜勤の業務との関連で難航を極めた。現在もこのことはまだ尾を引いている。

#### 2) 勤務体制について（変則3交代、変則2交代の試行）

平成7年の6月から6階病棟（44床）の開棟に合わせ、看護職員にとって働きやすい看護体制を検証する為に9月迄の3ヶ月間、変則3交代を試行した。1月～2月には3東、3西、5東病棟でも試行したが、3交代より疲労が残るとの意見が大半で不評に終わった。

看護婦の業務は24時間を通して行われるものであり、病棟看護婦であれば交代勤務は避けられないものである。だとすれば、どのような勤務体制が一番働きやすく、効果的な看護ができるのか看護婦自身で検討することが必要であろうと、変則2交代勤務の検討を行った。

平成8年10月3日から平成9年3月22日まで（約5ヶ月間）、6階病棟で試行した途中何度も問題点を話し合い、改善しながら試行したので、変則3交代よりは働きやすいとの大半の声であったが、配置人員の不足もあり続行には至っていない。

#### 3) 夜勤体制について

24時間を通して高度複雑な医療が行われるようになり、夜間の業務量が多く2人では対応しきれない事情を1年間の調査（MNSによるチェックリストを用いて）で明確になった。特に準夜勤においては

日中からの治療・検査・手術等の引き続きで、処置・観察とタイムリーな動きを要求され、患者の安全確保の上からも準夜勤を3人体制にする必要があった。病棟の配置人員・夜勤可能人員等を思考錯誤し平成9年1月から準夜勤3人、深夜勤2人で夜勤看護加算1-bを申請し現在に至っている。

年次別一日平均患者数と看護体制等

区分 年度	一日平均 入院患者数	病棟配置 看護者数	看護体制 (基準看護)	夜勤体制 準夜：深夜	夜勤 平均数
平成5年度	213.6	134.3	特2類, 2.5:1	2:2 夜間看護Ⅱ	6.3
平成6年度	267.6	138.7	特2類, 2.5:1	2:2 夜間看護Ⅱ	7.0
平成7年度	300.0	159.5	新看護2.5:1, 10:1	2:2 夜間看護Ⅰ-c	7.1
平成8年度	312.0	162.3	新看護2.5:1, 10:1	2:2 夜間看護Ⅰ-b	7.9

#### 4. 委員会活動

##### 1) 教育委員会

新病院開設当初は、職員の継続的な採用で院内教育を計画的に進めることが出来なかった。集合研修は、新採用者・転入者に対しオリエンテーションを実施し、現任教育は各看護単位に任せていた。しかし、看護基礎教育の基本理念・カリキュラム等の変更(平成2年4月1日)があり、新卒者を受け入れる現場では集合教育と分散教育を計画的・継続的に実施する必要性を強く感じた。

平成5年12月に院内教育委員会を発足した。委員長は教育担当の副総看護婦長(発足当時は主任看護婦長の名称であった)があたり、婦長・主任看護婦・スタッフ看護婦で構成し、年間の教育計画に従って実施している。院内教育の目的は、看護教育に対する教育活動を通して看護部の理念を具体化し、患者・家族のQOLの維持・向上をめざした質の高い看護サービスを提供できるプライマリ・ナースを育成することである。また、看護職員個々のキャリアに基づきキャリア形成を支援するものであると位置づけている。

##### 1 臨床基礎コース

- ①臨床1年目研修：アソシエイト・ナースとしての役割を理解し実践できる
- ②臨床2年目研修：プライマリ・ナースとしての役割を理解し実践できる
- ③臨床3年目研修：プライマリ・ナースとして自立しリーダ・シップがとれる

##### 2 役割別コース

- ①プリセプター研修：プリセプターとしての役割を理解し実践できる
- ②准看護婦研修：看護観を深め、受け持ち患者の看護ができる
- ③臨床実習指導者研修：看護学校の教育方針を理解し指導者として学生指導ができる
- ④主任看護婦研修：主任看護婦の役割を発揮できる
- ⑤看護婦長研修：中間監督者としての役割が発揮できる

##### 3 全体研修：看護記録を充実する(現記録の問題を明らかにし、がんセンターの看護記録はどうあるべきかを記録委員会と共に検討中)

##### 4 看護研究発表会：①看護理論を発展させ、患者に安全で安楽な看護を提供する

## ②研究的態度を養う

臨床基礎コース終了者は、看護協会・各種研究会等主催の研修に積極的に参加し、専門的知識・技術を錬磨している。看護研究は各看護単位毎に1題以上割り当て、発表会を設けている。内容が好評であったもの・広く看護婦にアピールできるもの等を教育委員が選び、看護学会等外部に発表している。

### 2) 看護業務検討委員会

平成5年12月に業務検討委員会を設置した委員長は業務担当の副総看護婦長（発足当時は主任婦長の名称であった）があたり、各看護単位から婦長又は主任から1名スタッフ1名を選出し月1回の割りで会議を開いている。

目的は、看護の専門性を生かした質の高い看護を行う為に業務の整理・調査・改善・効率化等を行う事である。即ち如何にしてベッドサイド・ケアの時間をふやし看護部の理念である患者・家族のQOLの保持・向上に貢献するかを常に念頭におき活動している。

年次別活動内容

年度	会議回数	検討・改善・内容
平成5年度	4	看護業務範囲と責任について 基準寝具の消毒依頼時の手順を作成 おしぼり、清拭タオルの作り方について
平成6年度	10	患者の消灯時間・安静時間・検温時間について 感染症カルテの表示について検討。退院時サマリーの検討。 適時・適温給食実施に向けて業務の見直し・検討
平成7年度	8	申し送り時間の短縮について（朝の申し送り廃止） MNSチェックリスト試行。体温計の消毒について。 勤務体制の検討（変則3交代）。IVH・三方活栓の消毒法
平成8年度	7	看護紹介状について（内容・様式等） 針刺し事故防止対策（朝の採血時間の調整等） 患者の病棟転棟時間とカンファランスの時間の調整

### 3) 看護記録委員会

看護記録をPOS方式で記録するようになって15、6年になるが未だに定着できず、「記録に時間かかる」「形式のみで内容は経時記録になっている」「実践したことが書けない」「アセスメントが出来ない」等の問題と併せて、看護記録が実際の裁判事例で看護婦の業務と実施したことの証拠書類として問題視されていることなどから、看護部全員が参加する型で平成8年7月25日記録委員会を設置した。

委員会は月1回程度開催するが、委員会で出された問題・調査等はそれぞれの委員が各看護単位でさらに検討をし、次の会に望むようにしている。平成8年度は現状把握に力をいれ、記録の分析・問題点の洗い出しを行った。

看護記録は、看護を実施したことを証明するものであり、ケアに活用されるものでありたい。どのような患者か、看護問題は何か、どのような計画で看護を実施したか、患者の反応・結果はどうか、問題は解決されたか、継続するのは何か、等について記録されていること、更に読み易く理解し易く、しかも、短時間で記録できる。そんな看護記録にしたいと頑張っている。

## 5. 看護学生の臨床実習指導

年度別看護学生の実習数と指導者数

区分 年度	学校別実習生の延べ数							合計 延べ人数	臨床指導者 延べ人数
	宮高看		名取准看		総合衛生学院				
	一年	二年	一年	二年	一年	二年	三年		
平成5年度	200	1,620	240	240	/	/	/	2,300	386
平成6年度	300	1,170	240	288	372	120	/	2,490	478
平成7年度	240	1,032	288	296	124	140	603	2,733	522
平成8年度	200	930	256	304	164	361	711	2,906	551

看護基礎教育の中で臨床実習は、学生が学内で学んだ知識・技術を統合して看護実践能力を習得するための重要な位置づけにある。臨床指導者は各学校の教育目的・目標・実習要項を十分理解し、学生個々に合わせた指導を行わなければならない。定例会議を毎月1回開催し、学生の問題・指導方法・（患者の安全を含め）・学校との打合せ等を行っている。

## 6. 今後の課題

宮城県におけるホスピス・ケアの基本的な考え方が平成8年1月に出され、6月から緩和ケア病棟設置に向けて検討がなされた。がんセンターの看護婦としてもホスピス・ケアは避けては通れない道であり、現にがん末期で死を目前にしている人とのかかわりも多い。日々の看護の中で、如何にして患者・家族のクオリティ・オブ・ライフを尊重し、生を支えられるか苦悩してる現状を踏まえ、看護周辺環境整備を行う必要がある。

- 1) 看護職員を充足し、2：1看護、3人夜勤を実施。
- 2) ホスピス・ケア及び在宅ホスピス・ケアの研修とシステムの検討

在宅ホスピス・ケアの要請は、緩和ケア病棟の要求と共に今後高まる傾向にあると思われる。在宅ホスピスケア調査委員会設置を機に、看護部としても真剣に取り組んでいきたい。 (高橋美佐子 記)

## 薬 剤 部

はじめに人事異動を含めた特記事項の紹介をします。平成8年4月1日の人事異動で小坂卓哉さんが石巻保健所環境衛生係長に栄転しました。薬剤業務は勿論のこと親睦会、日本酒会などのまとめ役として大活躍でした。後任として気仙沼保健所から菊地浩さんが着任し、調剤室在庫管理担当、院内感染防止・医療廃棄物委員会の委員として資料等の作製、そして親睦会幹事として活躍中です。6月に第1子が誕生しました。5月1日付けで佐藤華菜子さんが薬剤部員の仲間入りをしました。大学出たての新人ですがすぐ部内にとけ

込み積極的に業務に取り組んでおり今後の活躍が大いに期待されます。梶原由紀子さんは2年目で注射室の製剤を担当。学生時代からのバスクラリネット演奏は実力派で、仙台吹奏楽団員として活躍中です。鈴木ちえみさんは10月に10日間中国漢方研修に派遣され大いに見聞を広めてきました。斉藤恵美さんは平成9年3月に第1子が誕生し引き続き平成10年3月まで育児休暇に入っています。5月に荘司薬剤部長は永年の功績により宮城県病院勤務薬剤師会から表彰されております。高村さん、鈴木幹子さんは薬剤部の中核として元気で活躍されました。8月1日から半年間、海外技術研修員ザンビア国のオズボーン カムワレさんを迎えました。研修テーマであるコンピューター在庫管理システムの修得は勿論のこと、大いに国際交流に寄与され3月無事帰国しました。総務局はじめ関係部所の皆様に感謝いたします。

次に薬剤部の業務の概要を紹介します。薬剤部の業務は単に薬を払い出すだけではありません。薬品の発注、納品管理、在庫管理（臨床試験薬も含む）、製剤の調整、更に情報の提供等多岐に渡っています。この数年の傾向としては、調剤数が増加してきていること、麻薬使用量が激増していることが挙げられ、その対応には苦慮しております。今年度は社会保険診療報酬改定、そして薬剤師法の改正により、薬剤師の職能変化に伴う資質の向上が求められるようになりました。具体的には薬剤管理指導業務、薬剤情報提供など薬剤師に係わる新たな業務に報酬加算が認められることになり、更に薬剤師は調剤された薬品について情報を提供することが義務づけられたことです。薬剤管理指導業務は、院外処方箋発行率が7%台で低迷しており、告知のコンセンサスの問題もあるので着手できる状態には有りません。薬剤情報提供についてはオーダーリングシステムを利用した方法を検討中です。更に経営改善の一環としてオーダーリングシステムを利用した薬剤容器料徴収システムにより9年4月からの実施をめざしています。また、無菌病棟の開設や在宅ホスピスケア構想にどの様に参画して行けるのか部内で検討中です。理想と部員不足という現実の狭間で苦悩しているのが薬剤部の現状と言ったところです。

(石川 潔 記)

# 総務局

## 総務局

当がんセンターは、病院・総務局・研究所の三本の柱から構成されています。

病院は、11科の診療科で48名の医師、研究所は6部門11名でそれぞれ診療、研究を行っています。

柱の一つの「総務局」ですが、局長以下20名で、総務室・医事室・企画情報室の三室からなっており、各所掌事務については以下のとおりです。

最初に「総務室」ですが、総務係、経理係の2係からなっています。

総務係の主な所掌事務は、①人事・予算・給与・福利厚生・庁舎管理・院内保育・院内外の連絡調整等となっています。

経理係の所掌事務は、①予算・経理、②物品の発注、③委託業務関連等、④各種伝票の作成等となっています。

「医事室」ですが、医事係、栄養指導係の2係からなり、医事係は、①診療記録の保管・統計、②患者の入退院、③診療費等の徴収となっています。

栄養指導係は、①入院患者の栄養指導及び給食となっています。

次に、企画情報室ですが、①センター運営の総合調整、②電子計算組織の管理運営、③図書室の運営管理、④各種統計・調査等となっています。

以上が「総務局」の所掌事務の概要ですが、年々新たな需要に限られた人員での対応しかできずにいる現状にあるので、組織の改編も視野にいたした検討が必要と思われます。

(伊東 教夫 記)

# 職 員 名 簿



# 職 員 名 簿

平成9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）	板 宮 功
総務局長	門 澤 勝 三	室長補佐	古 川 光 男
総務局次長	板 宮 功	兼企画情報係長	庄 司 糸 子
【総務室】		主 査	菅 野 秀 和 子
総務室長	伊 東 教 夫	主 事	長 谷 川 洋 子
室長補佐兼総務係長	高 橋 幹 夫		
主任主査	高 橋 キヨ子	【病 院】	
主 事	高 野 由 紀	院 長	浅 川 洋
”	榊 原 潤		
技 師（主任）	高 橋 正 志	【医 療 局】	
技 師（庁務）	今 野 正 男	副 院 長	中 野 昇 明 堯 一 夫 誠 昭 裕 兒 茂 裕 健 一 樹 夫 智 亨 恒 正 義
室長補佐兼経理係長	松 川 安 夫	医 療 局 長	桑 原 正
主 事	菊 地 正 志	医 療 部 長	松 田 浩
”	中 森 浩 一	”	小 田 和 浩 信
【医 事 室】		”	富 澤 室 清 昭 裕 兒 茂 裕 健 一 樹 夫 智 亨 恒 正 義
医 事 室 長	吉 田 紀 雄	”	山 大 内 清 昭 裕 兒 茂 裕 健 一 樹 夫 智 亨 恒 正 義
室長補佐兼医事係長	山 田 静 貴	主 任 医 長	鈴 木 池 加 保 兒 茂 裕 健 一 樹 夫 智 亨 恒 正 義
主 事	星 由 貴 子	”	小 西 條 貞 茂 裕 健 一 樹 夫 智 亨 恒 正 義
非常勤嘱託	引 地 て る 子	”	小 犬 丸 貞 茂 裕 健 一 樹 夫 智 亨 恒 正 義
技 術 主 幹 ・	遊 佐 ひ で よ	”	岡 部 隆 俊 達 夫 智 亨 恒 正 義
栄養指導係長		”	片 倉 隆 俊 達 夫 智 亨 恒 正 義
技 師	高 梨 明 子	”	大 方 俊 達 夫 智 亨 恒 正 義
技 師（主任）	引 地 清 次	”	栃 木 藤 達 夫 智 亨 恒 正 義
		”	佐 藤 勢 本 島 正 義
		”	田 松 本 島 正 義
		”	松 本 島 正 義
		”	小 野 寺 博 義

職名	氏名	職名	氏名
主任医長	村上 享	技術主査	大沼 眞喜子
"	菅原 暢	"	大近 野 寿美枝
"	桑島 一郎	技 師	加藤 藤 浩 之
"	小野 日出 磨	"	曾根 美 千代
"	神山 泰彦	"	石川 和 浩
"	志賀 清人	"	馬場 みどり
"	藤谷 恒明	"	猪飼 豊 子
"	杉山 公利	"	阿部 美 和
"	鶴飼 克明	"	植木 美 幸
"	菱沼 民生	"	岡本 優 子
"	角川 陽一郎	"	野池 道 子
"	萱場 佳郎	"	富田 樫 子
医 長	星 章彦	"	田村 広 子
"	佐々木 明德	技 師 (試)	山 田 千代子
"	地子 久美子		
"	奥田 光 崇	【診療放射線技術部】	
"	高橋 功	診療放射線技術部長	早川 博文
"	高鈴 洋一	診療放射線科長	千葉 俊 雄
"	田子 悟史	技 術 主 査	荒 ぶみ子
"	三国 潤一	"	本 悦 雄
"	鈴木 雅貴	"	今 千 香子
技 師	横山 純吉	技 師	渡 辺 信 二
"	植田 信策	"	渡 辺 ヒサ子
"	遠藤 公人	"	金 辺 美 和子
"	徳山 聡之	"	小 菅 山 尚 洋
"	山 齋 美 之 香	"	菅 野 尚 明
"	齋谷 和 代	"	小 野 垣 敦
"		"	板 垣 典 子
"		"	熊 谷 祐 子
"		"	鈴 木 昌 人
【臨床検査技術部】			
臨床検査技術部長 兼臨床検査科長	白井 克彦	【薬剂部】	
主任主査	小室 邦子	薬剂部長	荘司 良子
"	佐藤 裕美子	技術主幹兼科長	石川 潔子
"	岡崎 妙子	技 術 主 査	鈴 木 幹 子

職名	氏名	職名	氏名
技術主査	菊地 浩	技師	高橋 節子
〃	高村 千津子		
技師	高斎 藤恵美	手術室	
〃	鈴木 ちえみ	看護婦長	高橋 勝子
〃	梶原 由紀子	技術主査	河東田 ヤス子
〃	佐藤 華菜子	〃	小山田 美千代
【看護部】		技師	大山 楓玲子
総看護婦長	高橋 美佐子	〃	高山 楓尚子
副総看護婦長	富田 きよ子	〃	大下 島加代子
〃	佐久間 文子	〃	日木 齋尚美
		〃	及川 真紀
外来 1		〃	赤間 由佳
看護婦長	桜井 能里子	〃	片岡 こ直
技術主査	相澤 ミヨ子	〃	大沼 直樹
〃	布田 基子		
〃	森下 榮子	3階東病棟	
技師	白鳥 由美子	看護婦長	芦名 容子
〃	田中 圭子	技術主査	沼邊 百合子
〃	大友 美佐子	〃	石川 和枝
〃	岩倉 成美	技師	石原 由香里
〃	熊谷 有希恵	〃	千原 葉子
〃	千葉 るりこ	〃	佐々木 頼子
〃	菅原 美樹子	〃	成田 枝利子
〃	菱沼 和子	〃	丸山 知政子
外来 2		〃	板橋 藤三恵
看護婦長	鈴木 ミツ子	〃	齋藤 水くみ
技術主査	早坂 教子	〃	清間 文香
〃	鈴木 やす子	〃	平浦 香みゆ
〃	玉井 喜代子	〃	三崎 橋き
技師	二階堂 せい子	〃	岩高 温子
〃	荒木 ひろえ	〃	大江 規子
〃	菅野 小百合	〃	江刺 理子
〃	菅原 佳美	〃	



職名	氏名	職名	氏名
技師	柴又 澄恵	技師	森 亮子
〃	今野 たけ子	〃	我妻 美佳
〃	高子 よし子	〃	氏家 由希子
5階東病棟		〃	清野 香織
看護婦長	菊池 かづ子	〃	山家 喜久子
技術主査	船迫 好子	〃	渡邊 峰子
〃	石川 和子	〃	安倍 志保子
技師	佐藤 由美子	〃	高橋 清子
〃	渋谷 幸江	〃	佐竹 直子
〃	渋鈴 木かよ	〃	菅原 早苗
〃	根本 ゆかり	〃	菅久保 由起子
〃	菊地 宏子	〃	大浦 忍子
〃	横山 和子	〃	大佐 藤多津子
〃	亀井 理歩	〃	伊藤 孝子
〃	佐々木 佳代子	6階病棟	
〃	榊田 香代子	看護婦長	兼平 礼子
〃	門脇 由香美	技術主査	高橋 玲子
〃	古内 久美子	〃	門間 京子
〃	相澤 幸子	〃	伊藤 睦子
〃	浅野 洋子	〃	阿部 泰子
〃	佐藤 寛子	技師	秋村 順子
〃	高橋 和子	〃	松本 智代子
〃	岡崎 節子	〃	大場 美代子
技師(看)	菊地 まさ子	〃	佐藤 仁美子
5階西病棟		〃	塙 ゆかり子
看護婦長	曾我 ふく子	〃	柴田 修美子
技術主査	三浦 哲子	〃	讚井 久淳子
〃	三井 上なみ江	〃	津鈴 有里子
技師	鈴木 晴美	〃	菅原 浩江子
〃	及川 恵子	〃	菅庄 司子
〃	伊藤 栄子	〃	佐藤 芳則美
〃	阿部 光恵子	〃	山田 芳美
〃	平山 淳子	〃	遠藤 美雪

職名	氏名	職名	氏名
技師	小泉浩美	研究所	
"	大澤薫	研究所長(兼)	涌井昭
"	佐藤由佳		
"	貝吹京子	【免疫学部】	
"	奥山淳子	部長	海老名卓三郎
"	安齋光代	技師	小鎌直子
H C U		【病理学部】	
看護婦長	庄司咲子	部長	立野紘雄
技術主査	鈴木久美子	上席主任研究員	佐藤郁郎
技師	大槻正弘		
"	関野七枝	【薬物療法学部】	
"	浅野かおり	部長	氏家重紀
"	加藤ひろみ	上席主任研究員	菊池寛昭
"	高子利美	技師	伊藤友美
"	相原智子		
"	小山佳奈子	【生化学部】	
"	武者佳名子	部長	宮城妙子
"	星美穂	研究員	和田正
"	熊谷直美		
"	菊地義弘	【疫学部】	
"	猪股恵美子	研究員	南優子
"	今野英子		
"	島田めぐみ	【人文科学】	
"	折居陽子	上席主任研究員	長井吉清

転 退				職 者			
	職 名	氏 名	異動年月日		職 名	氏 名	異動年月日
退 職 者	局 長	門 澤 勝 三	9. 3. 31	転 出 者	総務室長	松 木 親 夫	8. 4. 1
	次 長	板 宮 功	〃		主任看護婦長	足 沢 孝 子	〃
	放射線技術部長	早 川 博 文	〃		総務室長 <small>兼</small> 補係長	佐々木 隆 雄	〃
	主任医長	岡 部 健	〃		医事室長 <small>兼</small> 補係長	菅 井 宏	〃
	医 長	星 章 彦	〃		主 査	坂 本 節 子	〃
	〃	地 子 久美子	〃		主 事	佐 藤 圭 子	〃
	〃	遠 藤 公 人	〃		技 術 主 査	長 谷 とみよ	〃
	技 師	植 田 信 策	〃		〃	小 坂 卓 哉	〃
	〃	徳 山 聡	〃		〃	高 橋 幸 子	〃
	主任主査	高 橋 キヨ子	〃		〃	星 和佳子	〃
	技 師	猪 飼 豊 子	〃		技 師	阿 部 京 子	〃
	〃	熊 谷 有希恵	〃		〃	森 暁 美	〃
	〃	大 久 加代子	〃		〃	鈴 木 由美子	〃
	〃	佐 藤 由 佳	〃		〃	齋 藤 たか子	〃
			〃	星 真紀子	〃		
			〃	和 田 美 穂	〃		
			〃	南 條 あけみ	〃		
			〃	佐 藤 真由美	〃		
			〃	伊 藤 浩 子	〃		
			〃	本 名 小穂里	〃		
			〃	高 橋 さとみ	〃		
			〃	小 寺 美由紀	〃		
			〃	原 田 一 美	〃		
			〃	佐 藤 よし子	〃		

# がんセンター編集委員会

## 編集後記

平成8年度宮城県立がんセンター年報・第4号をお届けします。今年度から各部・科の活動状況を各部・科長の方々に自由に書いていただく『部・科だより』を設け読みやすい年報になるよう心がけました。その他の編集方針は前年度までのものを踏襲させていただきました。すなわち本委員会の目的が「がんセンターとしての機能を十分に果たすために情報伝達に係わる計画・実施を行う」となっており、この目的に沿って本年報を発行いたしました。特に研究所においてはその業績を公表するところは、この年報の研究編しかなく本年度の研究業績を学会発表と論文発表に分けて掲載いたしました。本年度も研究所から多くの学会発表と論文発表があり、活発な研究活動が見られ嬉しく思います。これは研究所として文部省に科学研究費の申請資格施設として認定してもらうため、是非必要なことであり今後も益々研究活動を活発に進め、最終的には癌制圧を目指し、県民の福祉向上に務めたいと考えております。最後になりましたが、本年度も本年報の発行に協力をいただきました各部局の多くの方々に厚く御礼を申し上げ編集後記といたします。（海老名）

## 平成8年度年報 第4号 編集委員

海老名 卓三郎（研 究 所）・委員長  
大 内 清 昭（医 療 局）・副委員長  
小野寺 博 義（医 療 局）  
及 川 敏 彦（臨床検査技術部）  
千 葉 俊 雄（診療放射線技術部）  
石 川 潔（薬 剤 部）  
佐久間 文 子（婦 長 室）  
高 梨 明 子（栄 養 指 導 室）  
五十嵐 源 治（医 事 室）  
高 橋 貫（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 4 号

平成9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編集委員会

印刷所 田端印刷株式会社

