

E. 結論

無症状な末梢型肝内結石に対しては必ずしも侵襲的な検査での診断・治療の必要性はなく、腹部超音波など低侵襲な検査での定期的な経過観察が可能であると思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

予定なし

2. 実用新案登録

予定なし

3. その他

特になし

肝内結石症における胆道癌合併症例の検討

研究協力者 千々岩一男

宮崎大学医学部 腫瘍機能制御外科学 教授

研究要旨

【研究目的】 肝内結石症は診断時や経過中に胆道癌を合併する頻度が高い難治性疾患である。肝内結石をともなう肝内胆管癌は結石による胆管や肝実質の炎症性変化の修飾もあり、術前の存在診断や進展度診断が困難である。術前診断率の低さは治療成績の不良につながっている。

【研究方法】 1979年1月から2006年12月までの間の肝内結石症例103例について解析した。とくに胆道癌合併症例の病態と予後を検討した。今回、肝内結石をともなわない肝内胆管癌症例35例も比較検討対象とした。

【結果】 肝内結石症103例のうち、男性は46例で女性57例であった。初回治療時の平均年齢は男性が55.2才、女性が56.0才で違いを認めなかった。病型はI型が43例(41.7%)、IE型が60例(58.3%)で、結石部位はL型が47例、R型19例、両葉型36例、不明1例であった。結石の種類は判明した75例中、ビリルビンカルシウム系石が61例(81.3%)、コレステロール系石が11例(14.7%)、黒色石が3例(4.0%)であった。

胆道癌の合併は計17例(16.5%)で、肝内胆管癌が10例、肝門部胆管癌が5例、胆嚢癌が2例で、その多くが進行癌であった。根治切除例は肝内胆管癌の3例と肝門部胆管癌の1例で4例のみであった。病型は肝内胆管癌合併例と非合併例を比較して違いを認めなかった。肝内胆管癌合併10例のうち肝萎縮を5例に認め、また全例が結石葉に癌を合併していた。切除例は3例のみであったが、いずれもリンパ節転移をともなうstage IVb症例であった。

胆道癌を合併した肝内結石症17例と胆道癌を合併しない肝内結石症86例で結石の種類を比較するとコレステロール系石の割合はそれぞれ22.2%と13.6%で有意な違いを認めなかった。

肝内結石合併肝内胆管癌と肝内結石非合併肝内胆管癌で比較すると、肝内結石合併群は有症状率は有意に高いが、初診時の診断率は有意に低くまた切除率も有意に低かった。肝内結石合併群は非合併群に比べて有意に予後不良であった。また肝内結石合併群では切除例と非切除例で比較しても予後に差を認めずきわめて予後不良であった。

【考察】 肝内結石症は胆道癌、とくに肝内胆管癌を合併する危険性が高い。肝内コレステロール結石であっても肝内胆管癌の合併に注意すべきである。とくに無症状で経過観察する症例あるいはPTCSLやESWLなどで結石を除去した後、経過観察する症例については、結石の再発のみならず肝内胆管癌の合併も考慮して経過観察していくべきである。肝内結石合併胆道癌は進行例が多く予後不良で、また経過観察中に癌が発症する症例もあり、早期診断と長期間の定期的な経過観察の必要性が示唆された。

A. 研究目的

肝内結石症は病因や病態が複雑で治療に難渋する例や結石再発症例も多い難治性疾患である。また診断時や経過中に比較的高率に胆道癌を合併し、とくに肝内胆管癌の危険因子の1つとなっている。肝内結石症

の成因として、慢性的な胆汁鬱滞や胆道感染、血行障害や肝内のコレステロールおよび胆汁酸の代謝異常の関与などが指摘されている。これらが複合的に組み合わされて結石生成に寄与していると考えられるが、まだその成因や病態の解明は不十分である。

肝内結石症の予後を規定する上で胆道癌の合併

が問題となる。生労働省肝内結石症調査に関する調査研究班による調査では癌合併率は1998年調査で2.5%であった。肝内結石をともなう肝内胆管癌は結石による胆管や肝実質の炎症性変化の修飾もあり、術前の存在診断や進展度診断が困難である。術前診断率の低さは治療成績の不良につながっている。肝内結石症の長期予後において結石の再発と癌合併に留意して経過観察していく必要がある。今回、とくに肝内結石症における胆道癌合併症例についてその病態と予後を検討した。

B. 研究方法

1979年1月から2006年12月までの間の肝内結石症例103例について、病型や結石部位、結石組成、胆道癌の合併について検討した。とくに胆道癌を合併した症例についてはその病態と予後について検討した。肝内結石をともなわない肝内胆管癌症例35例も比較検討対象とした。結石の種類は断面と赤外分光分析で検討した。

C. 研究結果

当教室における肝内結石症新規症例数は1980年代の前半をピークに、それ以降明らかに減少して現在までその傾向は推移している。現在では年間の新規症例数は2-3例程度である。症例数の減少はIE型、両葉型など複雑型の症例数の減少に起因する部分が多い(図1)。

肝内結石症103例の内訳を示す(表1)。103例のうち男性は46例で女性は57例であった。初回治療時の平均年齢は男性が55.2才、女性が56.0才で違いを認めなかった。病型はI型が43例(41.7%)、IE型が60例(58.3%)で、結石部位はL型が47例、R型19例、両葉型36例、不明1例であった。結石の種類は判明した75例中、ビ系石が61例(81.3%)、コ系石が11例(14.7%)、黒色石が3例(4.0%)であった。

胆道癌の合併は計17例(16.5%)で、肝内胆管癌が10例、肝門部胆管癌が5例、胆嚢癌が2例であった。そのほとんどが進行癌で、根治切除例は4例のみであった。肝内胆管癌と肝門部胆管癌を合併した症例15例

について示す(表2)。切除症例は肝内胆管癌の3例、肝門部胆管癌の1例のみであった。肝内胆管癌10例のうち肝萎縮を5例に認めた。また10例全例が結石葉に癌を合併していた。肝内胆管癌のうち切除例の3例は、いずれもリンパ節転移をともなうstage IVb症例であった。最長生存例が19か月で多くは1年以内の死亡であった。肝内胆管癌のうち肝内結石症の初診時に癌を合併していた症例は7例、経過中に癌を合併した症例は3例であった。初回治療後、結石遺残で経過観察中12年後に発症した症例、治療拒否で経過観察中14年後に発症した症例、結石再発で経過観察中23年後に発症した症例の3例であった。

肝内結石症のうち肝内胆管癌合併群と非合併群で比較すると病型に違いを認めなかったが、結石部位では肝内胆管癌合併群で両葉型が少ない傾向がみられた(表3)。

胆道癌を合併した肝内結石症17例と胆道癌を合併しない肝内結石症86例で結石の種類を比較すると(表4)、コ系石の割合はそれぞれ22.2%と13.6%で有意な違いを認めなかった。またビ系石の11.5%、コ系石の18.2%に胆道癌の合併を認めており両者に違いを認めなかった。

肝内結石合併肝内胆管癌と肝内結石非合併肝内胆管癌で比較すると(表5)、男女比や平均年齢に違いを認めなかった。肝内結石合併群は有症状率が有意に高く、とくに発熱の出現頻度が有意に高かった。また胆道手術の既往歴が肝内結石合併群では10例中8例(80%)であったのに対して、肝内結石非合併群では1例も認めず、肝内結石合併群の胆道手術既往歴の頻度が有意に高かった。肝内結石合併群では初診時の診断率が有意に低く、また切除率も有意に低かった。

切除例と非切除例を含めて肝内結石を合併した肝内胆管癌は、肝内結石を合併しない肝内胆管癌と比較すると有意に予後不良であった(図2)。また肝内結石合併例と非合併例を合わせた肝内胆管癌全体で切除例と非切除例を比較すると非切除例は有意に予後不良であった(図3)。肝内結石合併群の切除例と非切除例、肝内結石非合併群の切除例と非切除例の4群で比較すると肝内結石合併肝内胆管癌は切除例でも肝内結石合併の非切除例あるいは肝内結石非合併の非切除例と比較しても予後に差を認めず、きわめて予後不良であった(図4)。

図1. 教室における肝内結石症新規症例数の年次別推移

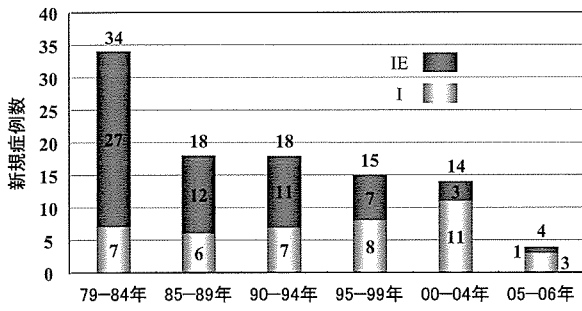


図2. 肝内結石合併肝内胆管癌および肝内結石非合併肝内胆管癌の術後(診断後)生存率曲線 いずれの群も切除例、非切除

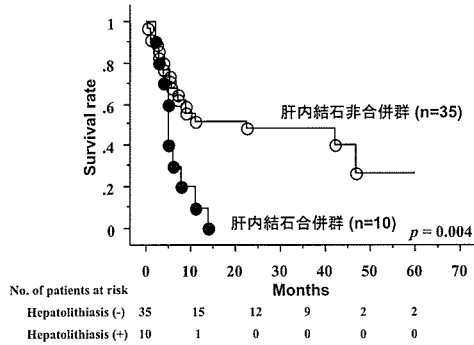


図3. 肝内結石の有無を問わず肝内胆管癌症例全体における切除群と非切除群の術後(診断後)生存率曲線

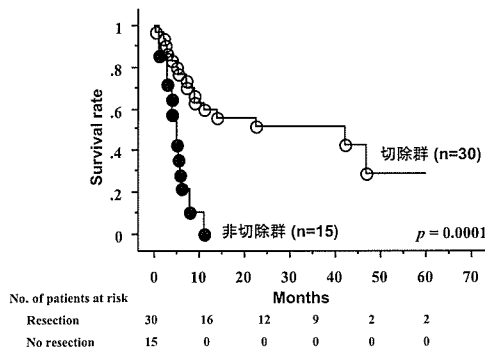


図4. 肝内結石合併肝内胆管癌の切除群と非切除群および肝内結石非合併肝内胆管癌の切除群と非切除群の術後(診断後)生存率曲線

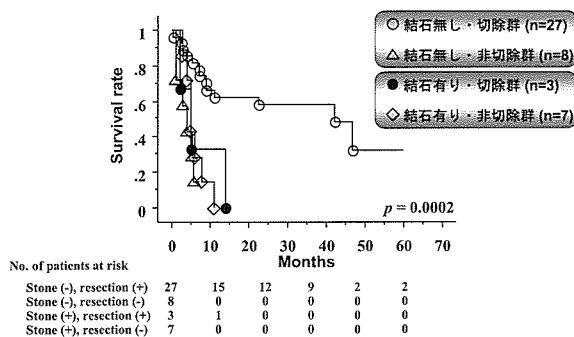


表1. 肝内結石症例

症例数(1979年—2006年)		103例	
性	男性 46例	女性 57例	
平均年齢(初回治療時)	55.2才	56.0才	
病型と結石部位			
I type	43 (41.7%)	IE type	60 (58.3%)
L	25	L	22
LR	9	LR	27
R	9	R	10
結石の種類(判明例75例中)			
ビリルビンカルシウム系石	61 (81.3%)		
コレステロール系石	11 (14.7%)		
黒色石	3 (4.0%)		
不明、手術なし	28		
胆道癌の合併 17例(16.5%)			
肝内胆管癌	10例	肝門部胆管癌	5例
		胆嚢癌	2例

表2. 胆道癌合併症例(肝内胆管癌、肝門部胆管癌)

症例	年齢・性	癌の種類・部位	切除の有無	非切除の理由	肝萎縮の有無	肝内結石の有無・部位	癌発生までの期間(年)	転帰(月)
1	T. H. 53M	肝内胆管癌・P	無し	遠隔転移	無し	無し	23	死(5)
2	S. N. 72M	肝内胆管癌・PA	無し	腹膜播種	有り	IE, RL	初診時	死(3)
3	K. K. 63M	肝内胆管癌・P	無し	血管浸潤(Vv3)	有り	IE, R	初診時	死(8)
4	A. M. 77F	肝内胆管癌・AP	無し	肝門部浸潤	無し	I, R	初診時	死(6)
5	M. A. 72F	肝内胆管癌・M	左葉切除	-	有り	IE, L	初診時	死(5)
6	M. S. 65M	肝内胆管癌・ML	無し	肝門部浸潤	有り	I, L	14	死(4)
7	T. N. 53F	肝内胆管癌・AM	無し	両葉進展	無し	IE, L	初診時	死(5)
8	T. N. 78F	肝内胆管癌・ML	無し	肝門部浸潤	無し	IE, L	初診時	死(11)
9	T. S. 64M	肝内胆管癌・L	外側区域切除	-	有り	IE, L	初診時	死(14)
10	T. N. 62F	肝内胆管癌・AM	拡大右葉切除	-	無し	I, R	12	死(5)
11	K. N. 59M	胆管癌・BrBcBh	左3区域切除	-	有り	I, L	初診時	死(19)
12	H. S. 70M	胆管癌・BpBh	無し	両葉進展	無し	I, L	初診時	死(12)
13	T. M. 46M	胆管癌・BcBr	無し	高度局所浸潤	無し	I, L	9	死(12)
14	S. K. 74F	胆管癌・BcBr	無し	遠隔転移	無し	I, R	初診時	死(6)
15	T. K. 74F	胆管癌・BsBp	無し	高度局所浸潤	無し	I, L	初診時	死(3)

表3. 肝内胆管癌合併症例

症例数	10例(9.7%)	肝内胆管癌合併 93例 I 39例(41.9%) IE 54例(58.1%) R 16例(17.4%) RL 34例(37.0%) L 42例(45.6%)
病型	I 4例(40%) IE 6例(60%)	
結石部位	R 3例(30%) RL 2例(20%) L 5例(50%)	
結石葉に癌合併	10例(100%)	
肝萎縮	5例(50%)	
経過中癌合併	3例(30%) ●12年、結石遺残で経過観察中に発症 ●14年、治療拒否で経過観察中に発症 ●23年、結石再発で経過観察中に発症	
切除例	3例(30%)	3例ともstage IVb (+)

表4. 肝内結石症における胆道癌合併症例・非合併症例の結石の種類

結石の種類	合併例(17例)	非合併例(86例)	計
ビリルビンカルシウム系石	7 (41.2%)	54 (62.8%)	61
コレステロール系石	2 (11.8%)	9 (10.3%)	11
黒色石	0	3 (3.5%)	3
不明(手術無し)	8 (47.0%)	20 (23.2%)	28
コレステロール系石の比率	2/9 (22.2%)	9/66 (13.6%)	

表5. 肝内胆管癌

	肝内結石合併群		肝内結石非合併群	
症例数	10例		35例	
男女比	5:5		19:16	
平均年齢	65.9才		67.1才	
切除率	3/10 (30%)	$p=0.0026$	28/35 (80%)	
臨床症状				
無症状	0例(0%)	$p=0.0414$	11例(31%)	
腹痛・背部痛	3例(30%)	N. S.	16例(46%)	
発熱	4例(40%)	$p=0.0010$	1例(3%)	
黄疸	2例(20%)	N. S.	1例(3%)	
全身倦怠感・食欲不振	1例(10%)	N. S.	4例(11%)	
その他	0例(0%)		2例(6%)	
胆道手術歴	8例(80%)	$p<0.0001$	0例(0%)	
胆道再建術	2例			
初診時診断率	3例(30%)	$p=0.0053$	27例(77%)	

D. 考察

近年、肝内結石症は全国的に減少傾向にあり、1996年の厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班による全国疫学調査では胆石症全体の2.3%と報告されている。当教室での新規症例も集計を取り始めた1980年代前半をピークにその後年々減少傾向を示しており、2000年以降は毎年2-3例程度で推移している。しかし、症例数の減少はおもにIE型や両葉型などいわゆる複雑型の症例数の減少に起因している。肝内結石症は決して多い疾患ではなく、また良性疾患であるが、その病態の複雑さや難治性のため、また肝内胆管癌の危険因子の一つとして臨床上しばしば問題となる。肝内結石症の治療において適切な初回治療法の選択による結石再発と胆管炎の防止および胆管癌合併症例に対する早期診断や根治切除による予後の改善はきわめて重要な課題である。

肝内結石症例の長期経過観察における問題点として再発や結石遺残とともに胆管癌の合併がある。肝内結石をともなう胆管癌は結石による胆管の炎症性変化の修飾もあり、術前の存在診断が困難である。また正確な進展度診断はさらに困難で適正な肝切除範囲の設定に難渋することが多い。術前診断率の低さは治療成績の不良につながっている。川原田らは術前または剖検例95例の検討において半数近くが胆管癌の合併を見落としていたと報告している。Suらは肝内結石症に合併した胆管癌において胆管癌の術前診断率は42%で、胆管癌単独の場合72%であったとして、肝内結石の存在により胆管癌の診断率は低下すると報告している。肝内結石症に合併した肝膿瘍と誤診される症例が多く報告されている。明らかな進行癌の合併以

外は現在でも術前に診断される割合は低く、さらに胆道再建が併施されている場合、癌の存在診断は極めて困難となる。当科でも胆道再建術後の経過観察例のうち1例が脳転移をともなう進行肝内胆管癌で死亡した。今回の検討では、肝内結石を合併した肝内胆管癌では肝内結石非合併の肝内胆管癌と比較して発熱などの有症状率が有意に高いにも関わらず、初診時の診断率は有意に低く、また切除率も有意に低いという結果が得られた。

結石の種類別の胆管癌発生頻度について内山らは胆管癌合併の肝内結石93例中ビ系石が75例(81%)、コ系石が6例(6.5%)、黒色石12例(12.9%)と報告している。また北川らは肝内結石症145例のうち胆管癌を合併したのは8例で全てビ系石であったと報告している。従来、胆管の荒廃の少ないコ系石では胆管癌の発生頻度は低いとされてきた。我々は肝内結石がコ系石であっても胆管癌の合併に注意すべきであると報告してきたが、今回の検討でもビ系石の11.5%、コ系石の18.2%に胆道癌の合併を認めており、また胆道癌合併群でのコ系石は22.2%であったのに対して非合併群では13.6%であり、肝内結石がコ系石であっても胆道癌の発生率は必ずしも低くないことが示唆された。肝内結石症のうち無症状で経過観察する症例あるいはPTCSLやESWLなどで結石を除去した後に経過観察する症例は今後増加することが予想される。このような症例では結石の再発のみならず胆道癌の合併も考慮して注意深く経過観察していくべきである。今回の検討では肝内結石の診断後経過観察中あるいは治療後の経過観察中に数年を経て胆道癌の合併をみた症例が4例みられた。9年から23年と長期にわたって胆道癌の発症をみており長期的な経過観察の必要性が示唆された。

診断後あるいは治療後の経過観察はDIC-CTを含むMDCTやMRCPを中心にして結石の再発のみならず癌の発生にも注意しながらおこなう必要がある。DIC-CTは非侵襲性や簡便さ、胆管描出能、解像度の点、また病型の診断や治療効果の判定に有用である。

E. 結論

肝内結石症は胆道癌、とくに肝内胆管癌の合併が多く、そのほとんどが診断時には高度進行例であった。癌の発生を念頭においた定期的な注意深い経過観察

が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 千々岩一男:今日の治療指針TODAY'S THERAPY 2007 私はこう治療している 8.肝・胆・膵疾患:胆嚢結石症、総胆管結石症、肝内結石症(外科).

今日の治療指針2007版 Vol.49:393-395,2006

2) Maeda, Y., Shinohara, A., Koshimoto, C. and Chijiwa, K. : Species differences among various rodents in the conversion of 7 α -hydroxycholesterol in liver microsomes.

Steroids 71:329-333,2006

3) Kondo, K., Chijiwa, K., Nagano, M., Hiyoshi, M., Kai, M., Maehara, N., Ohuchida, J., Nakao, H. and Ohkawa, Y.: Comparison of seven prognostic staging systems in patients who undergo hepatectomy for hepatocellular carcinoma.

Hepato-Gastroenterology, in press.

4) Tanaka, S.-I., Chijiwa, K. and Maeda, Y. : Biliary lipid output in the early stage of acute liver failure induced by 90% hepatectomy in the rat.

Journal of Surgical Research 134:81-86,2006

5) 近藤千博、千々岩一男、甲斐真弘、大内田次郎、前原直樹:肝門部胆管癌と肝門型肝内胆管癌の臨床病態と予後因子の相違.

胆道 20(2):128-134,2006

6) 近藤千博、千々岩一男:特集/ここまで進んだ内視鏡診断と治療 肝・胆道系の内視鏡を用いた診断と手術 腹腔鏡検査の現状と内視鏡下肝臓切除術.

臨床と研究 83(6):838-842,2006

7) 甲斐真弘、千々岩一男、大内田次郎、旭吉雅秀、永野元章、今村直哉:特集 手術—ここ30年の変化 胆道先天異常の手術.

手術 60(10):1553-1558,2006

8) 大内田次郎、千々岩一男、旭吉雅秀、永野元章、甲

斐真弘、近藤千博、内山周一郎、盛口清香、浅田祐士郎:胆管癌を合併した膵管内乳頭粘液性腺癌の1切除例.

日本消化器外科学会雑誌 39(5):596-601,2006

9) 甲斐真弘、千々岩一男:B.胆道癌 VII.胆道癌の治療 早期胆道癌の治療/胆嚢癌の外科療法:胆嚢癌の肝切除範囲についての理論的根拠.

日本臨床 64(増1):493-498,2006

10) Ohuchida, J., Chijiwa, K., Hiyoshi, M., Kobayashi, K., Konomi, H., Tanaka, M.: Long-term results of treatment for pancreaticobiliary maljunction without bile duct dilatation.

Archives of Surgery 141:1066-1070,2006

11) 大内田次郎、千々岩一男:2.各論 VII胆道疾患 5 胆道腫瘍.

図解消化器内科学テキスト:402-406,2006

12) 千々岩一男:肝内結石症100例の長期予後の検討と肝内胆管癌合併肝内結石症の検討.

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 肝内結石症調査に関する調査研究 平成17年度総括・分担研究報告書:49-54,2006.

13) 千々岩一男:特集 胆・膵疾患の診療をめぐる:胆道癌の診療.

日本医師会雑誌 133(3):351-354, 2005.

14) 千々岩一男、甲斐真弘、大内田次郎、旭吉雅秀、永野元章、前原直樹、近藤千博:特集 胆嚢癌の診断と治療;最近の進歩:胆嚢癌手術における拡大リンパ節郭清とその適応.

消化器外科 28(10):1499-1505, 2005.

15) 甲斐真弘、千々岩一男:特集 術式が違ふとケアが変わる!術式別ケアの押さえどころ 6:胆道手術の術式別ケアの押さえどころ.

消化器外科 Nursing 10(7):695-704, 2005.

16) 千々岩一男:肝内結石症99例の長期予後の検討. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 肝内結石症調査に関する調査研究 平成16年度総括・分担研究報告書:50-56, 2005.

17) 甲斐真弘、千々岩一男、土屋和代、大内田次郎、江藤忠明、牧野一郎、近藤千博、内山周一郎、片岡寛章:腔内超音波検査(IDUS)が肝門部胆管癌の skip lesion 診断に有用であった1例.

胆道 18(4):531-539, 2004.

18) 甲斐真弘、千々岩一男、大内田次郎、近藤千博、

牧野一郎、旭吉雅秀、永野元章:特集 胆道疾患診療の新しい展開.新しい治療の展開 胆道癌:胆嚢癌.肝胆膵 49(3):369-374, 2004.

19) Tanaka, S.-I., Kinowaki, M., Maeda, Y., Nagatomo, J., Kai, M.-H., Kondo, K.-H. and Chijiwa, K. : Species difference in cholesterol 7 α -hydroxylase expression of rabbit and rat liver microsomes after bile duct ligation.

Journal of Surgical Research 119:36-40, 2004.

20) 千々岩一男:先天性胆道拡張症と肝内結石症に対する胆道再建術後の予後.

厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業肝内結石症調査に関する調査研究平成15年度総括・分担研究報告書:48-53, 2004.

21) 甲斐真弘, 千々岩一男:特集 肝内結石症の成因をめぐって:胆道再建術後の肝内結石症.

胆と膵 24:763-768,2003.

22) 千々岩一男:肝内結石症における結石再発および結石種類別の胆管癒合合併についての検討.厚生労働省科学研究費補助金特定疾患対策研究事業肝内結石症調査に関する調査研究平成14年度総括・分担研究報告書:27-31,2003.

2. 学会発表

1) 甲斐真弘, 千々岩一男:肝内結石症再発例の検討.厚生労働省難治性疾患克服研究事業 肝内結石症に関する調査研究班 平成17年度第2回打ち合わせ会.2006

2) 日高淑晶, 千々岩一男, 自見政一郎, 佐野浩一郎, 金丸幹郎, 内山周一郎, 甲斐真弘:閉塞性黄疸および胆汁内, 外瘻による減黄後のトランスポーターの発現変化.

第106回日本外科学会定期学術集会.2006

3) 豊永健二, 菊池秀彦, 中山建男, 千々岩一男:胆汁酸が培養肝細胞の増殖能に及ぼす影響.

第106回日本外科学会定期学術集会.2006

4) 永野元章, 千々岩一男, 甲斐真弘, 旭吉雅秀, 大内田次郎, 近藤千博:Stage IV胆嚢癌の外科的治療戦略.

第106回日本外科学会定期学術集会.2006

5) 甲斐真弘, 千々岩一男, 大内田次郎:シンポジウム 癌治療のコンセンサス2006(1):胆道癌の早期診断と治療法の選択:進行胆嚢癌に対する外科的根治切除の有用性の検討.

第92回日本消化器病学会総会.2006.

6) 大内田次郎, 千々岩一男, 旭吉雅秀, 永野元章, 甲斐真弘, 近藤千博:ビデオシンポジウム3 総胆管結石の治療(外科, 内科):総胆管結石に対する腹腔鏡下手術と内視鏡的治療.

第18回日本肝胆膵外科関連会議.2006.

7) 旭吉雅秀, 大内田次郎, 千々岩一男, 小林毅一郎, 許斐裕之, 田中雅夫:ワークショップ3 膵・胆管合流異常(胆管非拡張型)をどうするか?:胆管拡張を伴わない膵・胆管合流異常の長期予後.

第18回日本肝胆膵外科関連会議.2006.

8) 近藤千博, 千々岩一男, 甲斐真弘, 大内田次郎, 永野元章, 旭吉雅秀, 高橋伸育, 松本耕太郎:肝内胆管癌リンパ節転移陽性例の術後予後因子の検討.

第18回日本肝胆膵外科関連会議.2006.

9) 日高淑晶, 千々岩一男, 甲斐真弘:閉塞性黄疸における胆汁内, 外瘻減黄法後の有機イオントランスポーターの発現変化.

厚生労働省難治性疾患克服研究事業 肝内結石症に関する調査研究班 平成18年度第1回打ち合わせ会.2006.

10) 甲斐真弘, 千々岩一男, 永野元章, 大内田次郎, 大谷和広, 松本耕太郎, 内山周一郎, 旭吉雅秀, 今村直哉, 近藤千博:ワークショップ1 胆嚢管癌診断の進歩:胆嚢管癌における臨床的特徴と術式の検討.

第42回日本胆道学会学術集会.2006.

11) 大谷和広, 千々岩一男, 清水周次:ワークショップ3 膵液胆道逆流の臨床と基礎:膵・胆管合流異常(PBM)における胆嚢粘膜の酸化傷害.

第42回日本胆道学会学術集会.2006.

12) 永野元章, 千々岩一男, 甲斐真弘, 旭吉雅秀, 大内田次郎, 近藤千博:ss胆嚢癌の外科的治療戦略.第42回日本胆道学会学術集会.2006.

13) 永野元章, 千々岩一男, 甲斐真弘, 旭吉雅秀, 大内田次郎, 近藤千博:ワークショップ5 ss胆嚢癌の治療戦略:ss胆嚢癌の治療戦略.

第61回日本消化器外科定期学術総会.2006.

14) 甲斐真弘, 千々岩一男, 大内田次郎, 近藤千博, 牧野一郎, 前原直樹:ワークショップ ss・se胆嚢癌における手術術式-予後規定因子からみたリンパ節転移と術式の検討.

第105回日本外科学会定期学術集会.2005.

15) 日高淑晶, 千々岩一男, 自見政一郎, 佐野浩一郎,

内山周一郎、甲斐真弘:サージカルフォーラム 閉塞性黄疸および減黄後の肝臓のtransporterの変化.

第105回日本外科学会定期学術集会.2005.

16) 甲斐真弘、千々岩一男、大内田次郎、永野元章、旭吉雅秀、近藤千博、牧野一郎:胆嚢癌の胆嚢周囲進展度別外科的治療戦略.

第17回日本肝胆膵外科学会.2005.

17) 甲斐真弘、千々岩一男、大内田次郎、永野元章、旭吉雅秀、近藤千博、牧野一郎:パネルディスカッション 9 胆嚢癌に対する切除術式の選択とその根拠:胆嚢癌の進展度別至適術式の選択とその根拠.

第60回日本消化器外科学会定期学術総会.2005.

18) 佐野浩一郎、千々岩一男、甲斐真弘、田中俊一、日高淑晶、自見政一郎:シンポジウム8 消化器外科領域における肝不全の病態と対策—基礎と臨床:ラット急性肝不全モデルにおける肝不全の病態—胆汁酸トランスポーターと代謝から—.

第60回日本消化器外科学会定期学術総会.2005.

19) 前田資雄、田中俊一、甲斐真弘、近藤千博、千々岩一男:胆管結紮閉塞黄疸モデル時のコレステロール代謝における動物の種差.

第41回日本胆道学会学術集会.2005.

20) 甲斐真弘、千々岩一男、永野元章、大内田次郎、旭吉雅秀、近藤千博:シンポジウム2 Stage IV胆嚢癌のsurgical strategy.

第41回日本胆道学会学術集会.2005.

21) 甲斐真弘、千々岩一男、大内田次郎、近藤千博、牧野一郎、前原直樹:要望演題4 胆道癌診療の現状と今後の展望:胆嚢癌の予後因子の検討と新旧取り扱い規約の比較.

第40回日本胆道学会学術集会.2004.

22) 甲斐真弘、千々岩一男、大内田次郎、近藤千博、牧野一郎、前原直樹:ワークショップ1 肝内結石症の疫学、成因および治療に関する update:肝内結石症97例の長期予後の検討.

第40回日本胆道学会学術集会.2004.

23) 田中俊一、千々岩一男、前田資雄、牧野一郎、上田純二、太田嘉一、末田秀人、塩月裕範、甲斐真弘:70%および90%肝切除ラットにおける胆汁酸代謝の比較検討.

第40回日本胆道学会学術集会.2004.

24) 大内田次郎、千々岩一男、甲斐真弘、旭吉雅秀、前原直樹、牧野一郎、近藤千博、田中雅夫:ワークショップ2 膵・胆管合流異常の controversy:胆管拡張を伴わない膵・胆管合流異常の長期予後.

第40回日本胆道学会学術集会.2004.

25) 日高淑晶、自見政一郎、佐野浩一郎、内山周一郎、甲斐真弘、千々岩一男:閉塞性黄疸期間によるラット肝臓の mrp2, mrp3の発現変化について.

第40回日本胆道学会学術集会.2004.

26) 甲斐真弘、千々岩一男、日高秀樹、江藤忠明、大内田次郎、上田純二、牧野一郎、近藤千博:ビデオセッション6 良性肝疾患に対する外科治療、その他:肝内結石症に対する肝切除術.

第58回日本消化器外科学会総会.2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1) 特になし

先天性胆道拡張症術後の肝内結石

研究協力者 海野倫明

東北大学大学院医学系研究科 外科病態学講座 消化器外科学分野 教授

研究要旨

先天性胆道拡張症(以下、拡張症)術後に発症した肝内結石症につき、その発生頻度、成因、治療成績等を検討した。対象は1979年～2006年8月までに当科で経験した拡張症58例で、うち13例(22.4%)に術後肝内結石を認めた。術後発症までの期間は3～27年(平均13.7年)で、同期間に膵頭十二指腸切除術を施行した膵・胆道癌315例(内10年以上観察例34例)の術後では1例の肝内結石発症を認めたのみであった。結石は全例ピ石で、両葉型が6例と最多。戸谷IV-A型拡張症で12例中7例と高率に、また、拡張症術式は胆管非切除・側々吻合症例で4例中3例と高い発症率を認めた。吻合部狭窄が確認された症例はなかった。拡張症術後の肝内結石は高率な長期合併症と考えられ、肝内胆管の形態異常がもたらす胆汁うっ滞が結石形成の主原因と思われた。その予防には様々な工夫はあるが未だ決定打はなく、長期にわたる慎重な経過観察および結石形成メカニズムの解明が必要と考えられた。

A. 研究目的

近年、わが国における原発性肝内結石症の発生は減少しているといわれるが、先天性胆道拡張症(以下、拡張症)においては肝内結石の発生報告が増加しており注目を集めている。また、拡張症では胆道癌発症のリスクも高く原則手術治療が選択されるが、術後に肝内結石を発症し治療に難渋する例も稀ではない。そこで、拡張症術後に発症した肝内結石症につき、その頻度、成因、治療成績等を検討した。

B. 研究方法(倫理面への配慮)

1979年から2006年8月までに当科で経験した拡張症症例は61例あり、うち経過不明の3例を除く、58例を対象とした。

症例の検討および解析にあたり、個人データを抹消するなど個人情報保護、倫理面への配慮を十分に行った。

C. 研究結果

1970年以降当科で経験した肝内結石症は142例で、うち、胆道再建術後の発症は18例(12.7%)であった。この18例の72%にあたる13例は拡張症術後症例であり、その発症率の高さは顕著であった(図1)。

拡張症症例58例中、13例(22.4%)に術後肝内結石の発症を認め、拡張症手術を当科で施行した症例に限っても43例中4例(9.3%)と高率に認めた。性別は男性6例、女性7例で、拡張症手術から発症までの期間は3～27年(平均13.7年)であった。

拡張症に対する術式は、胆管切除・肝管空腸吻合7例、胆管切除・空腸間置肝管十二指腸切除2例、胆管切除・胆管十二指腸吻合1例、胆管空腸側々吻合2例、胆管十二指腸側々吻合1例であった(表1)。

比較として、同期間に膵頭十二指腸切除・胆管空腸吻合術を施行した膵・胆道癌症例315例(うち、10年以上経過観察例34例)の術後では1例の肝内結石症を認めたのみであった(図2)。

肝内結石発症13例の戸谷分類は、Ia型1例、Ic型2例、IV-A型7例、不明3例で、背景となる全58症例の内訳と比較するとIV-A型で12例中7例と高い発症率を認

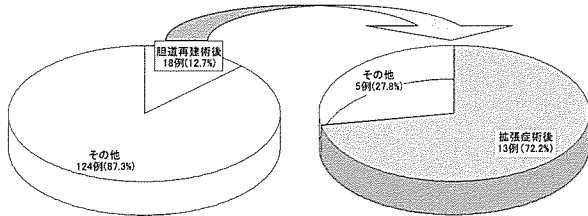


図1. 当科肝内結石手術症例内訳

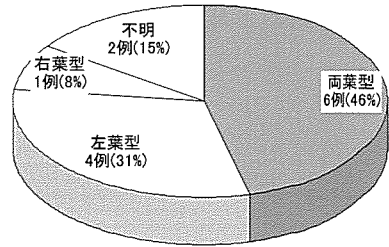


図4. 肝内結石存在部位

当科で膵頭十二指腸切除(含PpPD)・胆管空腸吻合術を施行した膵頭部癌および中下部胆管癌：315例
(内、術後5～10年観察例：30例、10年以上観察例：34例)

内訳

膵頭部癌：134例(術後5～10年：6例、10年以上：3例)

中下部胆管癌：118例(術後5～10年：15例、10年以上：14例)

乳頭部癌：63例(術後5～10年：9例、10年以上：17例)

術後、肝内結石の発症は乳頭部癌術後の1例のみ

(先天性胆道拡張症術後では、58例中13例(22.4%)に発症)

図2. 膵頭部癌・中下部胆管癌症例との比較

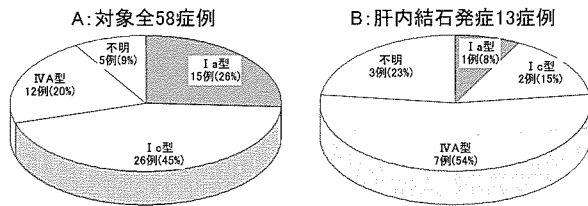


図3. 先天性胆道拡張症戸谷分類

めた(図3)。

結石は全例ビリルビンカルシウム石で、存在部位での分類では両葉型が6例と最も多かった(図4)。拡張症術後の吻合部狭窄を認めた症例はなく、また、肝門部胆管に膜様あるいは索状の構造物が確認された症例も認めなかった。

これら13症例に対する治療は、6例で肝切除術、4例で胆管切除・切石術、残り3例には経皮経肝胆道鏡(PTCS)を用いた切石術を施行した。6ヵ月～22年3ヵ月(平均7.8年)の経過観察を行い、3例で遺残・再燃を認めてPTCS治療を要した。

D. 考察

拡張症術後の肝内結石発症率には1.5～12.3%と様々な報告があるが、自験例では22.4%に認め高率な長期合併症と考えられた。他疾患での胆管空腸吻合術後発症率とは著明な差を認めたことや、明らかな吻合

表1. 先天性胆道拡張症術式別発症率

術式	全症例	肝内結石発症症例
胆管切除・肝管空腸吻合(Roux-en Y)	27	7 (25.9%)
胆管切除・空腸間置肝管十二指腸吻合	21	2 (9.5%)
胆管切除・胆管十二指腸吻合	3	1 (33.3%)
膵頭十二指腸切除	3	-
胆管空腸側々吻合	3	2 (66.7%)
胆管十二指腸側々吻合	1	1 (100%)

計 58 13 (22.4%)

(対象とした13例中9例は他院で手術を受けており、当科で胆道拡張症手術を施行した症例中の結石発症例は43例中4例(9.3%)であった。また、当科で施行した胆管切除・肝管空腸吻合(Roux-en Y)では、24例中1例(4.1%)のみの発症であった。)

部狭窄を認めなかったことなどから、肝内胆管の形態異常がもたらす胆汁うっ滞が結石形成の主な原因と考えられた。他疾患での胆管空腸吻合術後発症率とは著明な差を認めたことや、明らかな吻合部狭窄を認めなかったことなどから、肝内胆管の形態異常がもたらす胆汁うっ滞が結石形成の主な原因と考えられた。肝内結石の予防として、総肝管内腔側からの狭窄切除・形成や胆管拡張を伴う領域の肝切除併施など、様々な工夫はあるが未だ決定打はなく、長期にわたる慎重な経過観察および結石形成メカニズムの解明やそれに基づく治療法の開発が必要と考えられた。

E. 結論

拡張症術後の肝内結石は高率な長期合併症と考えられ、肝内胆管の形態異常がもたらす胆汁うっ滞が結石形成の主原因と思われた。その予防には様々な工夫はあるが未だ決定打はなく、長期にわたる慎重な

経過観察および結石形成メカニズムの解明が必要と考えられた。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

インチンコウ湯及びその生薬成分のラット及びヒト肝細胞に対する胆汁分泌促進作用と肝細胞保護作用について

研究協力者 正田 純一

筑波大学大学院人間総合科学研究科 臨床医学系消化器内科 講師

研究要旨

黄疸治療薬として用いられるインチンコウ湯の肝内結石症治療薬としての可能性を検討するため、ラットおよびヒト肝細胞キメラマウスを用いその薬理作用を検討した。インチンコウ湯はビリルビン負荷時されたラットにおいて肝Mrp3の発現を介しビリルビンをクリアランスを亢進させた。またNrf2を介した肝保護作用が明らかになり胆汁うっ滞症などの慢性肝疾患による肝機能障害に対する治療薬として有用であることが示唆された。

A. 背景

インチンコウ湯は古くより黄疸の治療薬として使用されている。本剤の黄疸改善作用の一つとして、構成生薬サンシシの主成分であるgeniposideの腸内細菌代謝物genipinが、胆汁酸非依存性胆汁分泌に関わる有機アニオントランスポーターmultidrug resistance-associated protein 2 (Mrp2)を、細胞質から毛細胆管膜上へトランスポーションさせることにより、胆汁分泌を促進させていることを既に論文として報告している(Hepatology 2004)。本研究では、臨床での有用性を展望させること、基礎研究のエビデンスを充実させることより、ラットおよびヒト肝細胞を有するキメラマウスを使用し、長期投与された本剤およびその生薬成分の胆汁分泌機能に対する作用と肝細胞保護作用について検討を行った。

B. 研究方法

ラットおよびヒト肝細胞キメラマウスにインチンコウ湯(TJ-135)、geniposideあるいはgenipinを1週間経口投与し、胆汁分泌機能、ビリルビン代謝、肝・腎における輸送担体の発現、さらに肝における酸化ストレス応答関連分子の発現の変化について検討した。

C. 研究結果・考察

一週間経口投与されたインチンコウ湯およびgenipinは、ビリルビン負荷時されたラットのビリルビンをクリアランスを亢進させた(図1)。またビリルビンの胆汁排泄及び尿中排泄も亢進させることが観察された(図1)。

肝臓および腎臓の各種輸送担体(Mrp2、Mrp3、Mrp4、Bsep)発現量に対する影響を検討したところ、インチンコウ湯およびgenipin投与群において、対照群と比較してMrp2のmRNAおよび蛋白質発現量の顕著な増加が観察された(図2、図3、図4)。また、免疫組織化学的解析により、Mrp2の肝臓の毛細胆管膜上、および腎近位尿細管上皮細胞の刷子縁膜上への局在化が観察された(図3、図4)。肝Mrp2は、肝細胞から胆管側へ、腎Mrp2は近位尿細管上皮細胞から尿細管側へ、抱合型ビリルビンを排泄する。従って、肝・腎Mrp2の顕著な発現量増加及び膜局在化により、静脈内投与されたビリルビンの抱合体の胆汁中及び尿中排泄が増加し、ビリルビンをクリアランスが亢進したと考えられる。

また、インチンコウ湯およびgeniposide投与群において、肝Mrp3の顕著な発現量増加も観察された。Mrp3は肝細胞中から血中へ、抱合型ビリルビンなどの有機アニオンを輸送する輸送担体である。通常はほとんど発現していないが、胆汁うっ滞時の肝Mrp2発現低下に伴い、発現量が増加することが報告されており、

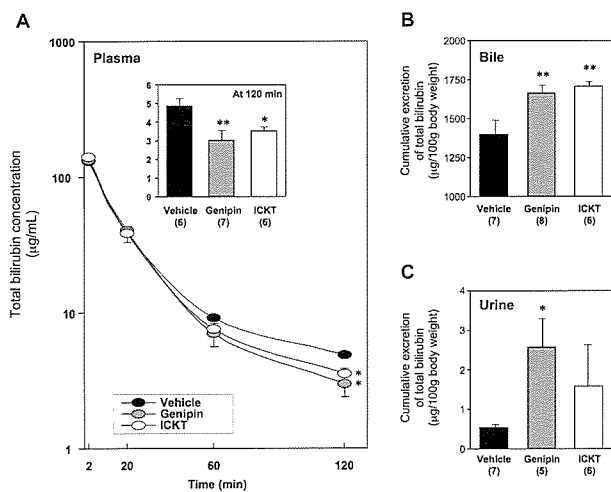


図1: インチンコウ湯およびgenipin投与ラットにおける血中ビリルビンクリアランスと胆汁中、尿中ビリルビン排泄

律速酵素であるg-GCS、肝GSHレベルを増加させることを確認した(図6)。また、in vitroの実験(図7)ではあるが、これらの作用がNrf2ノックアウト由来の胎児線維芽細胞では消失することから、インチンコウ湯あるいはgenipinのin vivoでの肝機能に及ぼす作用はNrf2依存性である可能性が強く示唆された。Nrf2は様々な解毒酵素、抗酸化酵素の転写を制御しており、インチンコウ湯はNrf2活性化を介して様々な肝保護作用を示す可能性が考えられる。更に、in vitroではあるが、インチンコウ湯の成分であるcapillarisinは、genipinよりはるかに強いNrf2活性化作用を示すデータも得られており、さらに今後のin vivo実験による成果が期待される。

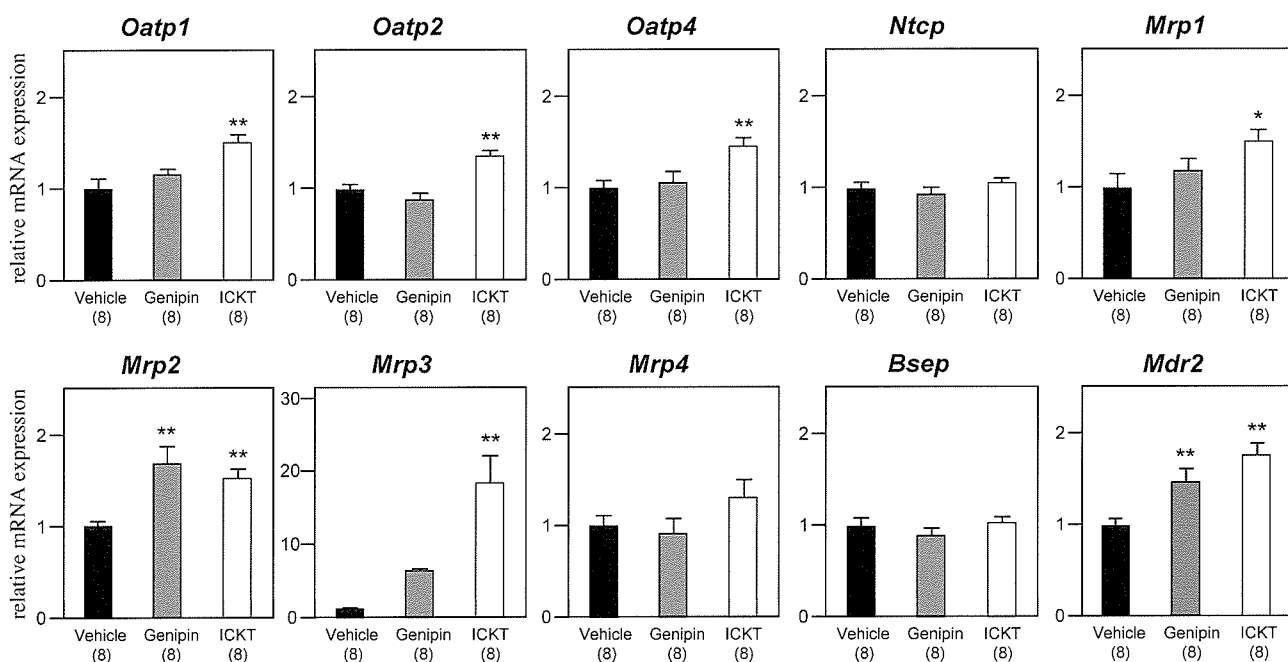


図2: インチンコウ湯およびgenipin投与ラットの肝における輸送担体の遺伝子発現レベル

Mrp2のレスキュー蛋白質であると考えられている。今回、インチンコウ湯およびgeniposide投与により、肝Mrp3と腎Mrp2の両方の発現量増加を確認した。このことは、肝細胞中に抱合型ビリルビンが飽和した状態にインチンコウ湯を投与すれば、肝細胞中の抱合型ビリルビンは胆汁中への排泄が亢進されると同時に、肝Mrp3を介して血中へ排泄し、さらに腎Mrp2を介して尿中へ排泄しうる可能性を示唆していると考えられる。胆汁ラットへのインチンコウ湯およびgenipinの一週間経口投与は、ヘムオキシゲナーゼ-1(HO-1)やGSH合成の

D. 結論

インチンコウ湯の肝・腎のMrp2を介したビリルビン排泄能亢進作用とNrf2を介した肝保護作用が明らかになり、胆汁うっ滞症などの慢性肝疾患による肝機能障害に対する治療薬として有用であることが示唆された。

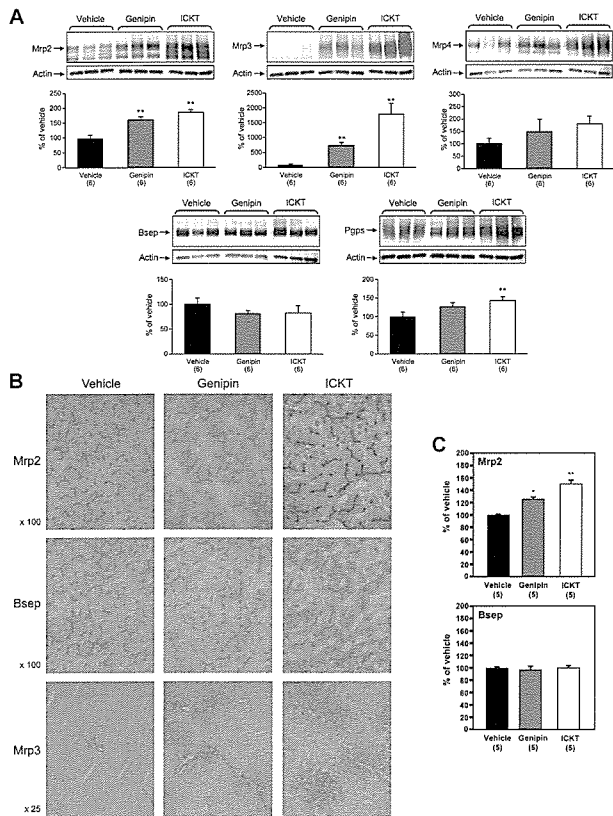


図3: インチンコウ湯およびgenipin投与ラットの肝における各種輸送担体の蛋白発現レベルと免疫組織化学

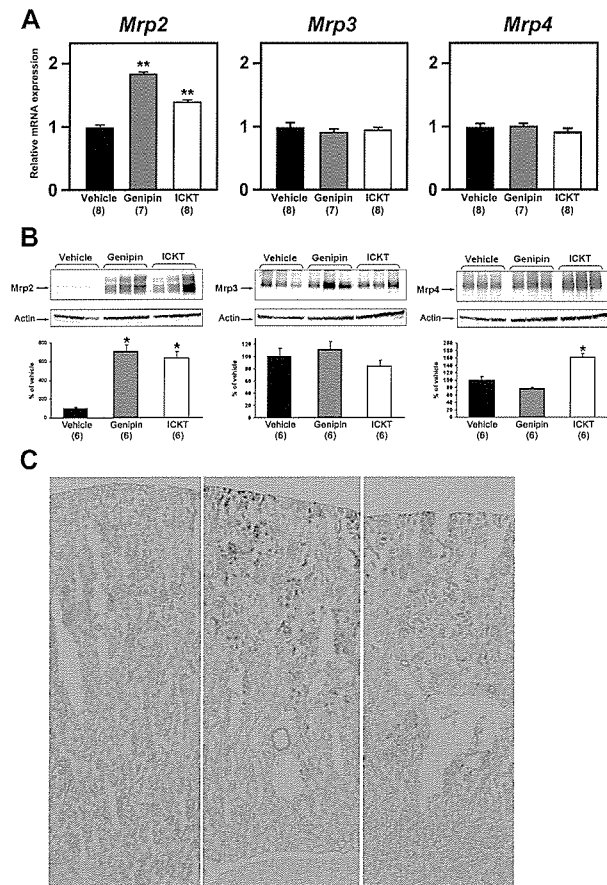


図4: インチンコウ湯およびgenipin投与ラットの腎における各種輸送担体の蛋白発現レベルと免疫組織化学

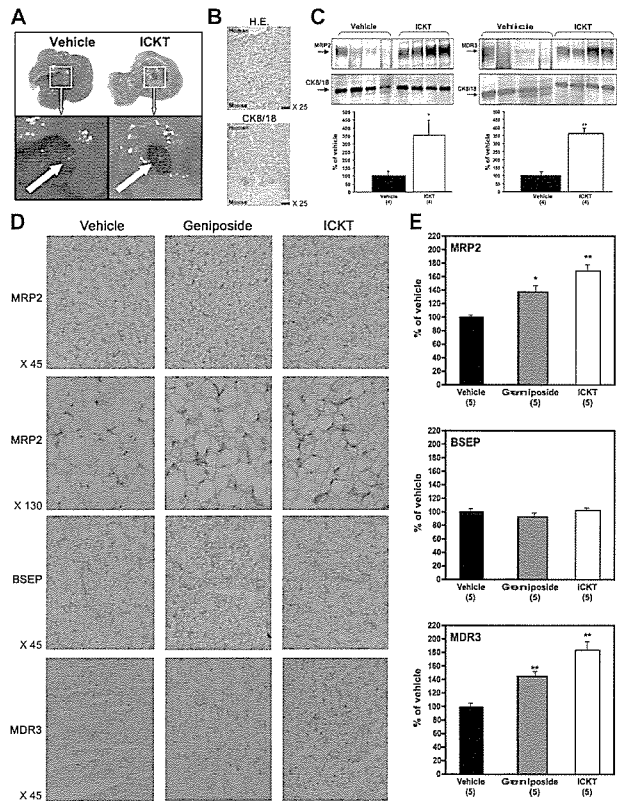


図5: インチンコウ湯およびgeniposide投与キメラマウスのヒト肝部分における各種輸送担体の蛋白発現レベルと免疫組織化学

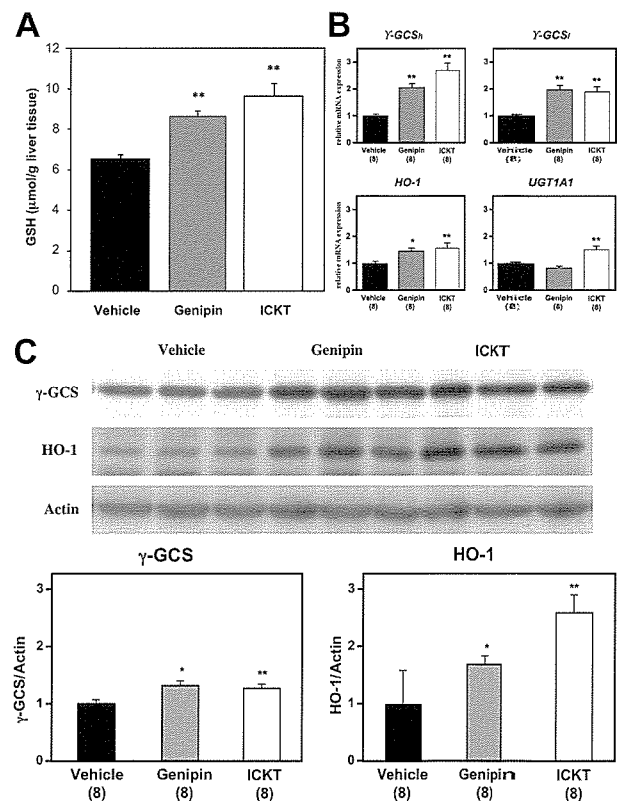


図6: インチンコウ湯およびgenipin投与ラットの肝における肝GSHレベルと抗酸化ストレス応答分子、g-GCSとHO-1の発現レベル

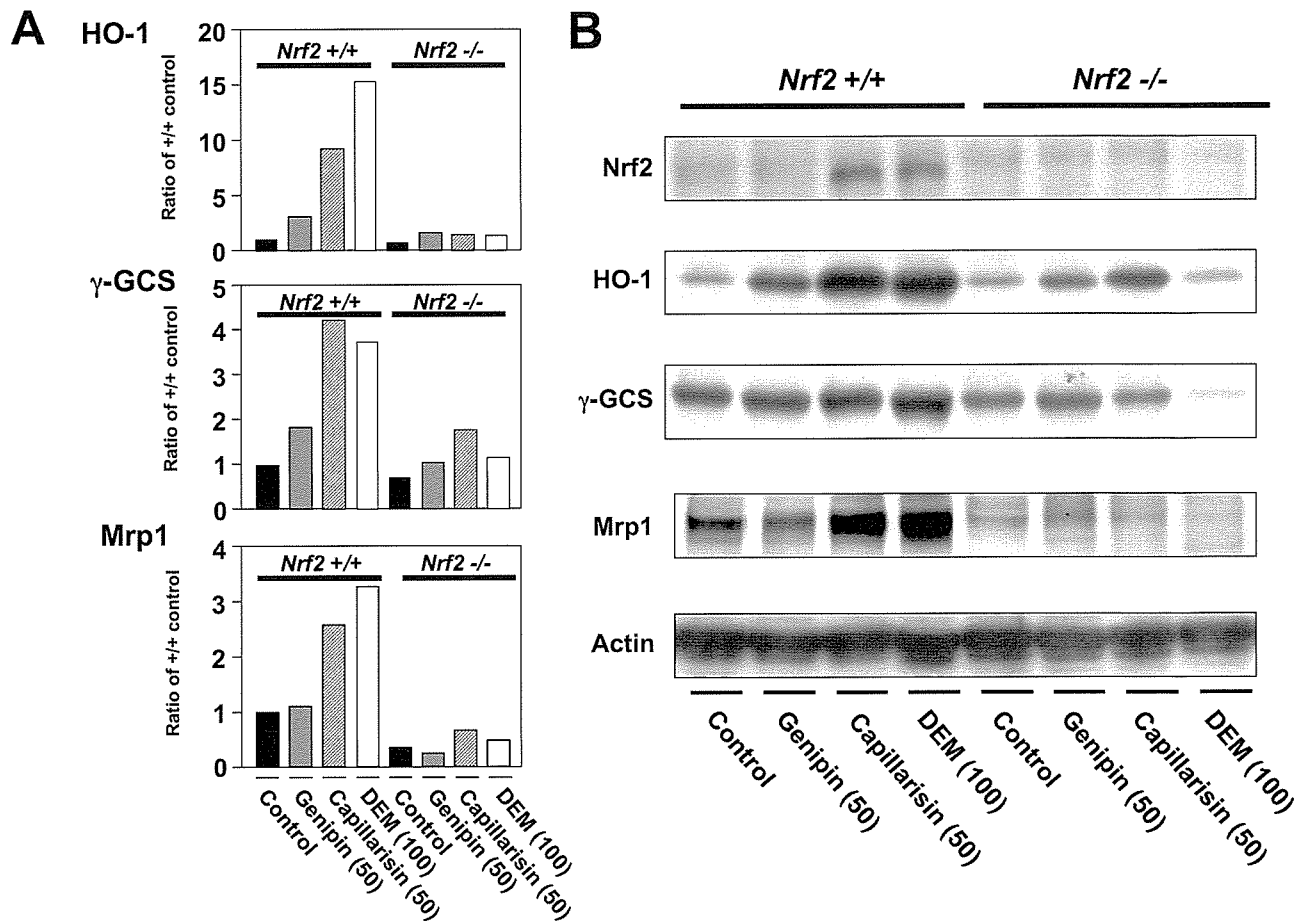


図7: Nrf2ノックアウトマウス由来の由来の胎児線維芽細胞におけるインチンコウ湯の生薬成分、genipinとcapillarisinによるヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1)、g-GCS、Mrp1の発現誘導

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

- 1.論文発表
- 2.学会発表

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

ムチン分解による結石治療の可能性(その2)

研究協力者 佐々木睦男
弘前大学医学部 第二外科 教授

研究要旨

肝内結石症患者胆汁、結石中に多量に存在するムチン型酸性糖タンパク質のDegradationを目的としS-S結合開裂剤、タンパク分解酵素、多糖類分解酵素を胆道内に投与した。何れの薬剤を用いても、胆汁中タンパク質濃度は著明に低下した。特に、肝内結石胆汁で特徴的に増加している高分子ならびに中分子タンパク質とも減少し、結石は縮小、脆弱化した。これらの薬剤は、直接投与ばかりでなく、経口投与による効果も検証すべき課題と考えた。

A. 研究目的

肝内結石症は難治性の疾患であり数次の治療にもかかわらず再発を繰り返す。肝内結石症患者胆汁中には粘液の主体をなすムチン型酸性糖タンパク質がきわめて多量に存在することが確認されている。この酸性糖タンパク質と肝内結石症患者胆汁およびカルシウムイオン、エンドβグルクロニダーゼ存在下にこれらを混合するとビリルビンカルシウム成分を含む沈殿が生成されることを確認している。したがって、この酸性糖タンパク質は結石生成にきわめて重要な要素と考えられた。また、酸性糖タンパク質を分解するにはS-S結合開裂剤、タンパク分解酵素、多糖類分解酵素が有効でこれらにより沈殿は著明に抑制された。さらに、臨床例に於いても酸性糖タンパク質を分解するにはS-S結合開裂剤、タンパク分解酵素、多糖類分解酵素が有効であり、これらにより肝内および総胆管結石は縮小、脆弱化した。これらの結果は胆汁への直接投与に相当するものであり具体的には胆道内直接投与で胆道内遺残結石の洗い出しや胆道内粘液の洗浄効果が確認された。

今回の研究目的はこれら薬剤の内服により、肝内結石やその再発が予防できるかどうかであるが、内服投与による胆汁中のタンパク質濃度を検証し胆汁中内の効果を検討するのが目的である。

B. 方法

肝内結石症例にENBDチューブ挿入後3日間内服で1日あたりピソルボン6T、ダーゼン30mg、塩化リゾチーム270mgを投与し胆汁中のタンパク質濃度を測定した。胆汁を回収、脱脂後SDSポリアクリルアミド電気泳動にてその濃度を確認した。

C. 結果

胆汁中のタンパク質濃度は内服によるピソルボン、ダーゼン、塩化リゾチームの投与により胆汁中タンパク質濃度は著明に低下した。特に、肝内結石胆汁で特徴的に増加している高分子ならびに中分子タンパク質とも減少していた(図1)。

D. 考察および結論

今回の結果より臨床例に於いても酸性糖タンパク質を分解するにはS-S結合開裂剤、タンパク分解酵素、多糖類分解酵素が有効であり、これらにより肝内および総胆管結石は縮小、脆弱化した。また、これらの薬剤はすでに数十年にわたり臨床応用されておりその安全性

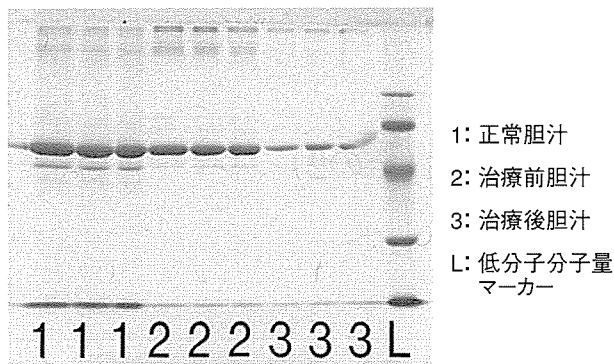


図1. 肝胆汁SDSポリアクリルアミド電気泳動

は確認済みであり、これらの方法はすぐに臨床応用可能であると考えられる。

今回確認された結果は薬剤の内服により、肝内結石やその再発が予防できるかどうかであるが、内服投与により胆汁中のタンパク質濃度が低下することから、有効な可能性がある。またこれらの薬剤は長期にわたり臨床応用されており副作用も少なくその安全性は高く早期の臨床応用が期待される。

D. 研究発表

1. 山田恭吾、杉山讓、清野景好、小堀宏康、佐々木睦男. 術前に胆嚢穿孔と診断し得た特発性胆嚢穿孔の1例. 胆と膵 2005;26(5):487-90.
2. 諸橋一、豊木嘉一、袴田健一、鳴海俊治、佐藤利行、木村憲央、西村顕正、吉原秀一、佐々木睦男. 胆嚢

管原発の腺内分泌細胞癌の1例.

胆道 2005;19(4):489-94.

3. Morohashi H, Kon A, Nakai M, Yamaguchi M, Kakizaki I, Yoshihara S, Sasaki M, Takagaki K. Study of hyaluronan synthase inhibitor, 4-methylumbelliferone derivatives on human pancreatic cancer cell (KP1-NL). Biochem Biophys Res Commun 2006;345(4):1454-9.
4. Nakazawa H, Yoshihara S, Kudo D, Morohashi H, Kakizaki I, Kon A, Takagaki K, Sasaki M. 4-methylumbelliferone, a hyaluronan synthase suppressor, enhances the anticancer activity of gemcitabine in human pancreatic cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 2006;57(2):165-70.
5. 袴田健一、石戸圭之輔、佐々木睦男.
【肝細胞がん患者にどう対応するか】外科的治療の進め方 肝切除の術式をどう選び、どう行うか. 臨床腫瘍プラクティス 2006;2(4):358-61.

E. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

胆管癌細胞株におけるThymidylate synthase (TS)発現に関する検討

研究協力者 本田和男

愛媛大学大学院 器官制御外科学 助教授

研究要旨

肝内結石症患者は胆管癌を合併することが多く、胆管癌は抗癌剤の効果が乏しく切除できなければその予後は不良である。今回我々は5FUの標的酵素であり、悪性腫瘍において予後規定因子となることが多いthymidylate synthase (TS)に注目した。5FUは代謝産物であるFdUMPが補酵素である還元型葉酸の存在下にthymidylate synthase (TS)とternary complexを形成し、DNAの合成阻害を起こす。

今研究ではAxCAUTを用いて5FUの代謝産物であるFdUMPを過剰生成させ、TSの発現をmRNAレベルで検討した。TS発現の差はAxCAUTとAxCALacZ間で認められず、経時的な変化も認めなかった。このことはFdUMPのみならずFUMPなどの5FUの代謝産物がTSの発現を調節している可能性は低いと考えられた。

A. 研究目的

肝内結石症患者は胆管癌を合併することが多く肝内結石症の主たる死因となっている。

現在、胆道癌に対して有効な奏効率を示す有用な化学療法は報告は少ない。

一方消化器癌に対して5-fluorouracil (5-FU)を中心とした薬剤が広く使用されている。我々は前回の報告で5-FUの感受性を高めるuracilribotransferase (UPRT)遺伝子を導入した自殺遺伝子療法について報告した。5-FUの抗腫瘍効果はその薬理作用によりthymidylate synthase (TS)、dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)の発現が低く、orotate phosphoribosyl transferase (OPRT)の発現が高い方が有効であると言われている。しかし抽出標本においては、TS、DPD、OPRTのmRNAの発現と免疫染色の結果と酵素活性定量値との間に有意な相関が認められないという報告も多々認められる。これは抽出標本においては標本の抽出や固定の問題、腫瘍の間質細胞の影響や癌細胞のheterogeneity等が影響していると考えられている。

今回我々は胆道癌細胞株におけるTSのmRNA発現をreal time RT-PCRで測定し検討した。さらに前回の報告で使用したUPRT遺伝子を導入することによりTSのmRNA発現をreal time RT-PCRで測定し検討した。

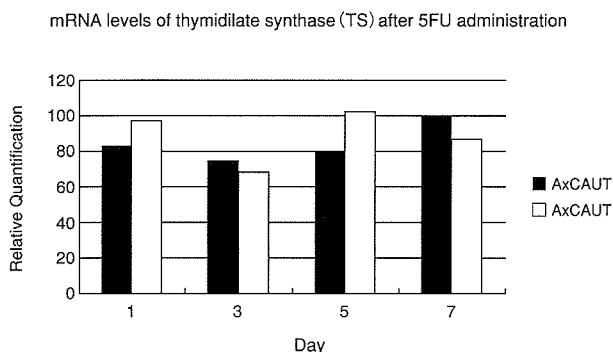
B. 研究方法

ヒト胆道癌細胞株はHuCCT1を用いて研究を行った。前回の報告で使用した非増殖型アデノウイルスに大腸菌のuracilphosphoribotransferase (UPRT)遺伝子と単純ヘルペスのthymidine-kinase (HSV-tk)を組み込んだAxCAUTを使用した。対照としては大腸菌のβ-ガラクトシダーゼ遺伝子を組み込んだAxCALacZを使用した。まずHuCCT1にAxCAUT、AxCALacZをそれぞれ1、10、100 MOIで感染させそれぞれ1、3、5、7日目にmRNAを抽出しTS遺伝子の発現をreal time RT-PCRで測定した。さらにAxCAUT、AxCALacZを10 MOIで感染させた胆管癌細胞に5FU 1mMを投与し、1、3、5、7日目にmRNAを抽出しTS遺伝子の発現をreal time RT-PCRで測定した。

C. 研究結果

AxCAUT、AxCALacZを単独で胆管癌細胞株HuCCT1に感染させた場合、MOI数とTS発現に相関性は認められなかった。経時的な変化を見ても前回の報告でウイルス投与後外来遺伝子の発現が最大となる3日目においてもTS発現に変化は認められなかった。

図1



AxCAT、AxCALacZを10 MOIで感染させた後5FUを投与した場合においてもTS遺伝子の発現に両者で有意な差は認めず、経時的な変化も認められなかった(図1)。

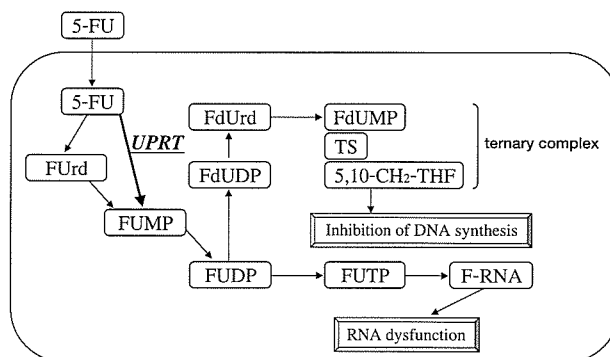
D. 考察

5FUは約半世紀にわたって消化器癌に対して最も汎用されてきた薬剤である。5-FUの代謝経路については図に示すようにリン酸化されfluorodeoxyuridine-5'-mono phosphate (FdUMP)となる。このFdUMPが補酵素である還元型葉酸の存在下にthymidilate synthase (TS)とternary complexを形成し、DNAの合成阻害を起こす(図2)。

現在のところTSやDPD (dihydro pyrimidine dehydrogenase)等の遺伝子発現を調整する機構は明らかではない。我々はFdUMPや形成されるternary complexがTS遺伝子の発現を調節している可能性を考えた。組換えアデノウイルスを用いてUPRを過剰に発現させ、5FU投与時にFdUMPを過剰発現させた場合のTS遺伝子のmRNA発現量の変化を検討した。

今回の研究では組換えアデノウイルスAxCAT、AxCALacZを感染させた場合MOI数や感染後の日数に関係なくTS遺伝子の発現量には変動が認められなかった。さらに前回の研究でAxCATを10MOIで感染させた場合、5FUのIC50が約1mMであることに注目し、AxCATを10MOIで感染させ5FU 1mMの培地で培養しTS発現を検討した。AxCATは大腸菌のUPRT遺伝子を組み込んだ非増殖型アデノウイルスである。このUPRT遺伝子は直接FUMPに変換させることによりFdUMPを増加させる。この場合理論上FdUMP

図2



は、3、5日目に最も発現していると思われる。しかしTS発現の差はAxCATとAxCALacZ間で認められず、経時的な変化も認めなかった。このことはFdUMPのみならずFUMPなどの5FUの代謝産物がTSの発現を調節している可能性は低いと考えられた。

今後蛋白レベルでのFdUMPとTS発現の検討や、DPDやOPRT遺伝子の発現も検討しなければならないと考えている。

E. 結論

AxCATを用いてTS遺伝子の発現をreal time RT-PCRで検討すると、FdUMPを増加させてもTS遺伝子の発現には変化を認めなかった。

つまりFdUMPのみならずFUMPなどの5FUの代謝産物がTSの発現を調節している可能性は低いと考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第106回日本外科学会定期学術集会

cRADによる胆道癌に対する自殺遺伝子治療

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし