

図1 病理組織学的検査：a) (左) 壊死物に混じって腺管形成傾向のみられない癌細胞を認めた。(右) Cytokeratin による免疫染色は陽性であった。b) 胃粘膜には明らかな腫瘍性病変を認めず、瘢痕性変化を認めるのみであった。c) 胃体部の連続切片でも癌細胞は認めず、線維性組織に置換されていた。漿膜面の黄色小結節部と小彎リンパ節は泡沫状に空胞変性した組織球を含む黄色肉芽腫を認めた。

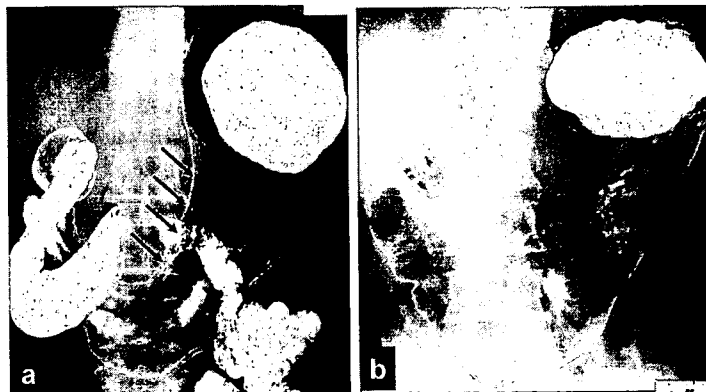


図2 上部消化管造影検査

- a 化学療法前：胃体部から前庭部にかけて胃壁の硬化像と伸展不良を認めた。
b 化学療法後：胃壁の伸展は良好になった。

CDDP は90mg/body (day 8) に投与、休薬期間は2週とし、1コース5週の予定とした。TS-1を内服後 Grade 3の食欲不振を認め、TS-1を1段階減量 (100 mg/body) し、休薬期間を1週延長し、第2コースを施行した。第2コース施行中は Grade 3以上の有害事象は認めなかった。2コース終了後の内視鏡検査では胃体部小彎に粘膜集中を伴う瘢痕性変化を認めたが、壁伸展は良好であった。瘢痕部の生検では全てに癌細

胞を認めなかった。造影検査では胃壁の伸展は良好となった(図2 b)。腹部造影 CT 検査では明らかな脾臓への浸潤を認めず、胃壁の肥厚も消退した(図3 b)。化学療法は有効であった。化学療法終了4週後の CA72-4は3.0U/ml まで低下した。患者の強い希望により、化学療法終了4週後に開腹術を施行した。

手術所見：左横隔膜下に少量の腹水があったが腹膜播種を疑う結節は認めなかった。術中洗浄細胞診は陰

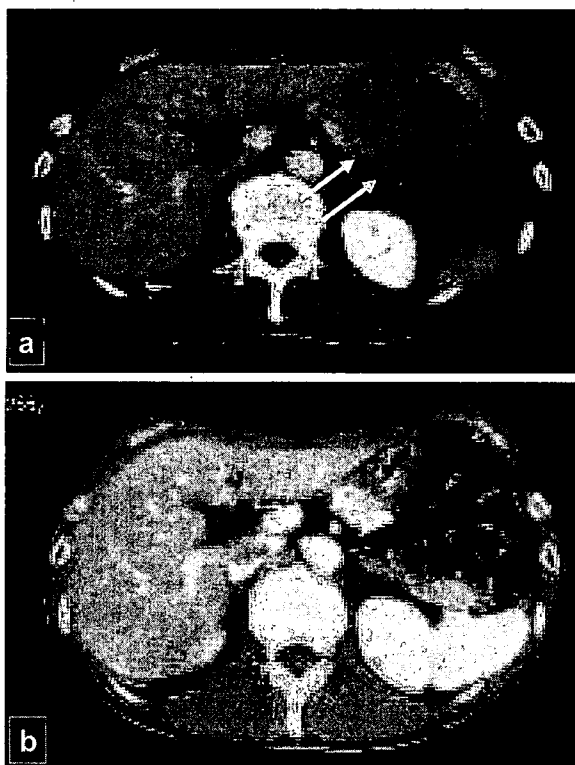


図3 腹部造影 CT 検査

- a 化学療法前：胃後壁は肥厚し、腫瘍の隣臓への浸潤が疑われた（矢印）。小彎リンパ節が腫脹していた。
- b 化学療法後：胃壁の肥厚は改善された。

性であった。胃全領域の小彎、漿膜面に黄色小結節が散在し、化学療法による変化と考えられた。漿膜面は瘢痕様に変色していたが、明らかな腫瘍は認めなかった。隣接臓器への浸潤、肝転移も認めず、リンパ節腫脹も明らかでなかった。sT3 N0 H0 P0 CY0 M0 s Stage IIで根治切除可能と判断し、胃全摘、D2郭清、Roux en Y再建術を施行した。

摘出標本の肉眼および病理組織所見：摘出胃の粘膜面にも明らかな腫瘍性病変はなく、胃体中部を中心に瘢痕性変化を認めるのみであった(図1 b)。組織学的には主病変と考えられた胃体部小彎中心の連続切片の標本にも癌細胞は認めず、胃壁はほぼ全層にわたり線維性組織に置換されていた。漿膜面の黄色小結節部と小彎リンパ節は泡沫状に空胞変性した組織球を含む黄色肉芽腫を認めた(図1 c)。これらの所見から化学療法以前に癌組織が存在し、治療により癌組織が壊死、変性に陥り、線維性組織で置換されたと考えられ、薬物治療の組織学的効果判定基準¹⁾の Grade 3と判断した。

術後経過：術後は順調に経過して術後第7病日より

経口摂取を開始し、第18病日に退院した。術後6カ月現在、補助化学療法は施行せず、再発の兆候は認めていない。

考 察

胃癌に対する化学療法は十分な効果が期待できないことも多く、標準的療法も確立されていない。近年5-FUの効果増強と副作用軽減を特徴としたTS-1が開発された。TS-1は進行胃癌に対して単独投与でも49.0%の高い奏効率と報告され⁴⁾、first line化学療法として注目されている。副作用もGrade 3以上の有害事象は20%で、Grade 3以上の白血球減少は2%、赤血球減少は6%と報告されている⁴⁾。辻ら⁵⁾は胃癌に対し5-FUと少量CDDPを併用したlow-dose FP療法が、奏効率は65.9%と高率であるにもかかわらず、Grade 3以上の副作用は5.8%にすぎないと報告している。TS-1は5-FUのプロドラッグであるFT (Tegafur)との合剤のためCDDPとの併用により高い抗腫瘍効果が期待され、Koizumiら⁶⁾はTS-1/CDDP療法の奏効率を74%、岩瀬⁷⁾は奏効率84.6%、CR率15.4%と報告している。しかしTS-1/CDDP療法も標準的なregimenは未だ確立されておらず、様々な用量や方法で施行されているのが現状である²⁾³⁾⁶⁾⁸⁾。今回われわれは進行4型胃癌に対し、TS-1/CDDP併用療法を施行し手術を施行したところ、切除標本の原発巣、リンパ節ともに癌細胞を認めず、薬物治療の組織学的効果判定のGrade 3を得た。

胃癌の化学療法後の効果判定には統一された定義がなかったため、胃癌研究会は1985年に検討結果を胃癌取扱い規約¹⁾に収載し、以後の共通基準として現在の胃癌学会に引継がれており、化学療法による組織学的効果Grade 3は二ツ木ら⁹⁾の報告を規範としている。1981年から2006年までに原病巣、リンパ節ともに組織学的効果判定Grade 3で、詳細な記載がある報告例は18例^{9)~25)}であった。自験例を含めた19例を検討した(表1)。組織型では低分化型が15例を占め、分化型は4例に過ぎなかった。横田ら¹⁸⁾、上杉ら¹⁹⁾はCR症例には分化型が多いと報告しているが、今回の結果では約8割が低分化型癌であった。全ての症例で5-FU系薬剤を使用しており、17例はFTあるいはその合剤を単独または併用で使用していた。2001年以降は1例以外、全てTS-1を使用していた。TS-1単独は3例のみで、その他は、regimenは異なるがわれわれと同様なTS-1/CDDP併用療法で、いずれも少ない投与回数であった。杉木ら²⁴⁾の報告では9コースを施行しているが、こ

表1 Grade 3が得られた本邦報告例

| case | yr/s/sex | type | hist. | marker | drugs | side effect | before ope. | op. method | postop. drugs | recur. | outcome | reported in | reference. no |
|------|----------|------|-------|--------|-----------------|-------------|-------------|------------|---------------|--------|---------|-------------|---------------|
| 1 | 57 f | 3 | por | elv | TGF/OK432 | G3 | 5m | TG/P/S | - | - | 47m A | '85 | 9 |
| 2 | 56 m | 2 | tub | wnl | UFT | - | 6d | DG | * | - | 30m A | '87 | 18 |
| 3 | 63 m | 2 | por | wnl | UFT | - | 8d | DG | * | - | 8m A | '89 | 19 |
| 4 | 88 m | 2 | tub | elv | TGF/OK432 | - | * | -(autopsy) | * | - | 6m D ** | '89 | 20 |
| 5 | 72 m | 3 | por | elv | PMUE | * | * | DG | * | * | 7m A | '90 | 21 |
| 6 | 56 f | 2 | por | wnl | UFT | - | * | DG? | - | * | 26m A | '94 | 22 |
| 7 | 74 m | 2 | por | * | UFT/CDDP | G3 | * | DG | UFT/CDDP | + | 20m D | '98 | 10 |
| 8 | 40 m | 3 | por | wnl | CPT-11/CDDP/5FU | G1 | * | TG/P/S | * | * | * | '99 | 11 |
| 9 | 77 m | * | sig | wnl | TS-1 | - | 21d | TG(remn)/S | * | * | * | '01 | 12 |
| 10 | 65 m | 3 | por | elv | 5FU/LV/CDDP | * | 1m | TG/S | * | - | 12m A | '02 | 13 |
| 11 | 76 m | 2 | tub | wnl | TS-1/CDDP | - | 15d | TG | - | - | * | '04 | 8 |
| 12 | 69 f | 3 | por | wnl | TS-1 | - | 1m | TG/S | * | * | * | '04 | 14 |
| 13 | 62 m | * | por | * | TS-1/CDDP | G2 | * | TG/L | CPT-11/TXL | + | * | '04 | 23 |
| 14 | 73 f | 3 | por | wnl | TS-1 | - | 7d | DG | TS-1 | - | * | '05 | 15 |
| 15 | 61 m | 3 | tub | elv | TS-1/CDDP | G2/G3 | 1m | TG | - | - | * | '05 | 16 |
| 16 | 46 m | 3 | sig | wnl | TS-1/CDDP | G2 | 8d | DG | TS-1 | * | * | '05 | 17 |
| 17 | 59 m | 3 | por | wnl | TS-1/CDDP | G3 | 5m | DG | - | - | * | '06 | 24 |
| 18 | 54 f | 3 | por | wnl | TS-1/CDDP | * | 21d | TG | - | - | 6m A | '06 | 25 |
| 19 | 69 m | 4 | por | elv | TS-1/CDDP | G3 | 28d | TG | - | - | 6m A | '06 | own case |

abbreviation : elv : elevated, wnl : within normal limit TG : total gastrectomy, DG : distal gastrectomy, P : pancreaticectomy, S : splenectomy, * : not described or confirmable L : hepatic tumor-enucleation remn : remnant A : alive D : dead ** : unrelated death

の例でも1コース終了時点で化学療法の効果が確認されており、TS-1/CDDP療法で著効が得られるような症例は比較的短期間で抗腫瘍効果が発現すると考えられた。藪崎ら¹³⁾は症例による抗腫瘍効果の差異は腫瘍の5-FUの分解酵素DPD (dihydropyrimidine dehydrogenase) の発現が関与していると述べており、5-FU系薬剤の効果発現は個体のDPDやTS (thymidilate synthase) などの薬物代謝酵素量により影響を受けると考えられる。したがって、化学療法施行前に容易に、これらの酵素量を測定できれば抗腫瘍効果が予測でき、薬剤の選択にも益する。早期の実用化を期待したい。

化学療法と手術施行との期間の議論もある。早期に抗腫瘍効果があった症例では長期間薬剤の副作用対策に苦慮した例に比べて、臓器機能や performance status を良好に維持して手術に移行でき、術後合併症も減らせると思われる。大佐古ら²⁶⁾は化学療法2日後に開腹手術を施行したが、術後にエンドトキシン血症になったと報告している。われわれの症例では化学療法終了後4週で手術を行い、術後合併症もなく経過した。化学療法による骨髄抑制、粘膜障害などの発生を考慮し、十分な術前検討を行い、手術時期を決定すべきと思われた。一方、化学療法有効例でも病巣の遺残や再燃の懸念を去るために切除術も選択肢の一つとして考慮すべきである。杉木ら²⁴⁾は化学療法著効例に癒痕性狭窄による通過障害が生じたと報告している。このような例にもQOLの向上の面から手術を検討すべきであろう。

有害事象は検索中4例にGrade 3の副作用がみられた。本症例もGrade 3の食欲不振が出現し、TS-1の減量を余儀なくされたが、その他には重篤な副作用はなく、2コースを完遂できた。TS-1/CDDP併用療法は奏効率も高く、現時点では有効な化学療法であるが、有害事象の発現はいずれの薬剤でも反復回数によって増加してくるため注意を要する。

進行4型胃癌の治療は外科的には制約があるが、化学療法の進歩とともに本症例のような組織学的効果Grade 3の報告も散見されるようになった。進行4型胃癌に対してはneoadjuvant chemotherapyあるいは術後補助療法、根治を目指しての化学療法が必要であろう。しかし現時点では進行4型胃癌に対しての決定的な治療方針はなく、外科手術に加えて化学療法剤の選択や投与量などについてもさらなる検討が望まれる。

文 献

- 1) 日本胃癌学会編：胃癌取扱い規約。第13版，金原出版，東京，1999
- 2) Ohtsu A, Boku N, Nagashima F, et al: A phase I/II study of S-1 plus cisplatin (CDDP) in patients with advanced gastric cancer. Proc ASCO 20:165a, 2001
- 3) 中村将人, 丸山憲太郎, 古川順康他：進行胃癌に対する術前化学療法としてTS-1/CDDP療法の使用経験。癌と化療 29:1823—1828, 2002
- 4) Sakata Y, Ohtsu A, Horikoshi N, et al: Late phase II study of novel fluoropyrimidine anticancer drug S-1 (1M tegafur —0.4M gimestat —1M otastat potassium) in advanced gastric cancer patients. Eur J Cancer 34:1715—1720, 1998
- 5) 辻 晃仁, 森田荘二郎, 堀見忠司他：手術不能進行および再発胃癌に対する低用量CDDP-5-FU療法の検討。癌と化療 26:933—938, 1999
- 6) Koizumi W, Tanabe S, Saigenji K: Phase I/II study of S-1 combined with cisplatin in patients with advanced gastric cancer. J Cancer 89:2207—2212, 2003
- 7) 岩瀬弘明：進行胃癌に対するS-1/CDDP併用療法。消化器科 36:384—390, 2003
- 8) 堀川雅人, 中辻直之, 杉原誠一他：術前化学療法(TS-1・CDDP併用療法)が著効した胃癌の1例。日臨外会誌 65:375—379, 2004
- 9) ニツ木浩一, 神田裕三, 島田定嘉他：FT-207坐薬とOK-432皮内注の併用により治癒した進行胃癌の1例—胃全摘(R3)による組織学的確認—。癌の臨 31:870—876, 1985
- 10) 中川内哲治, 湯ノ谷誠二, 中村光成他：術前Low Dose FP療法により癌細胞の消失をみたStage IV進行胃癌の1例。癌と化療 25:1955—1958, 1998
- 11) 久米修一, 岡村健二, 田辺大郎他：CPT-11+CDPP/5-FU療法が奏効した進行胃癌の1例。癌と化療 26:539—542, 1999
- 12) 出口義雄, 梨本 篤, 藪崎 裕他：TS-1によりCRの得られた残胃癌の1例。癌と化療 28:1449—1452, 2001
- 13) 藪崎 裕, 梨本 篤, 田中乙雄：術前化学療法にてCRが得られた大動脈周囲リンパ節転移を伴う

- 食道浸潤胃癌の 1 例. 癌と化療 29 : 119—123, 2002
- 14) 山本康弘, 紀野泰久, 小原 啓他 : TS-1術前投与にて CR を得た噴門部進行胃癌の 1 例. 癌と化療 31 : 569—583, 2004
- 15) 中野旦敬, 小泉英貴, 奥川 郁他 : 進行胃癌, 大腸癌に対する術前短期 S-1投与の有用性についての検討. 癌と化療 32 : 329—333, 2005
- 16) 塩入利一, 井上 暁, 草野智一他 : TS-1/CDDP 術前化学療法が著効した進行胃癌の 1 例. 癌と化療 32 : 1327—1330, 2005
- 17) 山田恭吾, 杉山 譲, 清野景好他 : TS-1/Low-Dose CDDP による術前化学療法が有効であった進行胃癌の 1 例. 癌と化療 14 : 2575—2578, 1987
- 18) 横田哲夫, 竹原紀秀, 依光幸夫他 : 術前化学療法により消失した Borrmann 2型進行胃癌の 1 例. 癌と化療 14 : 2575—2578, 1987
- 19) 上杉秀永, 安海義曜, 西元寺克禮他 : テガフルーウラシル配合剤 (UFT) の術前投与が著効した Borrmann 2型進行胃癌の 1 手術例. 癌の臨 35 : 963—969, 1989
- 20) 水本正剛, 大植雅之, 高見康二他 : 免疫化学療法により治癒した高齢者進行胃癌の 1 例. 癌の臨 35 : 1791—1794, 1989
- 21) 加藤真史, 木下一夫, 沢 敏治他 : 高度進行胃癌に対する Neoadjuvant Chemotherapy の検討. 癌と化療 17 : 391—396, 1990
- 22) 城島嘉昭, 河野孝志, 沢野 誠他 : Tegafur 術前投与の 1 切除例. 癌と化療 21 : 1275—1278, 1994
- 23) 下間正隆, 竹中 温, 柿原直樹他 : 当科における Stage IV胃癌治療の現況. 京府医大誌 113 : 627—633, 2004
- 24) 杉本貴章, 井上達夫, 梁取絵美子他 : TS-1/CDDP 併用療法にて長期 CR を維持し, 切除にて病巣消失を確認された進行胃癌の 1 例. 日消外会誌 39 : 38—43, 2006
- 25) 土屋康紀, 梨本 篤, 中川 悟他 : TS-1+CDDP 療法 1 コースにて CR になった進行胃癌の 1 例. 癌と化療 33 : 807—809, 2006
- 26) 大佐古智文, 岡村健二, 井上克彦他 : 新規経口抗癌剤 TS-1が奏効しえた進行胃癌の 3 例. 癌と化療 28 : 677—683, 2001

A CASE OF FAR ADVANCED GASTRIC CANCER OF TYPE 4 TREATED WITH TS-1/CDDP RESULTING IN CHEMOTHERAPY EFFICACY OF GRADE 3

Takeshi SUDA, Yu TAKAGI, So KATAYANAGI, Sumito HOSHINO,
Hiromi SERIZAWA*, Akihiko TSUCHIDA and Tatsuya AOKI

Third Department of Surgery and Department of Diagnostic Pathology*, Tokyo Medical University

A 69-year-old man was admitted to the hospital for stiffness of the gastric wall pointed out on upper G-I series. Endoscopic examination showed irregular folds and stiffness of the wall from the upper corpus to the antrum. Poorly differentiated adenocarcinoma was detected in the biopsy specimens. Direct invasion to pancreas was suspected by enhanced CT scanning. Since a curative operation was not feasible, a combination chemotherapy of TS-1/CDDP was selected to be repeated (TS-1 ; 120 mg/body at day 1~21 and CDDP ; 90 mg/body at day 8 and an interval of 2 weeks, afterwards). As the adverse effects appeared soon, TS-1 was reduced to 100 mg/body and the interval period was postponed for three weeks. The first cycle was then satisfactorily performed. Gastric endoscopy after the second cycle showed only scar-like lesions with convergent folds. Malignant cells were not detected in the biopsy specimens. The invasion to pancreas disappeared in CT scanning. At this time, the patient strongly insisted on surgery, so total gastrectomy with lymph node dissection (D2) was performed. Neither hepatic metastasis, nor peritoneal dissemination was observed on laparotomy. Histologically, the gastric lesion was replaced by fibrosis in which xanthogranulomas suggesting degenerated tumor tissue were scattered. No viable malignant cells were detected anywhere either in gastric wall or regional lymphnodes. Final chemotherapy efficacy was evaluated as Grade 3.

Therefore, it is considered that the chemotherapy using TS-1/CDDP is hopeful to the far advanced gastric cancer and further results would be expected by changing the doses or combination of the drugs.

尾側膵切除の膵切離法

—アンケート調査の結果から—

青木 達哉* 土田 明彦*² 小澤 隆*²
永川 裕一*² 粕谷 和彦*² 齋藤 準*²

はじめに

近年、診断技術の向上とともに、さまざまな膵疾患に対して尾側膵切除を行う機会が増しているが、手術手技や種々の切離器具の発達にもかかわらず、膵液瘻を中心とした術後合併症は依然として高率に発生している。このため、2006年5月12日に開催した第33回日本膵切研究会において、「尾側膵切除の切離方法と合併症対策」をメインテーマとして取り上げ、主として膵液瘻をいかにして防止するかを討論した。この際の基礎資料として、事前に日本膵切研究会の施設会員を対象としたアンケート調査を行い、我が国における尾側膵切除の現況をまとめたので、その内容を概説する。

I. アンケート方法

日本膵切研究会の施設会員に登録されている156病院に対して、アンケート調査を依頼した。2001年1月～2005年12月の5年間に実施された尾側膵切除を対象とし、疾患名、術者の人数・経験年数、術式（開腹、腹腔鏡下）、切離方法、切離線、主膵管の処理方法、分枝膵管の処理方

* Tatsuya AOKI 東京医科大学第3外科 主任教授

*² Akihiko TSUCHIDA 同外科

key words : 尾側膵切除, 膵液瘻, アンケート調査

法、膵断端の処理方法、周術期管理（抗菌薬、蛋白分解阻害薬、ソマトスタチンアナログ）、腹腔ドレーンの留置方法、合併症の発生件数、膵液瘻の診断根拠、膵液瘻の治療方法について回答を得た。これらを施設別あるいは症例別に集計し、とくに膵液瘻との関連について検討を行った。主な集計結果を以下に示す。

II. アンケート結果

1. 集計結果の概要

施設会員153のうち78施設から回答があった（アンケート回収率：約51%）。総症例数は2,033例であり、良性疾患は653例、悪性疾患は1,380例であった（表1）。疾患の内訳をその比率で示すと、良性ではIPMA：27%、嚢胞腺腫：23%、慢性膵炎：16%、内分泌腫瘍：14%などの順に多く、悪性では浸潤性膵管癌：52%、胃癌からの浸潤：25%、IPMC：9%などの順であった（表1）。施設ごとの術者の人数は、5人以上の施設の比率は全体の48%であり、ついで3人：27%、2人：11%、4人：10%、1人：4%であった。また、術者の経験年数に関しては、15年以上の経験を有する者は全体の43%であり、ついで12～15年：29%、8～12年：18%、5～8年：7%、5年未満：3%の順であった。

手術術式は、開腹手術のみが56施設、1972症例であり、腹腔鏡下手術は22施設、61例に行われていた（表1）。腹腔鏡下手術の適応とし

表 1 症数, 術式, 切離方法

| 項目 | 施設数 or 症例数 | | |
|------------------|-------------|-------|-----|
| | (施設) | (例) | (%) |
| 施設数 | 153 | | |
| アンケート回答数 | 78(回収率 51%) | | |
| 全症数 | 2,033 | | |
| 良性疾患 | 653 | | |
| IPMA | 177 | | 27 |
| 嚢胞腺腫 | 150 | | 23 |
| 慢性膵炎 | 103 | | 16 |
| 内分泌腫瘍 | 91 | | 14 |
| その他の膵腫瘍 | 75 | | 11 |
| 外傷 | 11 | | 2 |
| その他 | 46 | | 7 |
| 悪性疾患 | 1,380 | | |
| 浸潤性膵管癌 | 730 | 53 | |
| 胃癌からの浸潤 | 339 | 25 | |
| IPMC | 119 | 9 | |
| その他の膵腫瘍 | 73 | 5 | |
| 嚢胞腺癌 | 43 | 3 | |
| 副腎, 腎腫瘍からの浸潤 | 21 | 2 | |
| その他 | 55 | 4 | |
| 手術術式 | | | |
| 開腹手術 | 56 | 1,972 | |
| 腹腔鏡下手術 | 22 | 61 | |
| 切離方法 | | | |
| メス | 20 | | 24 |
| メス, 電気メス | 10 | | 12 |
| メス, 電気メス, ハーモニック | 8 | | 10 |
| メス, ハーモニック | 5 | | 6 |
| ハーモニック | 4 | | 5 |
| 電気メス, ハーモニック | 5 | | 6 |
| 電気メス | 6 | | 8 |
| 自動縫合器, 電気メス | 7 | | 9 |
| 自動縫合器 | 4 | | 5 |
| 超音波メス | 3 | | 4 |
| メス, 超音波メス | 2 | | 3 |
| その他 | 6 | | 8 |

では, 90%の施設で良性疾患を適応と考えており, ついで良悪性の境界病変: 64%, 内分泌腫瘍: 64%, IPMT: 50%, MCT・SCT: 50%, 慢性膵炎: 22%, 早期膵管癌: 5%などの順であった。

膵の切離方法はきわめて多様であり, メスのみ: 24%, メスと電気メス: 12%, メスと電気メスとハーモニックスカルペル (以下, ハーモニック): 10%, 自動縫合器と電気メス: 9%,

表 2 術後合併症と膵液瘻の診断根拠

| 項目 | 施設数 or 症例数の比率 (%) | |
|---------------|-------------------|-----|
| | (%) | (%) |
| 術後合併症 | (%は症例数の比率) | |
| 膵液瘻 | 16.1 | |
| 開腹手術 (良性疾患) | 18.3 | |
| 開腹手術 (悪性疾患) | 15.4 | |
| 腹腔鏡下手術 | 11.5 | |
| 耐糖能障害 | 10.5 | |
| 腹腔内膿瘍 | 8.4 | |
| 仮性嚢胞 | 4.3 | |
| 急性膵炎 | 0.4 | |
| 消化吸収障害 | 2.1 | |
| 膵液瘻の診断根拠 | (%は施設数の比率) | |
| 排液のアミラーゼ値 | 91 | |
| 1,000 単位以上 | 21 | |
| 5,000 単位以上 | 17 | |
| 1 万単位以上 | 21 | |
| 血清アミラーゼの 3 倍 | 10 | |
| 血清アミラーゼの 10 倍 | 3 | |
| その他 | 12 | |
| 排液の性状と量 | 77 | |
| 膵液の特有な臭い | 32 | |
| 皮膚のびらん | 53 | |

電気メスのみ: 8%などの順であった (注: 各%は施設数の比率を示す)。主膵管の処理方法は, 一重結紮: 28%, 二重結紮: 28%, 主膵管周囲の縫合のみ: 10%などであった。分枝膵管の処理方法は, 露出した分枝膵管のみを処理: 42%, 無処置: 38%, フィブリン糊などを使用: 16%などの順であった。膵断端の処理方法は, マットレス縫合: 38%, 止血のみ: 26%, 結節縫合: 24%などの順であった。蛋白分解酵素阻害剤の

表3 良性疾患における膵液瘻の発生

| 項目 | 因子 | 症例数 (例) | 膵液瘻 発生率(%) | p 値 |
|--------------|--------------|------------|---------------|----------|
| 切離方法 | メス or 電気メス | 308 | 10.4 | p < 0.01 |
| | 上記以外 | 289 | 25.3 | |
| | ハーモニックスカルペル | 265 | 25.3 | p < 0.01 |
| | 上記以外 | 332 | 11.4 | |
| | 超音波メス (CUSA) | 45 | 22.2 | NS |
| | 上記以外 | 547 | 17.4 | |
| 切離線 | 上腸間膜静脈 | 29 | 17.2 | NS |
| | 上記以外 | 568 | 17.6 | |
| 膵臓の 切り方 | 直線的に切除 | 393 | 20.1 | NS |
| | 魚口形 or 楔状 | 175 | 14.3 | |
| 主膵管の 切り方 | 膵とともに一気に切る | 171 | 19.3 | NS |
| | 主膵管を別に切る | 400 | 17.9 | |
| 主膵管の 処理法 | 一重結紮 | 136 | 20.6 | NS |
| | 二重結紮 | 181 | 14.4 | |
| 主膵管の 処理法 | 巾着縫合あり | 144 | 20.8 | NS |
| | 巾着縫合なし | 453 | 16.6 | |
| 分枝膵管 の処理法 | 無処理 | 207 | 22.7 | NS |
| | 分枝膵管を結紮 | 163 | 17.2 | |
| | フィブリン糊 | 43 | 16.3 | |
| 膵断端の 処理法 | 止血のみ | 112 | 24.1 | NS |
| | 結節縫合 | 249 | 18.5 | |
| | マットレス縫合 | 24 | 15.7 | |
| 膵断端の 追加処理 | フィブリン糊+大網固定 | 32 | 12.5 | NS |
| | フィブリン糊 | 159 | 16.4 | |
| | 大網固定 | 33 | 18.2 | |
| | 無処理 | 344 | 19.8 | |

NS: not significant

使用に関しては、術後のみ:48%、使用しない:38%、術中・術後:12%などの順であった。腹腔ドレーンの留置方式は、閉鎖式:70%、開放式:17%、両者:13%であり、留置部位は膵断端と左横隔膜下:79%、膵断端のみ:15%、左横隔膜下のみ:6%であった。

術後合併症の発生率は、膵液瘻:16.1%、耐糖能障害:10.5%、腹腔内膿瘍:8.4%などの順であった(表2)。膵液瘻の診断根拠に関しては、ドレーン排液のアミラーゼ値:91%、排液の性状と量:77%、皮膚のびらん:53%、膵液の特有な臭い:32%であった。このうち、ドレーン排液のアミラーゼ値については、1,000単位以上:21%、10,000単位以上:21%、5,000単位以

上:17%、血清アミラーゼ値の3倍以上:10%などであり、施設によって基準が大幅に異なっていた(表2)。膵液瘻の治療は、禁食・高カロリー:50施設、腹腔ドレーンの洗浄:45施設、蛋白分解酵素阻害剤:38施設、ソマトスタチンアナログ:38施設などであった。

III. 膵液瘻の概要

前述のように、膵液瘻は全2,033例中の328例(16.1%)にみられた。術式別では開腹手術(良性疾患):18.3%、開腹手術(悪性疾患):15.4%、腹腔鏡下手術:11.5%であり、腹腔鏡下手術より開腹手術で若干多かったが、統計学的

表 4 悪性疾患における脾液瘻の発生

| 項目 | 因子 | 症例数 (例) | 脾液瘻 発生率 (%) | p 値 |
|--------------|--------------|------------|----------------|----------|
| 切離方法 | メス or 電気メス | 778 | 12.5 | p < 0.01 |
| | 上記以外 | 516 | 19.8 | |
| | ハーモニックスカルペル | 442 | 20.4 | p < 0.01 |
| | 上記以外 | 852 | 12.8 | |
| | 超音波メス (CUSA) | 93 | 19.4 | NS |
| 上記以外 | 1,201 | 15.1 | | |
| 切離線 | 上腸間膜静脈 | 700 | 13.6 | p < 0.05 |
| | 上記以外 | 594 | 17.5 | |
| 脾臓の 切り方 | 直線的に切除 | 843 | 14.2 | NS |
| | 魚口形 or 楔状 | 384 | 18.8 | |
| 主脾管の 切り方 | 脾とともに一気に切る | 415 | 14.9 | NS |
| | 主脾管を別に切る | 858 | 15.9 | |
| 主脾管の 処理法 | 一重結紮 | 424 | 17.2 | NS |
| | 二重結紮 | 445 | 15.2 | |
| 主脾管の 処理法 | 巾着縫合あり | 263 | 15.2 | NS |
| | 巾着縫合なし | 1,031 | 15.4 | |
| 分枝脾管 の処理法 | 無処理 | 441 | 16.3 | NS |
| | 分枝脾管を結紮 | 417 | 16.5 | |
| | フィブリン糊 | 121 | 20.7 | |
| 脾断端の 処理法 | 止血のみ | 282 | 14.2 | NS |
| | 結節縫合 | 499 | 17.6 | |
| | マットレス縫合 | 42 | 12.4 | |
| 脾断端の 追加処理 | フィブリン糊+大網固定 | 87 | 28.7 | p < 0.01 |
| | フィブリン糊 | 369 | 14.1 | |
| | 大網固定 | 75 | 12.0 | |
| | 無処理 | 708 | 14.7 | |

NS : not significant

有意差は認めなかった (表 2)。また、症例数別にみた脾液瘻の発生率は、5年間の症例数が40例以上の施設では15.1%であり、ついで20~39例:16.2%, 20例未満:18.0%であった。術者の人数別にみた脾液瘻の発生率は、術者が5人以上の施設では16.1%であり、ついで4人:16.9%, 3人:15.4%, 2人:21.4%, 1人:2.7%であった。また、術者の経験年数別では、15年以上:15.4%, 12~15年:14.9%, 8~12年:16.2%, 5~8年:19.6%, 5年未満:18.1%であった。これらはいずれも統計学的有意差を認めなかった。

脾の良性疾患と悪性疾患に対する手術手技は、脾動静脈などの血管処理の方法、脾切離線

の選択、リンパ節郭清の有無など、いくつかの点で異なるため、脾液瘻の発生に及ぼす影響に相違があると考え、良性疾患と悪性疾患に分けて検討を行った。良性疾患における脾液瘻の発生に関しては (表 3)、“メスあるいは電気メスのみ”とそれ以外 (ハーモニックスカルペル、超音波メス、自動縫合器などを使用) を比べると、メスあるいは電気メスのみのほうが有意に脾液瘻の発生が低かった (p < 0.01)。また、ハーモニックスカルペルを使用した症例とそれ以外を比べると、ハーモニックスカルペルを使用しない症例のほうが有意に脾液瘻の発生が低かった (p < 0.01)。これ以外の脾切離に関する項目においては、いずれも統計学的有意差を認めなかった。一方、悪性疾患に関し

表 5 自動縫合器と臍液瘻

| 項目 | 施設数 or 症例数 | 臍液瘻 (%) | p 値 |
|---------------------|-------------|---------|-----|
| 使用機種 | (%は施設数の比率) | | |
| EndoGIA, EndoCutter | 36% | | |
| GIA, LinearCutter | 32% | | |
| TA | 18% | | |
| TL | 18% | | |
| 自動縫合器の使用有無と臍液瘻の発生率 | | | |
| 自動縫合器の使用 (+) | 24/142 例 | 16.9 | NS |
| 自動縫合器の使用 (-) | 304/1,891 例 | 16.1 | |
| 縫合器の機種と臍液瘻の発生率 | (症例数) | | |
| GIA, LinearCutter | 23 例 | 21.7 | NS |
| EndoGIA, EndoCutter | 41 例 | 17.1 | |
| TL | 62 例 | 11.3 | |
| TA | 23 例 | 4.3 | |

NS : not significant

表 6 薬剤・腹腔ドレーンと臍液瘻

| 項目 | 症例数 (例) | 臍液瘻 (%) | p 値 |
|--------------|---------|---------|----------|
| 抗菌薬の投与時期 | | | |
| 術前・術中・術後 | 663 | 15.2 | NS |
| 術前・術後 | 263 | 20.2 | |
| 術中・術後 | 932 | 16.4 | |
| 蛋白分解酵素阻害剤の投与 | | | |
| 投与する | 1,196 | 13.5 | p < 0.01 |
| 投与しない | 758 | 20.3 | |
| 腹腔ドレーンの持続吸引 | | | |
| 持続吸引をする | 256 | 13.7 | NS |
| 持続吸引をしない | 1,582 | 16.7 | |

NS : not significant

では (表 4), 良性疾患と同じく, メスあるいは電気メスのみ, および, ハーモニックを使用しない症例のほうが有意に臍液瘻の発生が低かった (それぞれ $p < 0.01$)。また, 悪性疾患では, これらのほかに, 切離線が上腸間膜静脈で切離したほうが, これ以外で切離した場合より, 有意に臍液瘻の発生が低かった ($p < 0.05$)。さらに, 臍断端の追加処理に関しては, フィブリン糊 + 大網固定は他の因子に比べて, 有意に臍液瘻の発生が高かった ($p < 0.01$)。これら以外の項目に関しては, いずれも統計学的有意差を認めなかった。

自動縫合器は, 全体の約 14% の施設 (142 例) で使用されているが, 使用された症例と使用されなかった症例の臍液瘻の発生率は, それぞれ 16.9, 16.1% とほぼ同じで, 統計学的有意差を認めなかった (表 5)。また, 使用機種別の臍液瘻の発生率は, GIA・LinearCutter, EndoGIA・EndoCutter, TL, TA の順に低くなっていたが, 統計学的有意差を認めなかった (表 5)。

周術期の抗菌薬の使用に関しては, その投与時期と臍液瘻の発生に統計学的有意差を認めなかった (表 6)。一方, 術中・術後に蛋白分解酵素阻害剤を投与した症例の臍液瘻は 13.5%, 投

与しない症例では 20.3%であり、両者の間に統計学的有意差を認めた。腹腔ドレーンに関しては、持続吸引を行った症例と行わなかった症例の膵液瘻の発生率はほぼ同じで、有意差を認めなかった。

IV. まとめ

今回のアンケート調査結果は、日本膵切研究会の施設会員 78 施設における過去 5 年間の 2033 例を retrospective に検討したものである。尾側膵切除でもっとも問題となる膵液瘻の発生は全体の 16.1%の症例でみられ、開腹手術と腹腔鏡下手術で有意差を認めなかった。アンケート項目のなかで、膵液瘻の発生に統計学的有意差を認めたものは、良性疾患・悪性疾患における切離方法、悪性疾患における切離線と膵断端の追加処理、術後の蛋白分解酵素阻害剤の投与であった。このうち、切離方法に関しては、従来のメス・電気メスに加えて、近年、超音波凝固切開装置（ハーモニクスカルペル）、超音波メス（CUSA）、自動縫合器などが応用されており、膵液瘻の予防に有効であったとの報告と有効でなかったとの報告がある¹⁾²⁾。一方、今回のアンケート調査では、これらの器具を使用せずに、メス・電気メスで単純に切離したほうが、膵液瘻の発生が有意に低下していた。

今回のアンケート調査で明らかになったこと

は、膵の切離だけでもさまざまな方法が行われており、これに主膵管の処理方法、分枝膵管の処理方法、膵断端の処理方法、膵断端の追加処理などを加えると、きわめて多様な尾側膵切除が行われているが、これらを単純に比較して優劣を決めることは困難である。とくに問題となるのは、施設によって異なる膵液瘻の診断根拠であり、これを統一しないと真の意味での科学的解析を行うことは不可能である。

尾側膵切除における膵液瘻の発生をできるかぎり少なくするためには、科学的根拠に基づいた randomized controlled study (RCT) が必要である。今後は、日本膵切研究会などがリーダーシップを発揮して、統一した膵液瘻の診断基準を作成し、全国規模の RCT を行うことが必要である。

文 献

- 1) Kuroki T et al : Surgical management for the prevention of pancreatic fistula following distal pancreatectomy. J Hepatobiliary Pancreat Surg 12 : 283-285, 2005
- 2) Okanayashi T et al : Postoperative pancreatic fistula following distal pancreatectomy for pancreatic neoplasm ; can pancreatic fistula be prevented? Hepatogastroenterol 51 : 1838-1841, 2004

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| * | * | * | * | * |
| | * | * | * | |
| | | * | | |

移植免疫寛容における Ras 経路の関与

榎原克典 土田明彦 青木達哉

東京医科大学外科学第三講座

移植免疫寛容における Ras 経路の関与

植原 克典 土田 明彦 青木 達哉

東京医科大学外科学第三講座

【要旨】 自然免疫寛容が成立するラット肝移植モデル (DA ドナー-PVG レシピエント) を用い、同種異系移植肝、同種同系移植肝、DA 肝の各肝臓から RNA を抽出し、遺伝子発現とタンパク質発現の解析を行った。各群での発現に差を認めたものは、IFN-gamma、IL-10、Thbs1、HO-1、IQGAP1、HSP70 であった。Thbs1、HO-1、IQGAP1 は異系移植後早期の発現が最も強く以後低下した。HSP70 は異系移植術後 14 日目まで発現が増加し以後低下した。IFN-gamma は異系移植後早期の発現が最も強く以後低下した。IL-10 は異系移植後早期に強く発現し以後低下し術後 20 日から一定を保った。発現に差を認めた Thbs1、HO-1、IQGAP1、HSP70 などは、T-cell 内部の Ras 経路を調節する作用を持つものであり、移植免疫寛容の誘導に関与している可能性が示唆され、新しい免疫抑制剤の分子標的になり得るものと考えられた。

はじめに

近年、わが国においても、臓器移植は種々の臓器不全などに対する根治療法として定着しつつある。治療成績が飛躍的に向上した最も大きな理由として優れた免疫抑制剤の開発が挙げられる。しかしながら、これらの免疫抑制剤は種々の副作用を伴うため、しばしば術後管理に難渋することがある。

治療成績を向上するための新しい治療戦略として、移植臓器に対してドナー特異的な免疫寛容を誘導することは、移植医療における理想の姿であり、実験的には、ラット同種異系肝移植の一部で免疫寛容を誘導する系が存在する¹⁾²⁾。しかしながら、免疫寛容のメカニズムに関しては未だ不明の点があり、これらを解明することによって、ドナー特異的な免疫寛容を臨床応用することができるものとする。

ラット同種異系肝移植において、免疫寛容を誘導する組み合わせとして DA ラットと PVG ラットが知られている。この移植モデルでは術後の平均生存期間が 100 日以上との報告がある¹⁾²⁾。本研究では、このモデ

ルを用いて、サイトカインと T-cell 内部のシグナル伝達物質を遺伝子発現・タンパク質発現で解析し、免疫寛容に関与する因子の検討を行った。

研究材料および方法

1. 実験動物

ドナーとして雄性 DA ラット (SLC、静岡、生後 60 日～90 日、体重 200～250 g) を使用し、レシピエントに雄性 PVG ラット (セアック吉富、福岡、生後 60 日～90 日、体重 200～250 g) を使用した。国立成育医療センター動物実験指針に基づき実験を行った。

2. ラット肝移植と検体採取

移植法は、同所性肝移植で、肝動脈は結紮切離、肝上部の下大静脈は吻合、肝下部の下大静脈と門脈はカフ法、胆管はステント法で再建した³⁾。

ドナー-DA ラット肝をレシピエント PVG ラットへの同種異系肝移植を行った。移植後 4 日、8 日、14 日、20 日、61 日目に移植肝をそれぞれ摘出して検体とした。対照として、ドナー-DA ラット肝をレシピエント DA ラットへの同種同系肝移植の移植後 20 日目の移

2006 年 11 月 29 日受付、2006 年 12 月 6 日受理

キーワード：臓器移植、免疫寛容、T-cell、Ras 経路

(別冊請求先：〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1 土田 明彦)

植肝と、DA ラット肝 (無手術) を検体とした。摘出した検体は、摘出直後より液体窒素で冷却保存した。免疫抑制剤を含め薬物の投与は一切行わなかった。

3. 免疫関連遺伝子の発現測定

主要組織抗原 (以下 MHC) の Rat MHC ClaasII、リンホカインとして、Interferon gamma receptor (以下 IFN-gamma)、Interleukin-10 (以下 IL-10)⁴⁾ T-cell 内のシグナル伝達系の指標として Thrombospondin 1 (以下 Thbs1)、Heme oxygenase gene 1 (以下 HO-1)、IQ motif containing GTPase activating protein 1 (以下 IQGAP1)、Heat shock protein 70 (以下 HSP70) の発現を RT-PCR で測定した。なお陽性コントロールには、GAPDH を使用した。

凍結検体から Isogen (Nippon Gene, Tokyo, Japan) を使用し RNA を抽出した。Oligo dt (Invitrogen, Carlsbad, USA), SuperscriptII Buffer (Invitrogen, Carlsbad, USA), 0.1M DTT (Invitrogen, Carlsbad, USA), BSA (Invitrogen, Carlsbad, USA), 10 mM dNTP Mix (Invitrogen, Carlsbad, USA), RNase A (Nippon Gene, Tokyo, Japan) などを使用し逆転写し cDNA を合成した。

Oligo primer analysis software Ver.6.6, NB100 (TAKARA BIO, Ootsu, Japan) を使用してプライマーの設計を行った。今回新たに設計したプライマーは以下の如くであり、各プライマーの配列と PCR のサイクル数は以下の通りである。

Thbs1: forward プライマー; GGGCTCAACT-CTACATAGACTGT、reverse プライマー; TCTCTGTTCTCTTCCGTCCTT、35 サイクル。
HO-1: forward プライマー; CGCCATCTTG-GTAATGCT、reverse プライマー; TGAGACCC-GATCTAGTAACCT、40 サイクル。
IQGAP1: forward プライマー; GAGGAGCATGAGCGGATTT、reverse プライマー; CAACATCGGGAGAAC-GTAGG、32 サイクル。
HSP70: forward プライマー; ATTAACCTCCTTCGTTCCGGTC、reverse プライマー; CCCGAGCTCCTGACTTAACA、35 サイクル。

4. タンパク質発現測定

PCR の結果で差が生じたもののうち一部、HO-1 と、Ras 経路の活性化の指標としてリン酸化 ERK のタンパク質発現を測定した。陽性コントロールとして tubulin を使用した。

Triton X を使用して肝組織を可溶化し、タンパク質

を抽出した。SDS バッファーを使用し泳動後、メンブレンに転写した。1次抗体は、mouse anti-heme-oxygenase-1 monoclonal antibody (Stressgen, Victoria, Canada), monoclonal anti-MAP kinase activated/monophosphorylated (Phosphothreonine ERK-1&2) (SIGMA ALDRICH, Saint Louis, USA) を使用。2次抗体は、Antibody Horseradish Peroxidase Conjugates (BioSource International, Camarillo, USA) を使用した。発色には ECL (Amershambiosciences, Little chalfont, UK) を使用し、撮影は LAS-1000plus (Fuji Film, Tokyo, Japan) で行った。

結 果

1. 免疫関連遺伝子の発現 (Fig. 1)

Rat MHC ClaasII は、正常肝で発現せず、同系移植肝では3検体中2検体が軽度発現した。異系移植肝では、術直後からほぼ一定の発現を示した。

IFN-gamma は、正常肝と同系移植肝で各3検体の内1検体がやや強く発現した。異系移植肝で、発現は経時的に低下傾向を示した。異系移植肝の61日目の発現程度は正常肝と同等以下であった。

IL-10 は、正常肝で発現を認めず、同系移植肝では3検体の内1つが強く発現した。異系移植肝は早期の発現が最も強く、経時的に低下傾向を示し、術後20日以後はほぼ一定の発現を保った。

2. T-cell 細胞内シグナルの発現 (Fig. 2)

Thbs1 は、正常肝では3検体の内1検体で軽度発現を認めた。同系移植肝では3検体の内1検体がやや強く発現した。異系移植肝では、早期の発現が最も強く、経時的に発現が低下した。異系移植肝の術後61日目の発現は、正常肝で軽度発現を認めたものと同程度であった。

HO-1 は、正常肝で発現し、同系移植肝では3検体の内1検体が強く発現した。異系移植肝の早期の発現が最も強く、経時的に発現が低下した。

IQGAP1 は、正常肝で軽度発現し、同系移植肝で、発現程度は3検体とも異なった。異系移植肝で発現は、早期が最も強く、経時的に発現が低下し維持された。

HSP70 は正常肝で発現を認め、同系移植肝では、正常肝よりやや強く発現した。異系移植肝で、発現は14日目まで一時増加し、やや低下し維持された。

3. タンパク質発現 (Fig. 3)

HO-1 は異系移植の早期の4日目、8日目の検体のみ HO-1 タンパク質の発現を確認した。

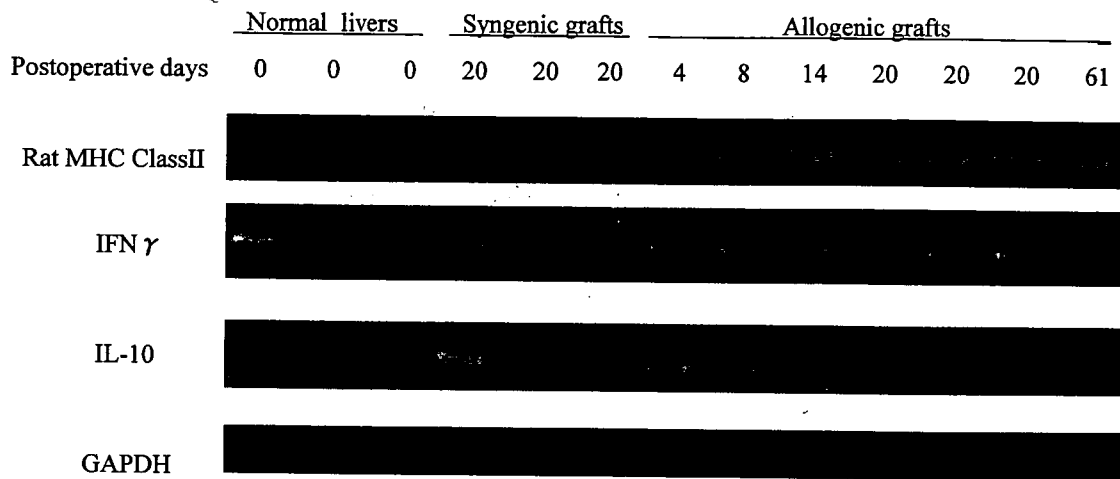


Fig. 1 RT-PCR profile of genes involved in transplantation immune response. Samples were taken from normal DA livers ($n=3$), syngenic grafts on day 20 ($n=3$), allogenic grafts on days 4, 8, 14, 20 ($n=3$), 61. PCR reactive cycle: MHC class II: 35, IFN-gamma: 35, IL-10: 27, GAPDH: 35.

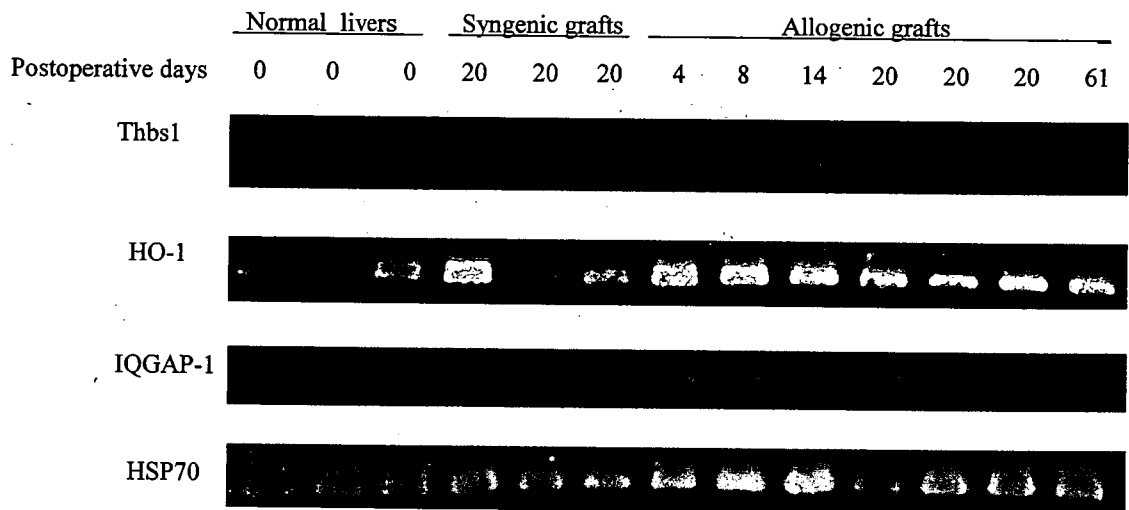


Fig. 2 RT-PCR profile of genes involved in transplantation immune response. Samples were taken from normal DA livers ($n=3$), syngenic grafts on day 20 ($n=3$), allogenic grafts on days 4, 8, 14, 20 ($n=3$), 61. PCR reactive cycle: Thbs1: 35, HO-1: 40, IQGAP-1: 32, HSP70: 35.

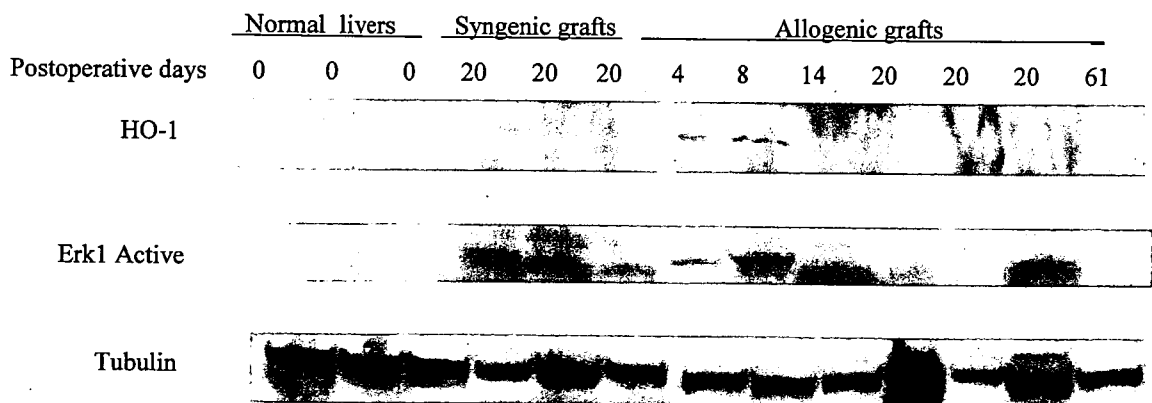


Fig. 3 Western blotting profile of genes involved in transplantation immune response. Samples were taken from normal DA livers ($n=3$), syngenic grafts on day 20 ($n=3$), allogenic grafts on days 4, 8, 14, 20 ($n=3$), 61.

リン酸化 ERK は、異系移植の早期の4日目、8日目の検体にのみタンパク質の発現を確認した。

考 察

肝臓移植は他臓器の移植と比較して免疫寛容が得られやすく⁴⁾、臨床的に免疫抑制剤の離脱も試みられているが⁵⁾、動物実験ではラット DA ドナーから PVG レシピエントの系において自然免疫寛容が成立することが知られている¹²⁾。移植における急性拒絶反応の主体は T-cell による細胞性免疫であり、各種抗原提示細胞の表面に発現しているペプチドと MHC が結合し、これらと T-cell の表面レセプター (以下 TCR) が結合し T-cell が活性化する。T-cell のうち、CD4 は MHC class II などと結合し活性化され Th1 と Th2 に分化増殖する⁶⁾。Th1/Th2 の各細胞は、Th1 は主に感染免疫、Th2 は主に自己免疫に関与するとされているが、単純に分類できず複雑に関与している。Th2 細胞の分化には Lck のキナーゼ活性と Ras 経路の強い活性化が必要であり、Ras 活性の抑制で Th2 への分化抑制が確認されている。Th1、Th2 の活性化で主に産出されるリンホカインは、Th1 が IFN-gamma、IL-2 などであり、Th2 が IL-4、IL-5、IL-10 などである⁶⁾。Kobayashi らは⁹⁾、一代交雑を利用した小腸移植の系で免疫応答があった後、移植術後 21 日目に IL-2 活性が低下しているが他のリンパ球は動作していることを報告しており、これを参考に今回術後 20 日を主に標本採取を行った。

T-cell 細胞内シグナルとして、TCR が MHC Class II などと結合してからの細胞内部の経路は主に、Calcineurin 経路、Ras 経路である。現在実用化されている Tacrolimus、Cyclosporin など移植免疫抑制剤は Calcineurin 経路の作用を抑制する⁹⁾ (Fig. 4)。一方、炎症、血管新生、ストレス応答など様々に関与しているとされる MAPK 経路は古典的経路、ストレス応答性経路など様々な経路が確認されており、Ras 経路は古典的 MAPK 経路と同一である¹⁰⁾。また Fig. 4 の Calcineurin 経路、Ras 経路以外の第 3 の経路も MAPK 経路の一つである。

腎移植では、移植後 15 年以上のヒト末梢血リンパ球から分離した RNA をもとに変化した遺伝子を解析している報告がある¹²⁾。この中で Calcineurin の増加が認められたにもかかわらず IL-2 などが増加せず、Ras を含む MAPK 経路を抑制する hVH-5 の増加が確認されている。そこで、我々は Ras 経路抑制の物質

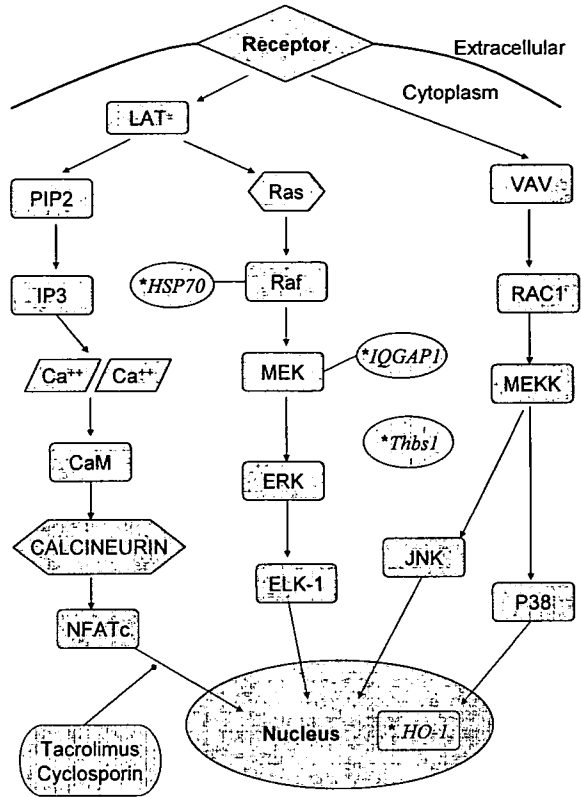


Fig. 4 T-cell activation cascade²²⁾²³⁾
 *Genes examined in the present study. SP70 and Thbs1 adjust the Ras pathway. However, the mechanism is not clear.

の検討を行い、Thbs1、IQGAP1、HSP70 を対象とした。また HO-1 は、Ras 経路をブロックして T-cell の活性化を抑制していると報告がありこれも検討の対象とした¹³⁾。

Rat MHC ClassII は異系移植でほぼ一定の発現をしていた。IFN-gamma は異系移植の早期に強く発現し、術後 61 日目には、正常肝と同等以下まで発現低下した。また IL-10 は、正常肝では発現を認めず、異系移植肝では早期の発現が強く認められ、その後経時的に低下し、術後 20 日以降はほぼ一定の発現を保っていた。主に IFN-gamma は促進的作用、IL-10 が抑制的作用ということを考えて、異系移植で Rat MHC ClassII がほぼ一定の発現を呈し、T-cell に対する移植免疫活性化への刺激は常にあったと考えられ、IFN-gamma は持続的に低下し、IL-10 が一定の発現を示したことから、手術直後に急性拒絶反応が生じたが継続的に抑制的作用が働いていると考えられた。

Thbs-1 は Ras 経路で活性化し、止血、創傷修復、および他の炎症反応の間、機能を営むとともに¹⁴⁾、T-cell の活性調節も行っていると報告される¹⁵⁾。一方、異系

移植の早期では最も発現が強く、異系移植 20 日目以後一定の発現をしていた。異系移植では、創傷治癒作用のみでなく T-cell の活性調節をしていると考えられた。

HO-1 は肝内で細胞保護に関与している¹⁶⁻¹⁸⁾。手術後の各種侵襲を抑制することに大きく関与し、移植時に生じる虚血再還流障害と関連が強いと考えられる。実際、本研究で HO-1 は異系移植の術後早期のみタンパク質発現を確認した。しかし、術後 20 日目の PCR 結果を比較した場合、発現の程度が異系移植の場合が同系移植と比較して強い。HO-1 は免疫抑制作用があり Ras 経路をブロックして T-cell の活性化を抑制していると報告があり¹⁹⁾、HO-1 の増加が術後障害のみに対応するものではなく、T-cell の活性化を抑制していたと考えられた。

IQGAP1 は、calmodulin を接合させたり、細胞間接着などの作用を持っている。そして Erk2 の活動を調節し、Ras 経路の調節にも関与していると考えられている¹⁹⁾。さらに MEK と直接接合することも報告されている²⁰⁾。IQGAP1 は異系移植早期において最も強く発現し、日数の経過とともに発現が低下し維持された。機能的分化細胞 Th2 抑制には Ras 経路の抑制が有効であり、移植後 20 日目の同系移植よりも異系移植のほうが発現が強く、Ras 経路に働き免疫寛容誘導をもたらしていると考えられた。

HSP70 は Heat Shock Protein 90 と共同的に働き、Ras 系路の TCR 側のキナーゼの Raf と共に複合を形成し、ERK の活性化を規制するとの報告²⁰⁾がある。HSP70 は、今回の PCR 結果において、異系移植術後 14 日目まで増加傾向を認めた。抗ショック作用のみであれば術直後が最大値であると考えられ、術後にも増加を示していることは、Erk の活性化を規制していると考えられた。

以上のように、移植免疫寛容の誘導には、Ras 経路が関与している可能性が示唆され、新しい免疫抑制剤の分子標的になり得るものと考えられた。なお、本研究では移植肝組織を用いて免疫寛容の検討を行ったが、今後、血液中の T-cell などに関しても同様の検討を行うことによって、移植免疫寛容の更なるメカニズムの解明が図られることが期待される。

謝 辞

本研究に対しご懇篤なご指導とご高配賜りました、国立成育医療センター移植外科研究部 絵野沢伸先

生、張慧琪先生に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Kamada N: Immunology of liver transplantation. (Eds) Neuberger J, Adams D, Around E, London, 164-167, 1993
- 2) Kamada N: Experimental liver transplantation. CRC Press, Boca Raton, Fla, 39-43, 1988
- 3) 林 道廣、崔 東旭、田中紘一: 細胞工学別冊 臓器移植実験マニュアル (野澤眞澄監修) 93-98, 秀潤社 (東京) 1999
- 4) Kobayashi E, Kamada N, Enosawa S, Toyama N, Walker NI, Miyata M: Prevention by liver transplantation of the graft-versus-host reaction and allograft rejection in a rat model of small bowel transplantation. *Transplantation* **57**: 177-181, 1994
- 5) 高槻光寿、大野康治、蒲原行雄、川下雄丈、宮本俊吾、古井純一郎、兼松隆之: 小児生体肝移植における免疫抑制剤の減量・離脱。日外学会誌 **105** 臨増: 299, 2004
- 6) 田中紘一、上本伸二: 新移植免疫学 (藤原大美編著) 201-203, 中外医学社 (東京) 2000
- 7) 榊田 悟、藤原大美: 新移植免疫学 (藤原大美編著) 59-60, 中外医学社 (東京) 2000
- 8) Kobayashi E, Kamada N, Enosawa S, Toyama N, Miyata M: Syngeneic small-bowel grafting increases susceptibility to lethal graft-versus-host disease in the rat. *Eur Surg Res* **27**: 19-26, 1995
- 9) 高橋信弘、高木 宏: シクロスポリンの作用機序。シクロスポリンの実際。33-54, 国際医学出版 (東京) 1996
- 10) 田中洋和、中原邦男、畑中 洋: 新規免疫抑制薬タクロリムス水和物の発見と開発。薬学雑誌 **117**: 542-554, 1997
- 11) 浦 誠司、仁科博史: シグナル伝達集中マスター (山本 雅、仙波憲太郎編集) 58-67, 羊土社 (東京) 2005
- 12) Zhang HQ, Lu H, Enosawa S, Suzuki S, Takahara S, Nakajima T, Saito H, Sakamoto K: Comprehensive examination of gene expression associated with long-term stable graft acceptance by renal transplant recipients. *Clin Transplant* **18**: 70-78, 2004
- 13) Pae HO, Oh GS, Choi BM, Chae SC, Kim YM, Chung KR, Chung HT: Carbon monoxide produced by heme oxygenase-1 suppresses T cell proliferation via inhibition of IL-2 production. *J Immunol* **172**: 4744-4751, 2004
- 14) Wilson KE, Li Z, Kara M, Gardner KL, Roberts DD: Beta 1 integrin- and proteoglycan-mediated stimulation of T lymphoma cell adhesion and mitogen-activated protein kinase signaling by thrombospondin-1 and thrombospondin-1 peptides. *J Immunol* **163**: 3621-3628, 1999
- 15) Li Z, Calzada MJ, Sipes JM, Cashel JA, Krutzsch HC, Annis DS, Mosher DF, Roberts DD: Interac-

- tions of thrombospondins with alpha4beta1 integrin and CD47 differentially modulate T cell behavior. *J Cell Biol* **157**: 509-519, 2002
- 16) Amersi F, Buelow R, Kato H, Ke B, Coito AJ, Shen XD, Zhao D, Zaky J, Melinek J, Lassman CR, Kolls JK, Alam J, Ritter T, Volk HD, Farmer DG, Ghobrial RM, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW: Upregulation of heme oxygenase-1 protects genetically fat Zucker rat livers from ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest* **104**: 1631-1639, 1999
- 17) Nath KA: Heme oxygenase-1: a redoubtable response that limits reperfusion injury in the transplanted adipose liver. *The Journal of Clinical Investigation* **104**: 1485-1486, 1999
- 18) Berberat PO, Katori M, Kaczmarek E, Anselmo D, Lassman C, Ke B, Shen X, Busuttil RW, Yamashita K, Csizmadia E, Tyagi S, Otterbein LE, Brouard S, Tobiasch E, Bach FH, Kupiec-Weglinski JW, Soares MP: Heavy chain ferritin acts as an antiapoptotic gene that protects livers from ischemia reperfusion injury. *FASEB J* **17**: 1724-1726, 2003
- 19) Roy M, Li Z, Sacks DB: IQGAP1 binds Erk2 and modulates its activity. *J Biol Chem* **279**: 17329-17337, 2004
- 20) Roy M, Li Z, Sacks DB: IQGAP1 is a scaffold for mitogen-activated protein kinase signaling. *Mol Cell Bio* **25**: 7940-7952, 2005
- 21) Dou F, Yuan LD, Zhu JJ: Heat shock protein 90 indirectly regulates ERK activity by affecting Raf protein metabolism. *Acta Biochim Biophys Si* **37**: 501-505, 2005
- 22) 藤原大美: 新移植免疫学 (藤原大美編著) 91, 中外医学社 (東京) 2000
- 23) 石合正道、黒崎知博: シグナル伝達集中マスター (山本 雅、仙波憲太郎編集) 71, 羊土社 (東京) 2005

Ras pathway is related to transplantation immune tolerance

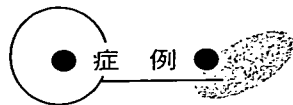
Katsunori NARAHARA, Akihiko TSUCHIDA, Tatsuya AOKI

Third Department of Surgery, Tokyo Medical University

Abstract

DA rats were used as donors and PVG rats were used as recipients. RNA was extracted from the allogenic transplantation liver, the syngenic transplanted liver, and the DA liver. The gene expression and the protein appearance were analyzed and examined. There were differences in the expression of IFN-gamma, IL-10, Thbs1, HO-1, the IQGA P1 and HSP70. Thbs1, HO-1, and the IQGA P1 were strongly expressed by day 8 then decreased. HSP70 increased until 14 days after surgery and decreased thereafter. IFN-gamma was expressed strongest 4-8 days after surgery but decreased thereafter. IL-10 was strongly seen after surgery, then decreased until day 20, thereafter remaining constant. Thbs1, HO-1, the IQGA P1, HSP70 and so on affect the Ras pathway, thus it is possible that the Ras pathway was involved in the induction of transplantation immune tolerance, and may be a molecular target of the immunosuppressants.

<Key words> Transplantation, Immunological tolerance, T-cell, Ras pathway



mFOLFOX 6 の肝障害により肝不全に陥った大腸癌肝転移切除の1例

石崎 哲央*¹ 安倍 知見*¹ 小柳 泰久*¹ 勝又 健次*² 和田 建彦*²
土田 明彦*² 青木 達哉*²

(*Jpn J Cancer Chemother* 34(6): 945-948, June, 2007)

A Case of Liver Failure Associated with Liver Damage Due to mFOLFOX 6 after Resection for Multiple Liver Metastases from Colorectal Cancer: Tetsuo Ishizaki*¹, Tomomi Abe*¹, Yasuhisa Koyanagi*¹, Kenji Katsumata*², Tatehiko Wada*², Akihiko Tsuchida*² and Tatsuya Aoki*² (*¹Dept. of Surgery, Atami Tokoro Memorial Hospital, *²Third Dept. of Surgery, Tokyo Medical University)

Summary

A case of colorectal cancer in a 60-year-old man became resectable after downstaging was achieved with mFOLFOX 6 for multiple liver metastases from colorectal cancer. The patient received 8 cycles of mFOLFOX 6 on the basis of a diagnosis of multiple liver metastases in the right and left lobes and a single metastasis in the right lung. After chemotherapy, the liver metastases showed partial response, and the lung metastasis stable disease. Because the lung metastasis was controlled and radical cure of the liver metastases was thought possible by resection, we performed right lobectomy of the liver. Postoperative progress was good, and we then planned a staged partial resection of the lung. However, on postoperative day 28, the patient was hospitalized again with liver dysfunction, which evolved into liver failure, in spite of conservative treatment. The patient died on postoperative day 95. The needle biopsy specimens of the liver taken on readmission showed bile duct occlusion, portal hypertension, and perisinusoidal fibrosis, and histopathology of the surgical non-tumoral liver specimen showed the same findings. We think that liver failure was triggered by resection of the liver which had been damaged by mFOLFOX 6. Recently, liver damage due to oxaliplatin was reported, and evaluation of liver injury is considered important before liver resection for colorectal liver metastases with neoadjuvant FOLFOX. Key words: mFOLFOX 6, Liver metastases, Liver injury (Received Sep. 1, 2006/Accepted Dec. 8, 2006)

要旨 症例は60歳、男性。大腸癌術後のH3肝転移、単発肺転移の診断にてmFOLFOX 6を8クール行った。肝転移はH2へdownstagingが得られPR、肺転移はSDであった。肺転移は制御されており、残存肝転移巣は右葉に限局していたため切除可能と考え肝右葉切除を施行し、術後経過良好にて退院した。二期的に肺転移巣切除を予定していたが、術後28日目に肝機能低下にて再入院した。保存的治療を行うも肝不全へ移行し術後95日目に死亡した。再入院時の肝針生検では残肝組織の微小胆管の閉塞、門脈圧亢進、小葉間組織の線維化を認め、さらに手術標本の非腫瘍部の病理組織でも同様の所見を認めた。これらは、mFOLFOX 6により障害を受けた肝臓が肝切除を施行したことにより肝不全へ移行した可能性を示唆している。最近海外よりoxaliplatinによる肝障害が報告されており、neoadjuvant FOLFOXを施行して肝切除を行う場合に肝障害の評価が重要である。

*¹ 熱海所記念病院・外科

*² 東京医科大学・外科学第三講座

はじめに

2005年より、本邦でも oxaliplatin が切除不能の進行再発大腸癌に対し医薬品として承認、薬価収載され、高い奏効率を得られる FOLFOX^{1,2)} が使用可能となった。今後 neoadjuvant chemotherapy として使用頻度が増すことが予想されるが、海外では oxaliplatin による正常肝の毛細血管の閉塞や線維化などによる肝障害³⁾ が報告されており、FOLFOX 治療後の肝切除の適応には十分注意を要すると考えられる。今回われわれは、切除不能肝転移、単発肺転移に対して modified FOLFOX 6⁴⁾ (以下 mFOLFOX 6) を行い、肝切除後に oxaliplatin による肝障害と思われる肝不全により死亡した症例を経験したので報告する。

I. 症 例

患者: 60 歳, 男性。

主訴: 右季肋部痛。

家族歴: 特記事項なし。

既往歴: 1997 年, 他医にて上行結腸癌と診断され右半結腸切除術を受けた(詳細不明)。その後 5 年間再発なく、前医での follow up は終了した。糖尿病にて内服治療中である。

現病歴: 2005 年 7 月 25 日, 右季肋部痛にて当院受診。腹部 CT にて多発肝病巣を認め精査のため入院となった。身長 172 cm, 体重 67 kg, 体温 36.2°C, 血圧 128/70 mmHg, 脈拍 72/分, 呼吸音正常, 心雑音を聴取せず, 右

季肋部に肝を 3 横指触知した。表在リンパ節腫脹なし, 腹水なし, 眼瞼結膜に貧血, 黄疸なし, PS は 0 であった。

入院時検査所見: 末梢血検査では異常を認めなかった。生化学検査では GOT 15 IU/L, GPT 6 IU/L, LDH 459 IU/L, γ -GTP 171 IU/L, ALP 569 IU/L, HBA_{1c} 13.4%, 血糖 392 mg/dL であった(下線は異常値)。腫瘍マーカーは CEA 904 ng/mL, CA 19-9 1,753 U/mL と高値を認めた。ICG R₁₅ 分値は 10% 以下であった。HBV (-), HCV (-)。

画像所見(図 1): SPIO MRI にて肝右葉を大きく占拠する 12 cm 大の転移巣, S 3, S 4, S 8 に 1 cm 大の小転移巣を多数認め H 3 と診断した。また, 胸部 CT にて右中肺野に肺転移巣 2.5 cm 大を認めた。

II. 治療経過

化学療法: 肝転移巣の切除は困難と考え化学療法を開始した。患者に十分な informed consent を行った後, mFOLFOX 6 (oxaliplatin: L-OHP 85 mg/m², l-LV 200 mg/m², bolus 5-FU 400 mg/m², 46 h 5-FU 2,400 mg/m²) を合計 8 クール施行した。肝右葉の主転移巣は著明に縮小, また両葉に散在していた小転移巣は消失し PR と診断した。肺転移巣は SD であった(図 1)。食欲不振, 下痢, 好中球減少など出現したが grade 3 以上の有害事象は認めなかった。また, oxaliplatin に特徴的な有害事象である末梢神経障害は認めなかった。腫瘍マーカーは CEA 10.6 ng/mL, CA 19-9 35.6 U/mL まで低下した。肺転移は制御されており, 生命予後規定因子は肝転移と

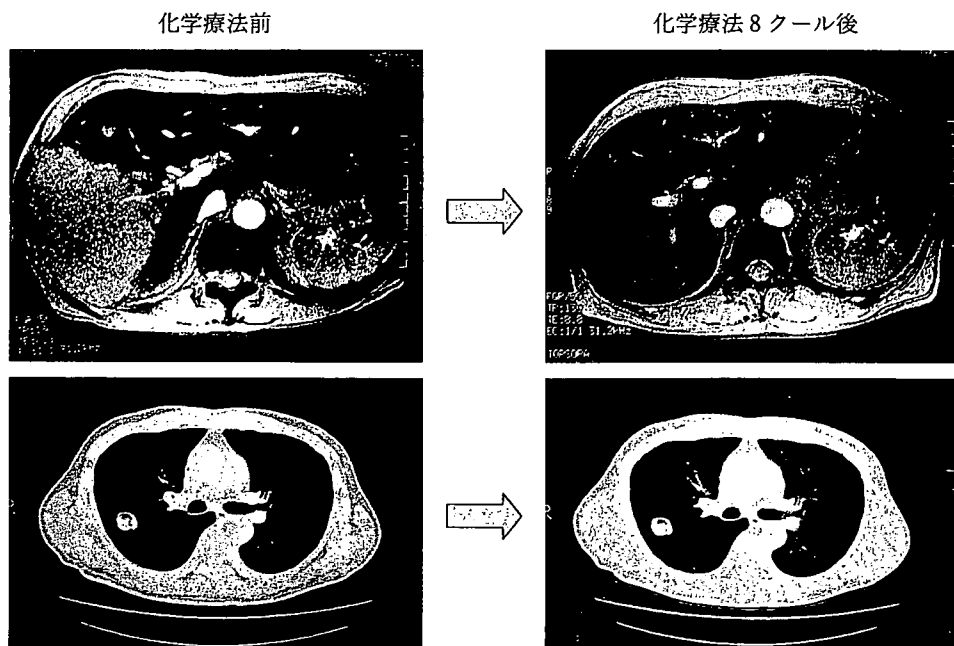


図 1 腹部 SPIO MRI, 胸部 CT
右葉の転移巣は著明に縮小, 肝左葉の小結節は消失した。
肺転移巣は SD だった。