

永田公二、田口智章、他. Long gap 食道閉鎖症に対して gastric transposition を施行した 2 例. 第 30 回日本小児内視鏡外科・手術手技研究会 (2010 年 10 月 18～19 日、横浜)

田口智章、他. 小児肝胆脾腫瘍の外科手術 第 26 回日本小児がん学会学術集会 (2010 年 12 月 17～19 日、大阪)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他
該当なし。

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

小児胃食道逆流における逆流性食道炎と好酸球性食道炎に関する研究

分担研究者 池田 均 獨協医科大学越谷病院小児外科 教授
研究協力者 藤野順子 獨協医科大学越谷病院小児外科 助教

研究要旨: 小児の胃食道逆流(GER)、胃食道逆流症(GERD)および逆流性食道炎の診断を目的に実施した諸検査の結果を後方視的に検討し、小児における好酸球性食道炎の実態把握ならびに逆流性食道炎との関連について検討した。逆流防止手術を施行した症例では24時間pHモニタリングによるreflux index (RI)が高値で、RIと逆流性食道炎の内視鏡的Gradeは相関する傾向を認めた。しかしGERと逆流性食道炎の存在は同義でなく、また逆流性食道炎の内視鏡的Gradeと食道粘膜の病理組織学的所見には明らかな相関を認めなかった。一方、生検組織における好酸球浸潤の定量的検討では好酸球性食道炎の診断範疇に入る症例が1例、同定された。

以上の結果より、GERやGERD、ならびに逆流性食道炎の診断、および逆流防止手術の適応を検討するためには症状と諸検査の結果を総合的に考慮する必要があること、また逆流性食道炎および好酸球性食道炎の診断に際しては食道内視鏡検査ならびに食道粘膜生検の方法に一定の基準を設ける必要があることが結論された。

A. 研究目的

小児の胃食道逆流(GER)または胃食道逆流症(GERD)にともなう逆流性食道炎の診断を目的に食道粘膜生検を実施すると、しばしば病理組織学的に食道粘膜内に好酸球の浸潤を認める症例を経験する。本研究では小児のGERやGERD、またその疑い例を対象に実施した24時間pHモニタリング、食道内視鏡検査および食道粘膜生検についてその結果を後方視的に検討し、小児における好酸球性食道炎の実態把握ならびに逆流性食道炎との関連について検討することを目的とした。

B. 研究方法

2007年9月から2010年8月までの3年間にGERまたはGERDの精査を目的に諸検査を実施した18歳以下の37症例を対象とした。GERの有無は上部消化管造影、胃シンチグラフィおよび24時間pHモニタリングにより判定した。24時間pHモニタリングについてはreflux index (RI) ($\text{pH} < 4$ の時間率)を算出し、 $\text{RI} > 4\%$ を胃酸の逆流あり、すなわちGER陽性と判定した。上記検査によりGER陽性とされた症例に対しては原則、食道内視鏡検査を実施した。逆流性食道炎の内視鏡所見はロサンゼルス

分類(LA分類)にしたがいGrade N、M、A、B、C、Dに分類した。食道内視鏡検査に際してはできる限り食道粘膜生検を実施し、食道炎を粘膜内の炎症細胞浸潤の程度により軽度、中等度、重度の3段階に分類した。好酸球性食道炎の診断は食道粘膜の強拡大視野(HPF、400倍)に15個以上の好酸球浸潤を認めるものとした。

(倫理面への配慮)

本研究で実施する検査はすべて日常診療の範囲内で行われるが、本研究の実施に際しては各種倫理指針を遵守し、入院、検査、麻酔、手術等に際しては患者または代諾者に十分な説明を行い、文書による同意を得た。また許容し得ない患者不利益や危険性を排除することは勿論、患者の人権擁護、個人情報の保護、データベースの機密性等についてこれを保証および確保した。

C. 研究結果

1) 24時間pHモニタリング、食道内視鏡検査、食道粘膜生検の結果とその関係
24時間pHモニタリングは37例全例に施行した。最終的にGERDまたはGERを理由に逆流防止手術(腹腔鏡下噴門形成術、Nissen

fundoplication)を施行した手術群は 20 例で、GER 陰性、あるいは GER 陽性または GERD と診断されても内科的に対応し逆流防止手術の適応としなかった非手術群は 17 例であった。後者の内訳は 1 歳以上が 11 例で、1 歳未満の乳児が 6 例であった。RI の平均値は手術群が 24.1%、非手術群(1 歳以上)が 3.3%、非手術群(1 歳未満)が 9.3%で、手術群の RI は非手術群の RI に比して有意に高値であった($p < 0.01$)。

食道内視鏡検査は計 29 例に施行した。

手術群では 20 例全例に食道内視鏡検査を施行し、所見は LA 分類の Grade N:1 例、M:3 例、A:9 例、B:3 例、C:1 例、D:3 例で、それぞれの RI の平均値は 13.4%、14.9%、20.7%、41.8%、22.6%、30.0%であった。食道粘膜生検は 20 例中 16 例(80%)に行われ、組織学的に食道炎の程度が中等度と診断されたのは 6 例で、その内訳は LA 分類で Grade M:1 例、A:1 例、B:2 例、D:2 例であった。残る 10 例は組織学的に食道炎の程度が軽度と診断され、この 10 例の Grade は M:3 例、A:5 例、C:1 例、D:1 例であった。

非手術群では 17 例中 9 例(53%)に食道内視鏡検査を施行した。所見は Grade N:1 例、M:7 例、B:1 例であった。Grade M の 5 例と B の 1 例に食道粘膜生検を実施し、Grade M の 1 例に中等度の炎症所見を認めたが、他はすべて軽度または炎症なしの所見であった。

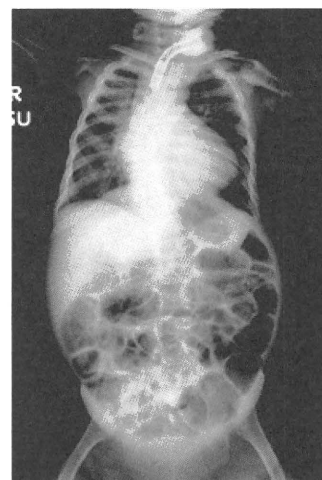
2) 好酸球浸潤

食道粘膜生検を行った 22 例において好酸球浸潤について定量的検討を行った。組織学的に好酸球性食道炎の範疇に入ると診断されたのは手術群の 1 例のみであった。以下に当該症例の概要を示す。

症例は 1 歳 4 か月の女児で、主訴は嘔吐および経口摂取困難である。基礎疾患に campomelic dysplasia と気管軟化症がある。家族歴等に特記すべきことはない。現病歴は、生下時より気管軟化症があり気管切開術を施行されている。過去に 2 回の呼吸停止があり、他医において蘇生された。GER による呼吸停止が疑われまた経口摂取が困難なことから、GER の精査と胃瘻造設を目的に紹介された。

入院時の身体所見は体重が 5.9 kg、身長が 57 cm で、腹部に膨満を認めた(図 1)。

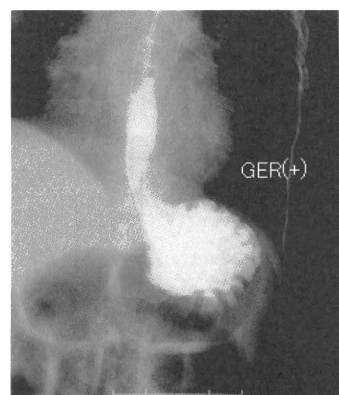
図1



胸腹部単純X線

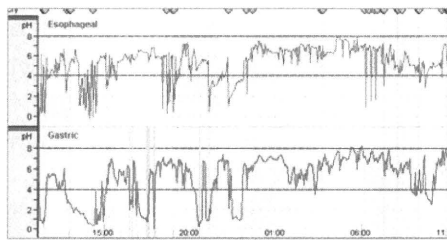
定額は未だ認められなかったが、自力で側臥位をとることは可能であった。夜間のみ BiPAP (biphasic positive airway pressure)を装着していた。血液検査所見には異常を認めなかった。上部消化管造影では GER を認め(図 2)、24 時間 pH モニタリングでは胃内 pH < 4 の時間率 44.7%に対して食道の RI は 7.8%で、胃内の pH が低い時には GER による食道内 pH の低下が認められた(図 3)。胃シンチグラフィ検査では胃排出時間 T1/2 は 30~40 分で、胃排出は良好と判断された。

図2



上部消化管造影

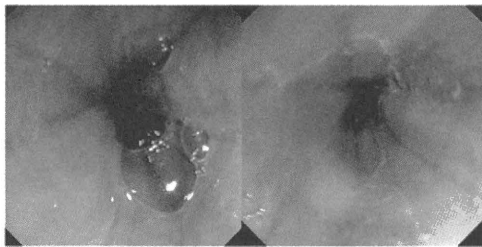
図3



24時間pHモニタリング

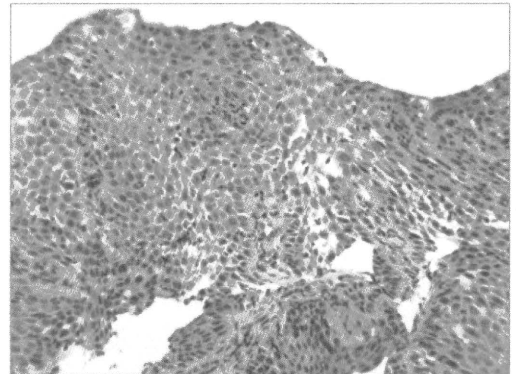
経口摂取困難ならびに呼吸器症状を有する GERD と診断し、胃瘻造設術と逆流防止手術の適応と判断し、手術に先立って食道内視鏡検査および食道粘膜生検を実施した。食道内視鏡所見は LA 分類の Grade M と判定されたが(図 4)、食道粘膜生検では食道粘膜に >20 個/HPF の好酸球浸潤を認め、組織学的には好酸球性食道炎の範疇に入るものと判断された(図 5、6)。術後の経過は良好で、逆流防止手術後に嘔吐や肺炎の発症を認めていない。

図4



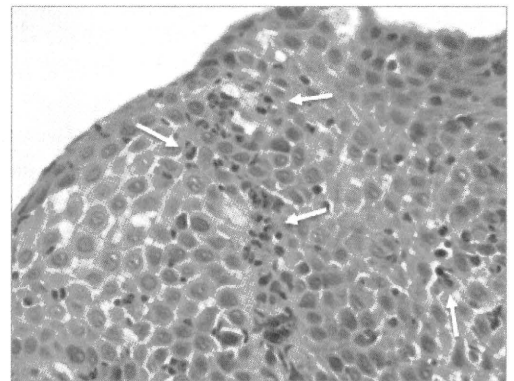
食道内視鏡検査

図5



食道粘膜生検

図6



食道粘膜内の好酸球浸潤(矢印)

D. 考察

GER を認め、かつ GER を原因とする症状を有する症例、すなわち GERD 症例に対してはまず内科的な保存的治療が行われるが、内科的な治療が無効な症例に対しては逆流防止手術の適応が検討される。一般には GER による呼吸器症状や執拗な嘔吐などが手術適応となる。一方、GER を原因とする逆流性食道炎に対しては制酸剤や PPI などの効果が期待されるため、逆流性食道炎単独で手術適応となることは少ない。しかし逆流性食道炎でも吐血、成長障害などをともない治療抵抗性である場合には手術適応が検討される。また GER のみで明らかな症状をともなわない場合でも、栄養管理を目的に胃瘻造設を行う場合には患者の状態が許す限り予防的に逆流防止手術を付加することが望ましい。

現在、当施設では主に以下の症例を逆流防止手術の適応と考えている。すなわち、①

反復性肺炎や無呼吸、ALTE などの呼吸器症状や執拗な嘔吐などを主症状とする GERD 症例、②逆流性食道炎を主症状とする GERD 症例のうち内科的治療に抵抗する症例、③栄養管理を目的に胃瘻造設を行う症例で、GER を有する症例である。

今回、GER または GERD の精査、あるいは胃瘻造設を目的に当施設を紹介された症例を対象に、24 時間 pH モニタリングの結果と食道内視鏡検査所見、食道粘膜生検による食道炎の程度の関係を検討し、さらに食道粘膜生検が施行された症例における食道粘膜内の好酸球浸潤の有無についても検討を行った。

その結果、逆流防止手術が施行された症例では、当然のことながら逆流防止手術が適応とされなかった症例に比し RI が有意に高値を示した。しかし、逆流性食道炎の内視鏡的所見は Grade N から D まで分布し、組織学的な食道炎の程度も軽度と中等度の症例がみられた。すなわち、GER の存在は必ずしも逆流性食道炎の存在を意味せず、また内視鏡所見と組織学的所見の間にも明らかな相関は認めなかった。この理由の一つとして、すでに前医で内科的治療が行われている場合があり、制酸剤や PPI がこれらの検査結果を修飾していた可能性は否定できない。しかし内視鏡的 Grade と RI は相関する傾向があり、Grade の高い症例では RI が高くなる傾向を示した。

一方、逆流防止手術が適応とされなかった症例では RI が低値で、内視鏡的および組織学的な食道炎の程度は手術群に比し軽度であった。しかし、Grad B の 1 例は初回の検査で RI が 0% であったが、その後、経腸栄養剤を胃内に注入すると呼吸器症状が出現するようになり、胃瘻造設後 2 年を経過して嘔吐、肺炎を繰り返すようになり、再検査の対象となった。その結果、RI は再検査でも 0.3% であったが、胃シンチグラフィで頻回の逆流が検出され、食道内視鏡検査の所見も Grade B と判定されたため、最終的に逆流防止手術を施行した。本症例のように RI と内視鏡的 Grade に乖離があるような例では胃酸以外の組織障害因子の存在も想定される。やはり臨床症状と諸検査の結果を総合して検討する必要がある、単一の検査結果のみでは GER の有無や手術適応の判断に充分でないことも事実である。

食道粘膜内における好酸球浸潤については、食道胃接合部に近い部位では GER による

炎症反応として好酸球浸潤を認めることがあるとされる。今回、経験した好酸球浸潤の症例は病理組織学的に好酸球性食道炎の診断基準を満たしているが、生検部位が下部食道であったため、やはり GER による二次的な好酸球浸潤の可能性を否定できない。好酸球性食道炎では特徴的な内視鏡像を呈するとも指摘されているが、そのような所見が得られないことも多く、診断には食道粘膜生検が欠かせない。ただし生検を行う場合、下部食道に加え中部食道からも生検を行うなど、正確な診断を得るためには検査方法について一定の基準を設ける必要がある。

E. 結論

GER、GERD および逆流性食道炎の診断を目的に実施した諸検査の結果を後方視的に検討した。逆流防止手術を施行した症例では RI が高値で、RI と逆流性食道炎の内視鏡的 Grade が相関する傾向を認めた。しかし GER と逆流性食道炎の存在は同義でなく、また逆流性食道炎の内視鏡的 Grade と食道粘膜の病理組織学的所見にも明らかな相関は認められなかった。一方、生検組織における好酸球浸潤の定量的検討では好酸球性食道炎の診断範疇に入る症例が 1 例、同定された。

以上の結果より、GER や GERD、ならびに逆流性食道炎の診断、および逆流防止手術の適応を検討するためには症状と諸検査の結果を総合的に考慮する必要があること、また逆流性食道炎および好酸球性食道炎の診断には食道内視鏡検査ならびに食道粘膜生検の方法に一定の基準を設ける必要があることが結論された。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 腐食性食道炎後の二次性食道狭窄に対する外科治療. 鈴木 信、石丸由紀、田原和典、藤野順子、畑中政博、五十嵐昭宏、池田 均. 小児外科 42 巻, 1313-1317

2. 学会発表

1. 藤野順子、池田 均、他: GER 症例に対する内視鏡検査と組織診の重要性. 第 37 回日本小児内視鏡研究会、2010.7.3、

- 東京
2. 藤野順子、池田 均、他:小児 GERD 症例の診断と治療. 第 38 回獨協医学会、2010.12.4、壬生
 3. 藤野順子、池田 均、他:胃食道逆流症における pH モニタリングと食道内視鏡. 第 41 回日本小児消化管機能研究会、2011.2.26、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
該当なし。

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

小児好酸球性食道炎の患者全体像の把握と診断・治療指針の確立に関する研究

研究分担者 小室 広昭 筑波大学大学院人間総合科学研究科小児外科 准教授

研究要旨:これまで疾患に関して認識が不足していた好酸球食道炎について Retrospective に症例を検討し、繰り返す嘔吐による難治性の食道狭窄と考えられていた症例で好酸球食道炎が強く疑われる症例を把握することができた。今後、好酸球食道炎の症状、診断方法、治療について十分に検討し周囲に周知していく作業が今後重要になるものと考えられた。

A. 研究目的

小児の好酸球性胃腸疾患(EE)は海外では近年増加傾向にあるが、本邦ではこれまで認識されていないのが現状であり、retrospectiveにEE患者数実態を調べ、患者に対し適切な治療が施されるようにすることを目的とする。

B. 研究方法

当院における食道生検患者の病理組織を再検討しEEの可能性について検討する。

C. 研究結果

最近5年間に食道生検を行った5件のうち病理組織より、周期性嘔吐による難治性の食道狭窄と考えられていた1例で好酸球浸潤を認めEEが疑われた。

D. 考察

EEは胃食道逆流(GERD)との鑑別が重要であり、治療に不応性のGERDにはEEが含まれている可能性があると考えられている。治療不応性のGERD患者あるいはGERDが疑われる患者でもEEを疑って検索することが重要であると考えられた。

E. 結論

EEはこれまで認識不足のために発見されずにきた症例が多く存在する可能性があり、症例数や診断方法などを今後さらに詳しく検討する必要がある。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

研究期間に本研究の成果に関する論文発表なし。

2. 学会発表

該当なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

「遺伝学的アプローチによる小児好酸球性食道炎の原因遺伝子の探索」

研究分担者 滝 智彦 京都府立医科大学 分子病態検査医学・遺伝学 講師

研究要旨:小児好酸球性食道炎(EE)の原因となる遺伝子異常は不明である。このような疾患の原因遺伝子の同定には、しばしば家族発生例の解析が重要な役割を果たす。EE 患者の両親の 10%に食道狭窄の既往があり、8%が生検陽性とのデータがある。また、26 家系の報告があり、その 59 患者の内訳では 85%が同胞、15%が親子症例であった。このような家族例、特に染色体転座を有する症例を手掛かりに原因遺伝子の同定を目指す戦略は、EE の原因遺伝子同定においても有用であると思われる。

A. 研究目的

小児好酸球性食道炎(EE)に関連する遺伝子異常はこれまで同定されていない。遺伝子との関係では、eotaxin-3がEE患者では高発現しており、かつ食道好酸球数と相関していることが知られている。また、eotaxin-3の一塩基多型とEEとの関係が報告されている。しかし、その他にはEEに関連する遺伝子異常の報告はない。一方、EEには家族発生例が存在し、その中には遺伝的要因が関与している症例が存在すると思われる。また、欧米に比べて本邦でのEEの発生頻度が低い原因のひとつとして、日本人と欧米人の間での遺伝的背景の違いが示唆される。本研究では、これまで我々が行ってきたゲノム解析手法を用いて、小児EEに特有なゲノム異常を同定し、診断及び新しい治療法の開発に役立てる。

B. 研究方法

本年はまず、データベースを用いて、これまでのEEにおける染色体および遺伝子情報について検索した。

家族発生例が得られた場合は、染色体分析およびゲノム解析への協力をお願いし、Affymetrix社のSNPアレイを用いたゲノムコピー数解析を行う。

(倫理面への配慮)

患者検体の解析にあたっては、患者およびその両親の同意を得て行なう。遺伝子解析については京都府立医科大学倫理委員会の承認を得て行う。

C. 研究結果

EEの遺伝性を疑わせるこれまでのデータとしては、EE患者の両親の10%に食道狭窄の既往があり、8%が生検陽性とのデータがある。また、26家系の報告があり、その59患者の内訳では85%が同胞、15%が親子の

症例であった。しかし、これらの症例において染色体異常を初めとするゲノム異常を解析したという報告は存在しなかった。EEが単一遺伝子病なのか多因子遺伝病なのかは不明であるが、これまでの多くの遺伝性疾患の原因遺伝子解明の時と同様に、染色体転座陽性例を発見し、その切断点を解析することが非常に有用であると思われる。

D. 考察

これまでEE患者における染色体異常の報告はない。染色体検査そのものが通常行われていないものと思われる。これまでさまざまな疾患における原因遺伝子の同定において、一部症例に認められる染色体転座が手掛かりとなり、その切断点から原因遺伝子が同定されており、このような症例を見つけないことがEEの原因遺伝子同定においても非常に有用であると思われる。そのためには、特に家族発生症例での染色体検査を実施し、その情報を集めることが重要である。また、現在急速に普及している次世代型超高通量シーケンサーによる全ゲノムシーケンスが、EEにおいても原因遺伝子同定に重要なツールとなるとと思われる。

一方、染色体検査や全ゲノムシーケンスでは、EEと無関係なさまざまな異常が偶然発見されることがある。それらは、患者のみならずその家族にも影響を与える可能性があるものである。そのような異常が見つかった時の扱いについては、事前に十分に検討した上で、匿名化をはじめしっかりした情報管理のもとで解析を行う必要がある。

E. 結論

これまで同定されたさまざまな先天異常の原因遺伝子の同定と同様、EE患者に特異的な染色体異常を見つけることが、原因遺伝子同定において重要であると思われる。EEの診療における染色体検査の位置づけ

とその情報の扱い方について十分検討を進める必要がある。

F. 健康危険情報 該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Watanabe M, Nakahata S, Hamasaki M, Saito Y, Kawano Y, Hidaka T, Yamashita K, Umeki K, Taki T, Taniwaki M, Okayama A, Morishita K. Down-regulation of CDKN1A in adult T cell leukemia/lymphoma despite overexpression of CDKN1A in HTLV-1-infected cell lines. *J Virol* 84: 6966-6977, 2010
2. Mizushima Y, Taki T, Shimada A, Yui M, Hiraumi Y, Matsubara H, Watanabe M, Watanabe K, Kamitsuji Y, Hayashi Y, Tsukimoto I, Kobayashi R, Horibe K, Tawa A, Nakahata T, Adachi S. Prognostic significance of the BAALC isoform pattern and CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia with normal karyotype: a study by the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Int J Hematol* 91: 831-837, 2010
3. Taketani T, Taki T, Nakamura T, Ohyashiki K, Kobayashi Y, Fukuda S, Yamaguchi S, Hayashi Y. High frequencies of simultaneous FLT3-ITD and WT1 mutations in myeloid leukemia with NUP98-HOX fusion genes. *Leukemia* 24: 1975-1977, 2010
4. Kawamura M, Kaku H, Ito C, Funada N, Taki T, Shimada A, Hayashi Y. FLT3-internal tandem duplication in a pediatric patient with t(8;21) acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 203: 292-296, 2010

2. 学会発表

1. Taki T, Sakamoto N, Yamada J, Tsutsumi Y, Kobayashi S, Nagoshi H, Matsubara K, Nishida K, Taniwaki M. Novel PAX5-FOXP2 fusion gene in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. 第72回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010年9月24~26日
2. Kinoshita A, Miyachi H, Taki T, Kiyokawa N, Terui K, Ohta H, Deguchi T, Takahashi H, Taga T, Hayashi Y, Tawa A. A comprehensive and rapid approach for the central review of acute myeloid leukemia

diagnosis in a nationwide clinical trial. 7th Bi-Annual Childhood Leukemia Symposium, Antalya, October 4-6, 2010

3. Muramatsu H, Hayashi Y, Kawamura M, Kojima S, Yabe M, Itoyama K, Taki T, Tsuji K, Tsuchida M, Manabe A, Ito E, Iwamoto S, Kato H, Sumie A, Taga T, Nomura K, Hasegawa D, Watanabe K, Kikuchi A. Low-dose cytosine arabinoside therapy for neonates with Down syndrome (DS) and transient leukemia (TL). 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, December 4-7, 2010
4. Goto M, Hanamura I, Wakabayashi M, Nagoshi H, Taki T, Imai N, Goto M, Mizuno S, Takahashi M, Suganuma K, Hiramatsu A, Yamamoto H, Watarai M, Shikami M, Imamura A, Mihara H, Taniwaki M, Miwa H, Nitta M. Establishment and characterization of a novel human myeloid leukemia cell line, AMU-AML1, carrying t(12;22)(p13;q11) with no fusion of MN1-TEL. 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, December 4-7, 2010
5. Koh K, Tomizawa D, Moriya Saito A, Watanabe T, Ogawa A, Sato T, Hirayama M, Takahashi Y, Saikawa Y, Miyamura T, Kato K, Sugita K, Sato T, Taki T, Mizutani S, Tsurusawa M, Horibe K, Ishii E. Early phase administration of hematopoietic stem cell transplantation to prevent early relapse for infants with acute lymphoblastic leukemia and MLL gene rearrangement; a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) Trial MLL03. 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, December 4-7, 2010
6. Shiba N, Taki T, Park M, Nagasawa M, Takita J, Kato M, Kanazawa T, Sotomatsu M, Arakawa H, Hayashi Y. CBL mutations in therapy-related leukemia and infant leukemia. 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, December 4-7, 2010
7. Nagoshi H, Taki T, Kuroda J, Nishida K, Gotoh M, Okuda K, Kobayashi S, Yamamoto M, Tsutsumi Y, Kobayashi T, Matsumoto Y, Horiike S, Otsuki T, Taniwaki M. Identification and functional significance of novel type of structurally aberrant transcripts of DCC in B-cell malignancies. 52nd Annual Meeting of the American Society of

Hematology, Orlando, December 4-7, 2010
8. Kinoshita A, Miyachi H, Matsushita H, Taki T, Yabe M, Kiyokawa N, Terui K, Ohta H, Deguchi T, Takahashi H, Taga T, Hayashi Y, Tawa A, Adachi S, Tsurusawa M, Horibe K. A rapid approach for the integrated central review of acute myeloid leukemia diagnosis in a nationwide clinical trial for children. 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, December 4-7, 2010

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
該当なし。

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

好酸球性食道炎のサイトカインに関する研究

研究分担者 林 泰秀 群馬県立小児医療センター 院長

研究要旨:小児好酸球性食道炎は食物アレルギーが原因であることが多く、最近になって欧米では疾患が認知されてきたが、本邦ではまだ十分に認知されていない。本疾患は胃食道逆流症との鑑別が重要であり、治療に不応性の胃食道逆流症には好酸球性食道炎が多く含まれている可能性がある。診断には食道の粘膜生検が必須である。本研究の目的は、本疾患患者の血清のサイトカインとケモカインを探索し、病態の解明に貢献することである。今年度はまず患者のスクリーニングと生検、診断法の確立を行ったが、患者血清は収集が十分ではなかったもので、これまで収集したDown症候群のTAM 23例、MDS 6例、AMLK 15例の初診時血清でMultiplex Suspension Array System (BioRad Laboratories)を用いてpro-inflammatory cytokinesとしてはIL-1 β 、IL-2、IL-6、TNF- α 、INF- γ 、GM-CSF、G-CSFを、anti-inflammatory cytokinesとしてはIL-4、IL-10を、chemokineとしてはIL-8を検索したところIL-1 β 、IL-2、IL-4、INF- γ 、TNF- α がTAMで著明な高値を示した。またIL-6、GM-CSF、INF- γ 、TNFがAMLKで著明な高値を示し、TAMとAMLKの病態解明に有用であった。これを基にして次年度は好酸球性食道炎と食道逆流症の患者血清を収集し、検討を行う予定である。

A. 研究目的

小児好酸球性食道炎は食物アレルギーが原因であることが多く、最近になって欧米では疾患が認知されてきたが、本邦ではまだ十分に認知されていない。男性に多く主として小児から若年成人でみられるが、症状は年齢に依存し、小児では非特異的な所見が多く本症を念頭に置いていないと見のがすことが多い。本疾患は胃食道逆流症との鑑別が重要であり、治療に不応性の胃食道逆流症には好酸球性食道炎が多く含まれている可能性があり、好酸球性食道炎と診断して治療することが症状改善に必要である。診断には食道の粘膜生検が必須であり、臨床症状が合致する場合に好酸球性食道炎と診断される。このように小児好酸球性食道炎の診療にはアレルギーの関与、非特異的症状、胃食道逆流症との鑑別や生検を要するといった特徴から小児科医と小児外科医の連携が重要である。本研究の目的は、本疾患患者の血清のサイトカインとケモカインを探索し、病態の解明に貢献することである。

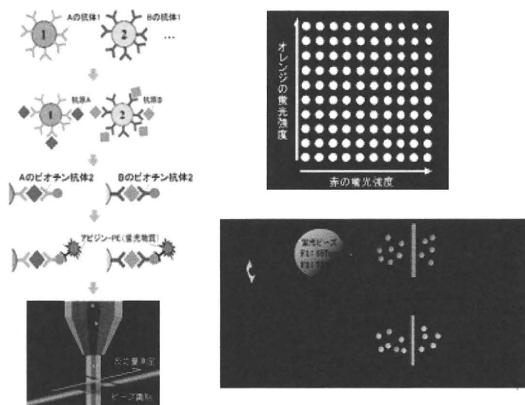
B. 研究方法

<対象>

治療不応性の胃食道逆流症患者あるいは好酸球性食道炎が疑われる患者の血清のサイトカインとケモカインを検索し、これらのデータをまとめて、患者診断に有用な指標を抽出する。それをもとに疑い例が的確に診断される様に食道粘膜生検の適応基準を作成し、最終的には好酸球性食道炎の診断基準を作成する。

今年度はまず患者のスクリーニングと生検、診断法の確立のため、生検検体を収集して症例を集めていたが、これまでのところ患者血清は収集できてない。そのため、これまで収集したDown症候群のtransient abnormal myelopoiesis (TAM) 23例、myelodysplastic syndrome (MDS) 6例、acute megakaryoblastic leukemia (AMLK) 15例の初診時血清を用いてサイトカイン/ケモカインの測定を行い検討し、次年度の準備を行った。

Bio-Prex Cytokine Assayによるサイトカイン測定原理



<方法>

血清中サイトカイン/ケモカイン産生の測定:
Bid RadのBio-Prex Cytokine Assay(図)により
サイトカインとケモカインを同時測定する。測定
するサイトカインとケモカインは以下の如くであ
る。

IL-1 β , IL-1ra, IL-2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12,
13, 15, 17, IFN- γ , IP-10, TNF- α , GM-CSF,
G-CSF, MCP-1, MIP- α , MIP-1 β , Eotaxin,
RANTES, PDGF-bb, FGF basic, VEGF

<統計学的解析>

Mann-Whitney U test, Bonnferroni test と
Pearson's correlation coefficient testを用いて
解析する。

(倫理面への配慮)

血清のサイトカインとケモカイン測定なので、
ゲノム指針の適応ではないが、この研究につ
いては倫理委員会の承認を得る。

C. 研究結果

TAM 23例、MDS 6例、AMKL 15例の初診
時血清を用いてMultiplex Suspension Array
System (BioLad Laboratories) より
pro-inflammatory cytokinesとしてはIL-1 β ,
IL-2, IL-6, TNF- α , INF- γ , GM-CSF,
G-CSFを、anti-inflammatory cytokinesとし
てはIL-4, IL-10を、chemokineとしてはIL-8を
検索したところ、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IFN- γ 、
TNF- α がTAMで著明な高値を示した。また
IL-6、GM-CSF、IFN- γ 、TNFがAMKLで著
明な高値を示した。

D. 考察

今年度はまず患者のスクリーニングと生検
により、診断法の確立を行ったが、患者血清
は収集できてなかったため、Down症候群の
TAM 23例、MDS 6例、AMLK 15例の初診時
血清で血清中サイトカイン/ケモカインの測
定を行い、興味深い結果を得、TAMと
AMLKの病態解明に有用であった。これを
基にして、次年度は好酸球性食道炎と食
道逆流症の患者血清を収集し、比較検討を
行う予定である。

E. 結論

Down症候群患者の血清中サイトカインと
ケモカインの測定を行い、いくつかのサイト
カインがTAMとAMKLで高値であった。次年
度は同じ方法で好酸球性食道炎と胃食道逆
流症の患者血清で検討する予定である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kato M, Tsukagoshi H, Yoshizumi M, Saitoh M, Kozawa K, Yamada Y, Maruyama K, Hayashi Y, Kimura H. Different cytokine profile and eosinophil activation are involved in rhinovirus-and RS virus-induced acute exacerbation of childhood wheezing. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010 (in press)
2. Shiba N, Taki T, Park MJ, Nagasawa M, Kanazawa T, Takita J, Ohnishi H, Sotomatsu M, Arakawa H, Hayashi Y. CBL Mutation in childhood therapy - related leukemia (in press)
3. Kato M, Yamada Y, Maruyama K, Hayashi Y. Serum eosinophil cationic protein and 27 cytokines /chemokines in acute exacerbation of childhood asthma. *Int Arch Allergy Immunol.* 152 Suppl 1:62-66, 2010
4. Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Okubo J, Adachi M, Sotomatsu M, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. IDH1 and IDH2 mutations are rare in pediatric myeloid malignancies. *Leukemia.* 25 : 382-384, 2011
5. Ogawa S, Takita J, Sanada M, Hayashi Y. Oncogenic mutations of ALK in neuroblastoma. *Cancer Science.* 102 :

- 302-308, 2011
6. Kawamura M, Kaku H, Ito T, Funata N, Taki T, Shimada A, Hayashi Y. FLT3-internal tandem duplication, CD56 expression, and obstructive jaundice due to granulocytic sarcoma at relapse in a pediatric patient with t(8;21) acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 203 : 292-296, 2010
 7. Seki M, Kimura H, Mori A, Shimada A, Yamada Y, Maruyama K, Hayashi Y, Agematsu K, Morio T, Yachie A, Kato M. Prominent eosinophilia but less eosinophil activation in a patient with Omenn syndrome. *Pediatr Int*. 52 : e196-199, 2010
 8. Taketani T, Taki T, Nakamura T, Kobayashi Y, Ito E, Fukuda S, Yamaguchi S, Hayashi Y. High frequencies of simultaneous FLT3-ITD, WT1 and KIT mutations in hematological malignancies with NUP98-fusion genes. *Leukemia*. 24 : 1975-1977, 2010
 9. Shiba N, Kanazawa T, Park MJ, Okuno H, Tamura K, Tsukada S, Hayashi Y, Arakawa H. NOTCH1 mutation in a female with myeloid/NK cell precursor acute leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 55 : 1406-1409, 2010
 10. Kanezaki R, Toki T, Terui K, Xu G, Wang R, Shimada A, Hama A, Kanegane H, Kawakami K, Endo M, Hasegawa D, Kogawa K, Adachi S, Ikeda Y, Iwamoto S, Taga T, Kosaka Y, Kojima S, Hayashi Y, Ito E. Down syndrome and GATA1 mutations in transient abnormal myeloproliferative disorder: mutation classes correlate with progression to myeloid leukemia. *Blood*. 116 : 4631-4638, 2010
 11. Minobe K, Ono R, Matsumine A, Shibata-Minoshima F, Izawa K, Oki T, Kitaura J, Iino T, Takita J, Iwamoto S, Hori H, Komada Y, Uchida A, Hayashi Y, Kitamura T, Nosaka T. Expression of ADAMTS4 in Ewing's sarcoma. *Int J Oncol*. 37 : 569-581, 2010
 12. Mizushima Y, Taki T, Shimada A, Yui Y, Hiraumi Y, Matsubara H, Watanabe M, Watanabe K, Kamitsuji Y, Hayashi Y, Tsukimoto I, Kobayashi R, Horibe K, Tawa A, Nakahata T, Adachi S. Prognostic significance of the BAALC isoform pattern and CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia with normal karyotype: a study by the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Int J Hematol*. 91 : 831-837, 2010
 13. Komeno Y, Kitaura J, Watanabe-Okochi N, Kato N, Oki T, Nakahara F, Harada Y, Harada H, Shinkura R, Nagaoka H, Hayashi Y, Honjo T, Kitamura T. AID-induced T-lymphoma or B-leukemia /lymphoma in a mouse BMT model. *Leukemia*. 24 : 1018-1024, 2010
 14. Tsuchida M, Ohara A, Manabe A, Kumagai M, Shimada H, Kikuchi A, Mori T, Saito M, Akiyama M, Fukushima T, Koike K, Shiobara M, Ogawa C, Kanazawa T, Noguchi Y, Oota S, Okimoto Y, Yabe H, Kajiwara M, Tomizawa D, Ko K, Sugita K, Kaneko T, Maeda M, Inukai T, Goto H, Takahashi H, Isoyama K, Hayashi Y, Hosoya R, Hanada R; Tokyo Children's Cancer Study Group. Long-term results of Tokyo Children's Cancer Study Group trials for childhood acute lymphoblastic leukemia, 1984-1999. *Leukemia*. 24 : 383-396, 2010
 15. Shiba N, Kato M, Park MJ, Sanada M, Ito E, Fukushima K, Sako M, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y. CBL mutations in juvenile myelomonocytic leukemia and pediatric myelodysplastic syndrome. *Leukemia*. 24 : 1090-1092, 2010
2. 学会発表
1. 加藤政彦, 山田佳之, 丸山健一, 林泰秀. 気管支喘息発作時の原因ウイルスの同定とサイトカイン産生、好酸急活性化の検討:続報. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.23
 2. Nishimura R, Takita J, Ohki K, Kato M, Chen YY, Sanada M, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. High resolution copy number analysis of Ewing sarcoma family of tumors using high-density SNP-genotyping microarrays. 第 6 回小児研究アジア学会, 台北, 2010.4.15
 3. Takita J, Nishimura R, Sanada M, Ohki K, Motohiro K, Chen YY, Kanegane H, Okita H, Fujimoto J, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. ALK gene aberrations in pediatric solid tumors. 第 6 回小児研究アジア学会, 台北, 2010.4.15

4. 朴 明子, 加藤元博, 清河信敬, 滝田順子, 真田 昌, 小川誠司, 林 泰秀. 小児 T 細胞性急性リンパ性白血病における網羅的ゲノム解析. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.24
5. 柴 徳生, 加藤元博, 朴 明子, 真田昌, 金澤 崇, 黒澤秀光, 伊藤悦朗, 荒川浩一, 小川誠司, 林 泰秀. 若年性骨髄単球性白血病における CBL 遺伝子の解析. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.24
6. 滝田順子, 西村 力, 大木健太郎, 金兼弘和, 大喜多肇, 藤本純一郎, 菊地陽, 林 泰秀, 五十嵐隆, 小川誠司. Ewing/PNET family における ALK 遺伝子の解析. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.24
7. 大木健太郎, 滝田順子, 西村 力, 加藤元博, 陳 玉彦, 真田 昌, 菊地 陽, 林 泰秀, 五十嵐隆, 小川誠司. 神経芽腫における部分欠損型 ALK の活性化. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.24
8. 林 泰秀. 小児白血病の発症, 進展の分子遺伝学. 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.25
9. 山田佳之, 西 明, 江原佳史, 加藤政彦, 林 泰秀. 好酸球性胃腸疾患の 4 例. アレルギー・好酸球研究会 2010, 東京, 2010.6.19
10. 樋渡光輝, 滝田順子, 大久保淳, 西村力, 大木健太郎, 内坂直樹, 安達正時, 真田 昌, 加藤啓輔, 五十嵐 隆, 林泰秀, 小川誠司. 小児固形腫瘍における ALK 阻害剤を用いた抗腫瘍効果の検討. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010.9.22
11. 滝田順子, 西村 力, 大木健太郎, 樋渡光輝, 大久保淳, 内坂直紀, 真田昌, 大喜多肇, 藤本純一郎, 金兼弘和, 五十嵐隆, 林 泰秀, 小川誠司. 小児固形腫瘍における ALK 遺伝子の関与. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010.9.23
12. 柴 徳生, 加藤元博, 朴 明子, 真田昌, 花田良二, 伊藤悦朗, 荒川浩一, 小川誠司, 林 泰秀. 小児悪性造血腫瘍における CBL 遺伝子と MPL 遺伝子の変異解析. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010.9.24
13. 朴 明子, 加藤元博, 清河信敬, 滝田順子, 小川誠司, 林 泰秀. 小児 T 細胞性造血器腫瘍における LEF1 遺伝子の異常. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010.9.23
14. Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Ohkubo J, Uchisaka N, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. Genome-wide scanning of pediatric acute myeloid leukemia using SNP-genotyping microarrays. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.24
15. Shiba N, Kato M, Park MJ, Sanada M, Fukushima K, Kudo K, Hanada R, Ito E, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y. Mutation analyses of CBL and MPL genes in childhood leukemia and myelodysplastic syndrome. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.26
16. Matsubara A, Kato M, Sanada M, Takita J, Chiba S, Hayashi Y, Kobayashi Y, Watanabe T, Yoshino T, Koeffler JP, Bartram CR, Ogawa S. Genome-wide analysis using high-density SNP microarrays in various types of hematologic malignancies. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.25
17. Park MJ, Kato M, Kiyokawa N, Takita J, Ogawa S, Hayashi Y. Mutations of LEF1 gene in pediatric T cell acute lymphoblastic leukemia. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.25
18. Toki T, Kanezaki R, Wang RN, Terui K, Hayashi Y, Miura M, Maeda M, Ito E. Internal deletions of transcription factor GATA1 observed in transient abnormal myelopoiesis. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.25
19. 山田佳之, 西 明, 加藤政彦, 鈴木則夫, 林 泰秀. 当院で経験した好酸球性胃腸疾患の検討. 第 185 回日本小児科学会群馬地方会講話会, 前橋, 2010.11.28
20. Park MJ, Kiyokawa N, Kato M, Suzuki N, Oda M, Hara J, Kobayashi R, Horibe K, Ogawa S, Hayashi Y. LEF1 gene mutations

- in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia and T cell non-hodgkin's lymphoma. The 53rd ASH Annual Meeting and Exposition, Orlando, U.S.A. 2010.12.6
21. Muramatsu H, Hayashi Y, Kawamura M, Kojima S, Yabe M, Isoyama K, Taki T, Tsuji K, Tsuchida M, Manabe A, Ito E, Iwamoto S, Kato H, Sumie A, Taga T, Nomura K, Hasegawa D, Watanabe K, Kikuchi A. Low-dose cytosine arabinoside therapy for neonates with down syndrome (DS) and transient leukemia (TL). The 53rd ASH Annual Meeting and Exposition, Orlando, U.S.A. 2010.12.6
 22. Shiba N, Taki T, Park MJ, Nagasawa M, Takita J, Kato M, Kanazaw T, Sotomatsu M, Arakawa H, Hayashi Y. CBL mutations in therapy-related leukemia and infant leukemia. The 53rd ASH Annual Meeting and Exposition, Orlando, U.S.A. 2010.12.7
 23. 村松秀城, 菊地 陽, 林 泰秀, 川村眞智子, 小島勢二, 矢部みはる, 磯山恵一, 滝 智彦, 辻浩一郎, 土田昌宏, 真部 淳. ダウン症候群に合併した一過性骨髄異常増殖症 148 例の後方視的解析. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.17
 24. 佐野弘純, 嶋田 明, 村田知里, 朴 明子, 外松 学, 滝 智彦, 田渕 健, 多和昭雄, 堀部敬三, 土田昌宏, 花田良二, 月本一郎, 林 泰秀. 急性骨髄性白血病における RAS 遺伝子変異と臨床像. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.18
 25. 柴 徳生, 滝 智彦, 朴 明子, 長澤正之, 金澤 崇, 外松 学, 荒川浩一, 林 泰秀. 治療関連白血病における CBL と RAS 遺伝子の解析. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.18
 26. 大木健太郎, 滝田順子, 樋渡光輝, 西村 力, 大久保淳, 安達正時, 真田 昌, 外松 学, 林 泰秀, 小川誠司, 五十嵐隆. 小児悪性腫瘍における Isocitrate dehydrogenase 1/2 の変異解析. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.18
 27. 朴 明子, 清河信敬, 加藤元博, 鈴木信寛, 小田 慈, 原 純一, 小林良二, 小川誠司, 堀部敬三, 林 泰秀. T 細胞性急性リンパ性白血病における LEF1 遺伝子異常の解析. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.19
 28. 滝田順子, 安達正時, 西村力, 吉田健一, 小川誠司, 林 泰秀. 次世代シーケンサーによる神経芽腫におけるエクソーム解析. 第 6 回 JNBSG 研究会, 東京, 2011.1.30
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
該当なし。
 2. 実用新案登録
該当なし。
 3. その他
該当なし。

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

小児好酸球性食道炎の患者全体像の把握と診断・治療指針の確立に関する研究

研究分担者 平戸 純子 群馬大学医学部附属病院病理部 准教授

研究要旨:本邦では発生頻度の低い好酸球性食道炎について患者の実態を調査し、欧米に比較して発生頻度が低いのか、認知されていないのか明らかにする。さらに疑いのある症例を集めて、病理学的診断基準に基づき、診断を確定した症例について、臨床データの収集、サイトカイン測定やアレルゲン検索などを行い患者の全体像の把握に努める。さらに遺伝子、ゲノム解析を加え、これらのデータを総合して診断に有用な指標を抽出し、最終的に好酸性食道炎の診断基準を作成する。

A. 研究目的

分担者としての役割は生検検体の病理組織像を解析し、臨床データと合わせて、検討し、好酸球性食道炎の確定診断を行うことであるが、好酸球数/HPFの基準だけでなく、他に有意な特徴像があるか検討し、病理学的な診断基準の作成に努める。

B. 研究方法

好酸球性食道炎が疑われる症例や臨床的に類似した点がある逆流性食道炎の症例の食道生検標本を集め、上皮の変化、好酸球の浸潤の様子、浸潤密度(強拡大1視野あたりの好酸球数)、好酸球性膿瘍、Charcot-Leyden結晶の有無、固有層の線維化などを観察し臨床情報と合わせて、病態を反映する有意な特徴は何かを検討する。さらに、検索できる症例があれば肥満細胞やeotaxin-3を免疫組織化学的に検索し、これらの関与について組織切片上での解析を行う。

(倫理面への配慮)

研究への使用について患者および患者の同意を得た検体について、研究を実施する。結果は匿名化し発表する。

C. 研究結果

症例の収集が進んでいないため、分担者が日常的に病理診断を行っている群馬県立小児医療センターの過去の生検例を研究代表者とともに見直したところ、好酸球性食道炎の基準を満たす好酸球浸潤を伴う症例が認められた。また、食道閉鎖術後の患者の生検検体で好酸球浸潤を伴う症例が認められた。

他施設からの症例の収集は進んでいないが、

最近典型的な症例が寄せられた。

D. 考察

過去の症例の見直しから、好酸球性食道炎について、臨床医、病理医ともに認知度が低いため、見落としている症例の存在が、示唆された。

教科書的な好酸球浸潤の基準として、15または20個/HPFとされているが、この数のみで決められるのか、計測部位の問題も考えられ、病変の質的な特徴を加味する必要はないかなどの問題点がある考えられた。

E. 結論

小児好酸球性食道炎と診断しうる症例の存在が明らかとなったが、症例数が少なく、詳細な検討はできていない状態である。今後、情報発信によって、さらに症例の収集が可能となると考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表
該当なし。
2. 学会発表
該当なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
該当なし。

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

新生児、乳児の食物蛋白誘発胃腸炎(N-FPIES)消化管組織で発見された
好酸球性食道炎についての研究

分担研究者 野村伊知郎 成育医療研究センター アレルギー科 医師
研究協力者 新井勝大 成育医療研究センター 消化器科 医長

研究要旨:目的;新生児乳児食物蛋白誘発胃腸炎(N-FPIES)は、新生児や乳児における消化管を主座とした炎症性疾患である。さまざまな症状を呈するが、その病理学的報告はほとんど行われていない。一方 2000 年ころから欧米で急激な増加を見せている、好酸球性食道炎(EoE)は白人の男子に多く、主に食道が侵される。今回、N-FPIES の消化管組織を観察し、EoE の要素がないか否か研究を行った。

研究デザインなど方法 ;12 名の患者で、食道、胃、十二指腸、回腸、結腸、S 状結腸の粘膜組織を採取し、組織染色後、光学顕微鏡にて評価を行った。

結果;N-FPIES のなかでも体重増加不良が前面に立つ、クラスター3 の 7 名の病理像をみると、食道から直腸まで広範囲に炎症細胞の浸潤が見られ、特に 2 名は食道上皮において好酸球 30 個/HPF 以上の明らかな増加が認められた。

結語;N-FPIES クラスター3 で消化管の広範囲にわたる炎症の一所見として、明らかな EoE を認めた。しかし、欧米で見られるような食道のみが侵されるタイプではなく、国家間、人種間の差は大きい。今後消化管病理の炎症部位の distribution について大がかりな研究を組む必要がある。

A. 研究目的

新生児食物蛋白誘発胃腸炎(N-FPIES)は、消化管を主座とした炎症性疾患である。さまざまな症状を呈するが、消化管は食道～直腸と広範囲にわたり、患者によって侵される部位に差があることが予想される。これまでに欧米で類縁疾患において、いくつかの報告がある。FPIESについては、好酸球の浸潤はなく、単核球が粘膜固有層に増加しており、免疫染色を行って、腸上皮細胞、単核球ともに TNF-alpha を産生していることが報告されている。

Enteropathy では、小腸を中心とした粘膜固有層に好酸球の浸潤があるとされている。Proctocolitis においても Enteropathy と同様の好酸球浸潤が観察されている。

今回臨床症状から N-FPIES が 4 つのクラスターに分かれることが明らかになったが、それぞれのクラスターは図のように症状から消化管の障害部位が推定される。この推定が正しいか否かを検証する。

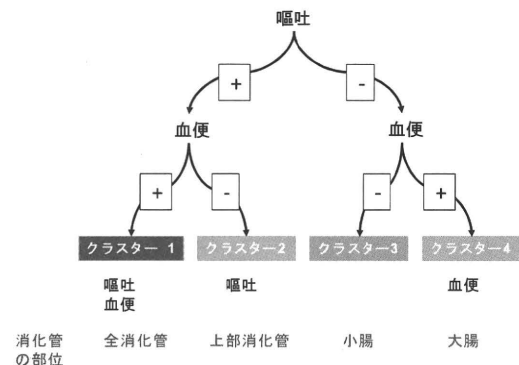


図1;今年度の研究で得られたN-FPIESの4つのクラスター、それぞれの症状から推定された消化管部位を青字で記載している。

N-FPIES の特異的な病理所見がないか探索するという目的もある。

また、山田班の研究内容である好酸球性食道炎(EoE)と似た病理所見がないか、食道についても特にフォーカスして研究を行った。

B. 研究方法

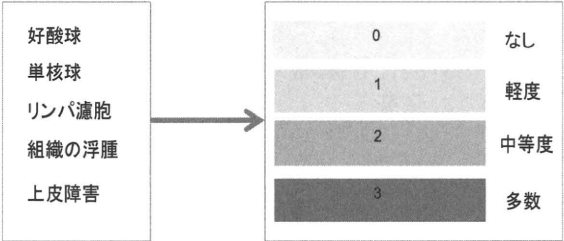


図 2; 病理組織の評価方法、好酸球など5つの項目について、病理医が4段階で評価を行った。

12 名の N-FPIES 患者について、消化管内視鏡検査を行い、食道、胃、十二指腸、回腸、結腸、直腸から組織を採取、染色を行って、5つの項目について病理医が評価を行った。
(倫理面への配慮)

詳細を総括のページに記載している。
本研究のすべての研究計画は、国立成育医療センター倫理委員会の承認を得ている(2009 年 9 月)。

C. 研究結果

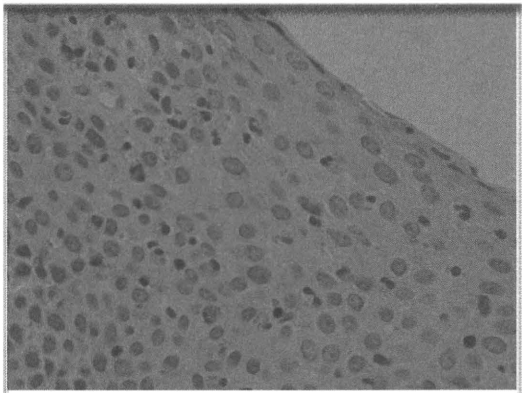
表 1; 12 名の N-FPIES 患者、臨床情報

Patients' No	sex	onset	age at fiberscope	birth weight	symptoms at onset		Cluster
					vomiting	bloody stool	
1	M	7d	10d	3232	++++	++	1
2	M	7d	8mo	2230	++	-	2
3	M	8mo	1y 2mo	-	++	-	3
4	M	5mo	1y 3mo	2800	-	-	3
5	F	3mo	11mo	2330	-	-	3
6	F	2mo	7mo	3165	-	-	3
7	M	3mo	8mo	2652	-	-	3
8	M	1y?	2y 0mo	2508	-	-	3
8	M		2y 11mo		-	-	3
9	F	4mo	4mo	-	-	-	3
10	F	2y	2y	-	-	++++	4
11	M	28d	1mo 3d	2176	-	++++	4
12	M	2mo	4mo	2548	-	+++	4

3の患者は嘔吐を示しているにもかかわらず、クラスター3に分類されている。この理由は、最初の数か月の症状が体重増加のみであり、病態の本質はクラスター3と考えたからである。

12 名が成育医療センターにて診断治療目的で入院し、消化管内視鏡検査を施行された。患者の臨床情報を表に示す。12 人中 7 名がクラスター3であった。この理由は、クラスター3は嘔吐や血便、頻回の下痢などの明らかな消化器症状に乏しく、診断が非常に困難であり、消化管内視鏡が診断の鍵を握る検査であるからであろう。事実、これらの 7 名は組織検査で、

粘膜への好酸球の著明な浸潤、単核球の浸潤などが観察され、N-FPIES の診断に至り、治療後、体重増加不良や発達遅滞が改善された。



Esophagus, stratified squamous layer

図 3; Patient's number 4 の患者消化管組織検査、食道粘膜、重層扁平上皮の中に多数の好酸球が浸潤しているのがわかる。

表 2; クラスター3 の 7 名の (patient number 8 のみは原因食物の有無で 2 回採取されている) 食道、胃、十二指腸、回腸、結腸、直腸それぞれについて好酸球、単核球、リンパ濾胞、組織の浮腫、上皮障害の 5 項目を 3 段階で評価した。一見して、小腸のみならず、全消化管に病変が分布していることがわかる。

No	antigen	esophagus	stomach	duodenum	ileum	colon	rectum
3	yes	Eosinophils	0	0	1	1	1
		Mononuclear cells	0	1	2	1	1
		Lymph follicle	0	2			
		Tissue edema	0	2	1	3	3
		epithelial damage	0	1	1	0	0
4	yes	Eosinophils	3	2	2	2	1
		Mononuclear cells	2	1	2	2	3
		Lymph follicle	0	0	0	2	2
		Tissue edema	0	1	1	2	3
		epithelial damage	0	0	0	0	0
5	yes	Eosinophils	3	0	1	1	2
		Mononuclear cells	2	1	2	2	3
		Lymph follicle	2	0	0	2	2
		Tissue edema	2	2	0	1	2
		epithelial damage	3	0	0	0	3
6	yes	Eosinophils	0	1	1		3
		Mononuclear cells, plasma cells	0	1	2		3
		Lymph follicle	0	0	0		2
		Tissue edema	0	0	0		2
		epithelial damage	0	0	0		0
7	yes	Eosinophils	1	2	3	2	2
		Mononuclear cells	1	2	3	2	2
		Lymph follicle	0	1	2	1	3
		Tissue edema	0	1	2	1	3
		epithelial damage	0	0	3	0	0
8	yes	Eosinophils	0	0	2	3	2
		Mononuclear cells	0	1	2	3	2
		Lymph follicle	0	2	0	2	1
		Tissue edema	0	2	1	2	2
		epithelial damage	0	0	0	0	0
8	no	Eosinophils	0	0	0		1
		Mononuclear cells	0	0	1		1
		Lymph follicle	0	0	0		?
		Tissue edema	0	0	0		?
		epithelial damage	0	0	0		?
9	yes	Eosinophils				2	1
		Mononuclear cells				3	2
		Lymph follicle				3	2
		Tissue edema				?	?
		epithelial damage				2	1

表 3; クラスター3 の 7 名の (patient number 8 のみは原因食物の有無で 2 回採取されている) 食道、胃、十二指腸、回腸、結腸、直腸について好酸球浸潤を 3 段階で評価した。患者番号 4,5 で食道に好酸球浸潤が認められた

		Eosinophils					
No	antigen	esophagus	stomach	duodenum	ileum	colon	rectum
3	yes	0	0	1	1	1	1
4	yes	3	2	2	2	2	1
5	yes	3	0	1	1	1	2
6	yes	0	1	1		3	3
7	yes	1	2	3	2	2	2
8	yes	0	0	2	3	2	2
8	no	0	0	0		1	1
9	yes				2	1	1

クラスター1と2は、今回1人ずつしか検討されておらず、大勢を論ずることは難しい。

クラスター3 では食道から直腸まで広い範囲に異常が分布していた。うち 2 名では、明らかに食道粘膜の多数の好酸球浸潤が見られた。また脱かりゅう所見もあった。つまり、広義の EoE 所見と言えよう。これは、欧米などからの報告と異なり、小腸以外にも病変が存在することを示唆している。好酸球と単核球の浸潤が目立ち、リンパ濾胞は回腸～直腸にかけて多数観察されたが、患者によっては食道、胃、十二指腸にも見られた。組織の浮腫は強い場合も多かった。反面、上皮障害は一部にとどまっていた。番号 8 の患者では、原因食物の有無で比較が可能であったが、炎症細胞は原因食物が除去されていると減少し、好酸球にその傾向が強かった。

クラスター4は3名いたが、クラスター3と同じく、好酸球と単核球の浸潤が著明であった。リンパ濾胞、浮腫もともにみられた。上皮障害は見られ、血便がみられることを説明していた。

D. 考察

N-FPIES は当初の予想に反して、食道にも病変が認められ、嘔吐や摂食障害など EoE と臨床的にも似通った部分がある。欧米の報告 (Eosinophilic esophagitis.Noel RJ, Putnam PE, Rothenberg ME.N Engl J Med. 2004 Aug 26;351(9):940-1) によると、近年その患者数が 35 倍に増加したとされているが、N-FPIES も同様に 1990 年代終わりから急激な増加を見せている。もしかすると共通の病態、病因が存在する可能性もある。ただし、欧米の EoE は、白人男子に多く、かつ炎症が食道に局限していることが多い。あきらかに我々が多く診療している N-FPIES や好酸球性胃腸炎と異なっている。この点、欧米で行われている患者集積研究に匹敵する研究を行って、消化管の炎症

distribution などをはっきりとさせて比較を行う必要がある。

また今後行うべきこととしては、マイクロレイによる詳細な発現解析ももうひとつの主役となろう。クラスター3 VS 4、AEG、EoE を比較して、炎症の本質に差があるかどうか見極める必要がある。マイクロレイの結果を受けて、リアルタイム PCR や免疫組織染色を行う。

E. 結論

N-FPIES クラスター3 で消化管の広範囲にわたる炎症の一所見として、明らかな EoE を認めた。しかし、欧米で見られるような食道のみが侵されるタイプではなく、国家間、人種間の差は大きい。今後、消化管病理の炎症部位の distribution について大がかりな研究を組む必要がある。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Four distinct subtypes of non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial symptoms Nomura I, Morita H, Hosokawa S, Hoshina H, Fukuie T, Watanabe M, Ohtsuka Y, Shoda T, Terada A, Takamasu T, Arai K, Ito Y, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K, J Allergy Clin Immunol. 2011 Mar;127(3):685-688.e8. (野村伊知郎 ; corresponding and first author)
- 野村伊知郎、森田英明 新生児-乳児消化管アレルギー 小児科診療 2010 年 4 月 30 日発刊 第 73 巻増刊号 小児の治療指針 263-267
- 野村伊知郎、森田英明 新生児-乳児消化管アレルギー 特集 食物アレルギー最新情報、IV 注意が必要な食物アレルギー 小児科診療 第 73 巻 7 号 2010 年
- 野村伊知郎、新たな疾患・病態の概念 新生児-乳児消化管アレルギー 小児科診療 72 巻 7 号、1225-1236 (2009.07)
- 野村伊知郎、Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome (FPIES), 臨床、病態のまとめと診断治療指針作成、小児

アレルギー学会雑誌、2009、第 23 巻第一号、34-47.

2. 学会発表

1. Four clusters were identified in abruptly-increasing neonates and infants with food protein-induced gastrointestinal syndrome, Nomura I et al. American Academy of Asthma Allergy and Immunology, Annual meeting, March 20th, 2011 in Sanfrancisco CA.
2. Morita H, Nomura I et al. Milk protein-specific cytokine secretion profiles in infant patients with FPIES and proctocolitis. American Academy of Asthma Allergy and Immunology, Annual meeting, March 21th, 2011 in Sanfrancisco CA. (Oral presentation was done by Nomura I, because of earthquake)
3. 新生児・乳児消化管アレルギーの病型分類、森田英明、野村伊知郎、松本健治、斎藤博久 第 22 回日本アレルギー学会春季臨床大会、2010 年 5 月 8 日、国立京都国際会館
4. 新生児・乳児消化管アレルギーにおける便中 Eosinophilic-Derived Neurotoxin 測定の有用性 野村伊知郎、森田英明、伊藤直樹、正田哲雄、渡邊美砂、新井勝大、松本健治、斎藤博久、大矢幸弘：第 60 回 日本アレルギー学会秋季学術大会、2010 年 11 月 27 日、場所；東京国際フォーラム
5. シンポジウム 新生児・乳児消化管アレルギー 新生児 乳児消化管アレルギーの病態、森田英明、野村伊知郎、斎藤博久、松本健治、第 47 回日本小児アレルギー学会、2010 年 12 月 4 日 場所；パシフィコ横浜
6. シンポジウム 新生児・乳児消化管アレルギー 新生児 乳児消化管アレルギー最近の動向 小児アレルギー科医の立場から、野村伊知郎、第 47 回日本小児アレルギー学会、2010 年 12 月 4 日、場所；パシフィコ横浜
7. 小児消化管アレルギー Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome(FPIES)におけるLPS除去乳抗原を用いたリンパ球幼若化試験、森田英明、野村伊知郎、松田明生、斎藤博久、松本健治 第 60 回 日本アレルギー

学会秋季学術大会 2010 年 11 月 26 日 場所；東京国際フォーラム

8. Nomura I et al. Elevation of Fecal Eosinophil-Derived Neurotoxin in Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome American Academy of Asthma, Allergy and Immunology Meeting, March 2010, New Orleans
9. Morita H et al. Food protein-specific lymphocyte proliferation assay for the diagnosis of Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome American Academy of Asthma, Allergy and Immunology, March, 2010, New Orleans
10. 2009 年 12 月 小児アレルギー学会シンポジウムを運営
11. 森田英明ほか、新生児・乳児消化管アレルギーの診断法について アレルゲン特異的リンパ球刺激試験 新生児乳児消化管アレルギーの診断と病態解明を目指して 日本小児アレルギー学会、2009.12.
12. 野村伊知郎、新生児・乳児消化管アレルギーの診断法について 好酸球関連物質について 日本小児アレルギー学会、2009.12.
13. 伊藤直樹ほか、新生児乳児消化管アレルギー(FPIES)は胎児期から発症する 日本未熟児新生児学会、2009.10.
14. 正田哲雄ほか、敗血症様の症状を呈した乳児消化管アレルギーの一例 日本小児アレルギー学会、2009.12
15. 近藤應ほか、当施設における新生児の便中 EDN の検討と新生児乳児消化管アレルギーの診断への応用、日本小児アレルギー学会、2009.12.
16. 野村伊知郎ほか、新生児-乳児消化管アレルギー、症例集積研究と診断検査法について、日本小児栄養消化器肝臓学会、2009.10.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
便EDN測定は、保険収載を目指している。