

Fig. 1 Intraoperative chart of blood pressure and heart rate.

formed each year has also steadily risen since LDLT was first performed in 1988 in Brazil.<sup>6</sup> According to the Japanese Society for Transplantation, more than 6000 patients received living donor liver transplants between 1989 and 2009 in Japan.<sup>7</sup> The Organ Procurement and Transplantation Network in the United States (<http://optn.transplant.hrsa.gov/>) estimated 282 cases of LDLT in 2010. Although this is the first report of latex-induced anaphylactic shock occurring in an LDLT donor, it is increasingly likely that transplant surgeons will encounter donors or donor candidates with latex allergy potential.

This case highlighted the risk of latex-induced anaphylactic reaction during LDLT operation. Obstetric and gynecologic procedures are the most common settings for latex anaphylaxis during surgery,<sup>5,8-11</sup> but our donor's past child deliveries were all uneventful. Because she reported a recent increasingly intense allergic reaction to kitchen gloves, we assume that she had been sensitized by the kitchen rubber gloves rather than past exposure to surgical procedures, and that sensitization might have increased her risk for latex allergy during the donor operation. Preoperatively, we simply asked the patient about her allergic history but we were not focusing on latex allergy. She answered that she had allergy only to pollen and mackerel and did not

refer to her recent experience of itching from kitchen rubber gloves. Because of lack of information that was indicative of the latex anaphylaxis potential, we had not considered this patient to be at risk for latex allergy. Even during the operation we did not initially suspect latex allergy, although a protocol of diagnosis and management for latex allergy and latex-free equipment store were available as part of our standard operating room equipment. Turillazzi *et al*<sup>5</sup> also highlighted difficulties in the initial diagnosis of latex allergy and reported a fatal case of anaphylactic latex reaction during anesthesia. Surgeons should be aware that latex allergy is rare but possible in both donor and recipient operations and should obtain detailed histories from the patients with respect to potential risk factors for latex allergy. Risk factors for latex allergy include work occupations and medical histories; health care or rubber industry workers, atopic individuals, spina bifida patients, multiple surgical procedures, and allergy to fresh fruits and nuts.<sup>12</sup> If a donor or recipient has such a risk factor, or, especially, has an increasing allergic reaction to rubber as did our patient, a preoperative test, such as a prick test, is recommended to confirm hypersensitivity to latex. If circulatory collapse and respiratory failure occur during surgery due to latex allergy, the donor

should be resuscitated adhering to the guideline for management of latex allergy<sup>13</sup> and the operation should be stopped as soon as possible. Although the implications of high doses of epinephrine for the graft have not been fully elucidated, we have no alternative but to use standard resuscitative drugs and procedures, even for the living donor.

This case also highlighted the issue of whether it is safe to use the same donor after recovery from the latex-induced anaphylactic reaction. We usually perform latex-free operations for patients with known latex allergy. If an episode of latex-induced anaphylactic reaction accidentally occurs during surgery, and if the disease the patient is being treated for is life threatening, the operation can be continued excluding latex items or the patient can be rescheduled for a latex-free operation at a later date. However, we must be always aware that donor safety is the golden rule. We cannot rule out the possibility that another allergen caused the anaphylactic reaction in this case, and it is not possible to test for allergy to all possible allergens. Even for the recipient, it is unknown whether the liver graft derived from donor with latex allergy has no immune reactions in the post-transplant course. Therefore, we ultimately decided that this woman was unsuitable as a living donor. We knew that this donor was the only possible living donor for the recipient, because all other relatives were medically or socially unqualified as living donors. However, no risk should be tolerated for the donor even if there are fewer alternative candidate donors. We believe that transplant surgeons should be knowledgeable about the risks of latex allergy during transplant surgery and use this knowledge to make more precise judgments when assessing donor qualifications.

## References

- Morales C, Basomba A, Carreira J, Sastre A. Anaphylaxis produced by rubber glove contact. Case reports and immunological identification of the antigens involved. *Clin Exp Allergy* 1989;19(4):425
- Hasegawa Y, Kawachi S, Shimazu M, Hoshino K, Tanabe M, Fuchimoto Y *et al.* Discontinuation of living donor liver transplantation for PSC due to histological abnormalities in intraoperative donor liver biopsy. *Am J Transplant* 2007;7(9):2204
- Atanaskovic-Markovic M, Gavrovic-Jankulovic M, Cirkovic Velickovic T, Vuckovic O, Ivanovski P, Nestorovic B *et al.* Intraoperative anaphylactic shock in a child with no history of type I hypersensitivity. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2008;7(2):97
- Poterio GM, Braga Ade F, Santos RM, Gomes Ide F, Luchetta MI. Anaphylaxis during renal transplantation of live donor graft in a child with latex allergy: case report. *Rev Bras Anesthesiol* 2009;59(2):210
- Turillazzi E, Greco P, Neri M, Pomara C, Riezzo I, Fineschi V. Anaphylactic latex reaction during anaesthesia: the silent culprit in a fatal case. *Forensic Sci Int* 2008;179(1):e5
- Raia S, Nery JR, Mies S. Liver transplantation from live donors. *Lancet* 1989;2(8661):497
- The Japanese Society for Transplantation. *Fact Book 2009*. Tokyo: The Japanese Society for Transplantation, 2009
- Ahmed DD, Sobczak SC, Yunginger JW. Occupational allergies caused by latex. *Immunol Allergy Clin North Am* 2003;23(2):205
- Draisci G, Nucera E, Pollastrini E, Forte E, Zanfini B, Pinto R *et al.* Anaphylactic reactions during cesarean section. *Int J Obstet Anesth* 2007;16(1):63
- Draisci G, Zanfini BA, Nucera E, Catarci S, Sangregorio R, Schiavino D *et al.* Latex sensitization: a special risk for the obstetric population? *Anesthesiology* 2011;114(3):565
- Lieberman P. Anaphylactic reactions during surgical and medical procedures. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110(2 Suppl):S64
- Hepner DL, Castells MC. Latex allergy: an update. *Anesth Analg* 2003;96(4):1219
- Lieberman P, Nicklas RA, Oppenheimer J, Kemp SF, Lang DM, Bernstein DI *et al.* The diagnosis and management of anaphylaxis practice parameter: 2010 update. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(3):477

## 〔症例報告〕

術前化学放射線療法後膵頭十二指腸切除術を施行し、  
長期生存を認めた腹膜播種による Stage IVb 膵頭部癌の 1 例

西山 亮<sup>1)</sup> 相浦 浩一<sup>2)</sup> 北郷 実 篠田 昌宏  
板野 理 河地 茂行 田辺 稔 上田 政和<sup>1)</sup>  
真杉 洋平 坂元 亨宇<sup>3)</sup> 北川 雄光<sup>1)</sup>

要 旨：症例は 70 歳，男性，膵頭部癌（TS2, PV (+), T4N0M0, Stage IVa）の診断にて術前化学放射線療法（5-FU, MMC, CDDP+Radiation 40Gy）施行後，膵頭十二指腸切除術を行った。病理組織診断は高分化型管状腺癌 T4N0M1（PER；omentum），Stage IVb であり，病理上，腫瘍本体に加え腹膜結節にも術前化学放射線療法の組織学的効果を認めた。術後 Gemcitabine を開始したが，5 年 2 カ月後右肺転移を認め，右肺 S9-10 切除術を施行。その後，胸膜播種を認め初回手術から 6 年 7 カ月後に死亡した。腹膜播種による Stage IVb にもかかわらず術後長期生存した 1 例を経験した。

索引用語：膵癌 腹膜播種 肺転移 術前化学放射線療法 長期生存

## はじめに

膵癌はいまだ予後不良の疾患であり，腹膜播種による Stage IVb の長期生存例は非常に稀である。今回，我々は術後診断にて腹膜播種を認めたにもかかわらず，術前化学放射線療法および術後化学療法を行い，術後 5 年 2 カ月で肺転移に対して肺切除を施行，初回手術後 6 年 7 カ月間生存した症例を経験した。そこで術前化学放射線療法の腹膜播種巣への効果，長期生存における肺転移に対する肺切除の効果について考察した。

## 症 例

患者：70 歳，男性。

主訴：なし。

既往歴：20 歳時，肺結核にて左肺上葉 2/3 切除。45 歳時より，心房細動（ジゴシン 0.25mg 内服

中）。

現病歴：近医の血液検査で  $\gamma$ -GTP 高値を指摘され，腹部超音波を施行したところ膵癌を疑われたため，当院を紹介され受診した。

初回手術時現症：身長 182cm，体重 78.5kg，血圧 125/85mmHg，心拍数 56 回/分・不整，体温 36.4℃。意識清明。眼瞼結膜・眼球結膜に貧血・黄疸なし。腹部に腫瘤や表在リンパ節は触知せず。

初回手術前検査所見：

血液検査所見（Table 1）；ALT 47IU/l， $\gamma$ -GTP 224IU/l と軽度肝機能障害と胆道系酵素の上昇を認めたが，TB は正常であった。腫瘍マーカーは CEA 6.0ng/ml，CA19-9 320ng/ml，DUPAN2 1390 ng/ml と上昇を認めた。

腹部造影 CT 検査（Fig. 1a~c）：膵頭部に大きさ 28×20mm の造影効果の乏しい内部不均一な腫瘤病変を認め，膵癌に矛盾しないと考えられた。前方および後方組織への浸潤が疑われ，門脈と脾静脈の合流直下に腫瘍浸潤によると思われる血管の狭小化を認めた。

腹部 MRI 検査（Fig. 2）：膵頭部に一致する主膵管は高度狭窄を示し，尾側膵管には拡張を認めた。

<sup>1)</sup> 慶應義塾大学一般・消化器外科

<sup>2)</sup> 川崎市立川崎病院外科

<sup>3)</sup> 慶應義塾大学病理学教室

<受理日：平成 23 年 10 月 17 日>

Table 1 入院時血液検査所見

WBC	7500×10 <sup>3</sup> /μl	BUN	14.0mg/dl	ALP	201IU/l
RBC	5.52×10 <sup>6</sup> /μl	Cre	0.9mg/dl	γ-GTP	224IU/l
HGB	16.6g/dl	Na	137.9mEq/l	CH-E	264IU/l
HCT	48.8%	K	4.6mEq/l	AMY	75IU/l
PLT	228×10 <sup>3</sup> /μl	Cl	98mEq/l	CEA	6.0ng/ml
APTT	30.8sec	Glu	151mg/dl	CA19-9	320ng/ml
PT-%	100<%	HbA1c	7.4%	Elastase-1	177ng/ml
TP	7.1g/dl	TC	261mg/dl	DUPAN2	1390ng/ml
ALB	4.2g/dl	CRP	0.30mg/dl		
TB	0.7mg/dl	LDH	168IU/l		
		AST	32IU/l		
		ALT	47IU/l		

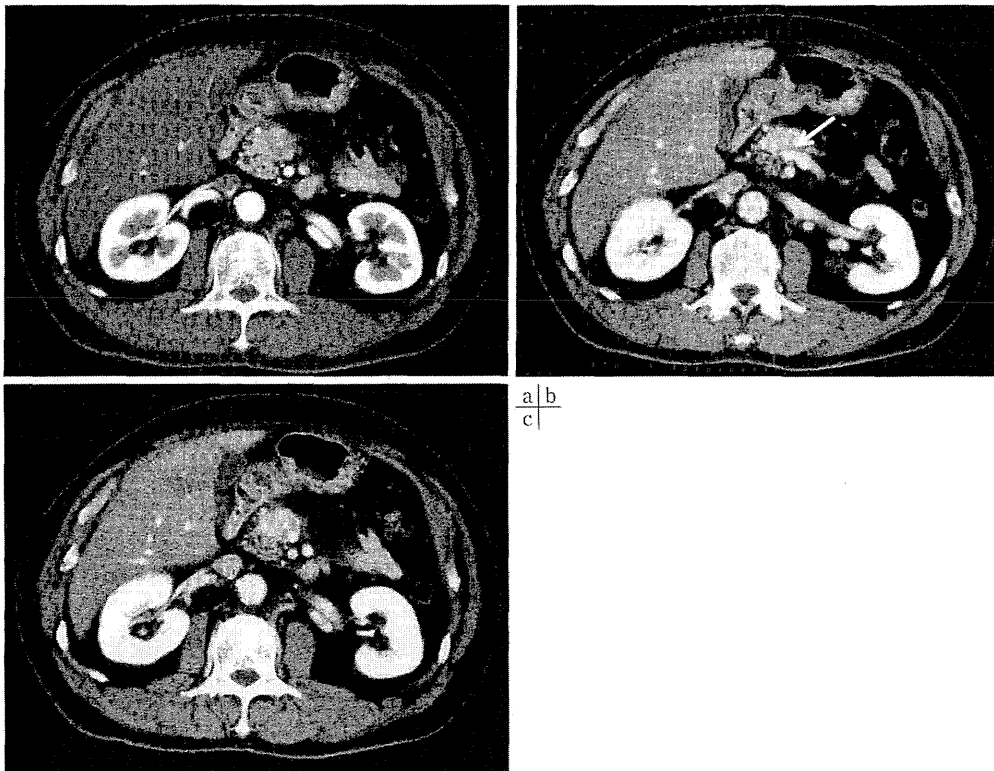


Fig. 1 腹部造影CT検査 (a: 動脈相, b, c: 門脈相)

膵頭部に28×20mmの腫瘍を認め、前方組織と後方組織への浸潤を認めた。また、門脈から脾静脈への分岐直後に腫瘍の浸潤による狭小化(矢印)を認めた。

以上より、膵頭部癌(TS2, CH(-), DU(-), S(+), RP(+), PVsm(+), A(-), PL(-), OO(-), T4, N0, M0, Stage IVa)の診断にて術前化学放射線療法を施行した。放射線療法は40Gy(2.0Gy/day, days 1-5/w×4計20回)照射し、化

学療法は5 fluorouracil(5-FU)(300mg/day, days 1-5/w×4, civ.), mitomycin C(MMC)(4mg/body/day, days 1, 8, 15, 22, bolus iv.), cisplatin(CDDP)(10mg/body/day, days 2, 9, 16, 23, bolus iv.), heparin(6000IU/body/day, days 1-7/w×

4, civ.) を投与した (Fig. 3). 術前照射線量に関しては, Gillen ら<sup>1)</sup>の Systematic review によれば 24~63Gy までの報告があるが, 我々は 50Gy を照射した同じレジメンによる膵癌非切除例に対する経験から抗腫瘍効果と耐術能を損なわないバランスを考慮し 40Gy とした. 術前化学放射線療法後, 原発巣腫瘍サイズは 28.6% の縮小を認め, CA19-9 は 24.9% 低下し (250ng/ml), RECIST (version 1.1) 基準<sup>2)</sup>による効果判定では SD であった (Fig. 4). 術前化学放射線療法終了 1.5 カ月後に膵頭十

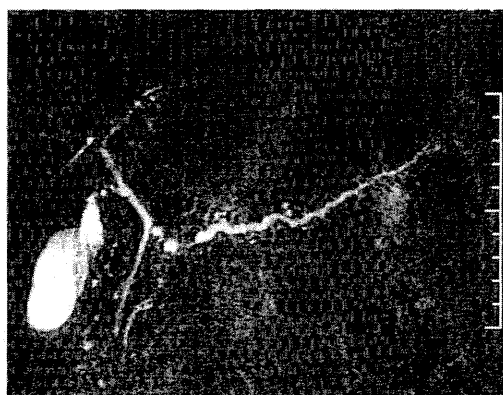


Fig. 2 MRCP 検査  
膵頭部では主膵管の不整と高度狭窄, その尾側で拡張を認めた.

二指腸切除術を施行した.

手術所見: 最初に腹腔鏡にて遠隔転移がないことを確認し, 開腹した. 次に, リンパ節 #16a2, #16b1 に転移がないことを迅速病理にて確認した. 腫瘍は脾静脈合流部直下の上腸間膜静脈に浸潤していたため門脈を合併切除し, 膵頭十二指腸切除術 (D2 郭清, 上腸間膜動脈神経叢右半周郭清) を施行した. 再建は Child (IIA-2) とした. さらに, 術後門注補助化学療法のために再疎通させた臍静脈よりカテーテル (6Fr: アンスロン P-U カテーテル, 東レメディカル) を挿入し, 先端を上腸間膜静脈内へ留置した. 門注療法は術直後から 4 週間, 5-FU, MMC, CDDP, heparin の多剤併用持続投与で行った<sup>3)</sup>.

病理組織学所見: 腫瘍本体部分では腺管構造の乱れの見られる部分で癌細胞が高度に変性し, マクロファージの出現も見られ, 術前化学放射線療法の効果と考えられた (Fig. 5a, b). 腫瘍の変性像は 1/3 以上 2/3 以下であり, 「臨床・病理乳癌取扱規約」の「組織学的効果の判定基準」を参照すると Grade 1b であった<sup>4)</sup>. 開腹時所見では腹膜播種は分からなかったが, 切除検体の網嚢内の大網に腹膜播種結節を認めた. 腹膜播種部には癌細胞が散見されたが, 結合織・線維化が強く, 小血管の閉塞像も認めた. これらから腹膜播種部にも術

### 術前化学放射線療法

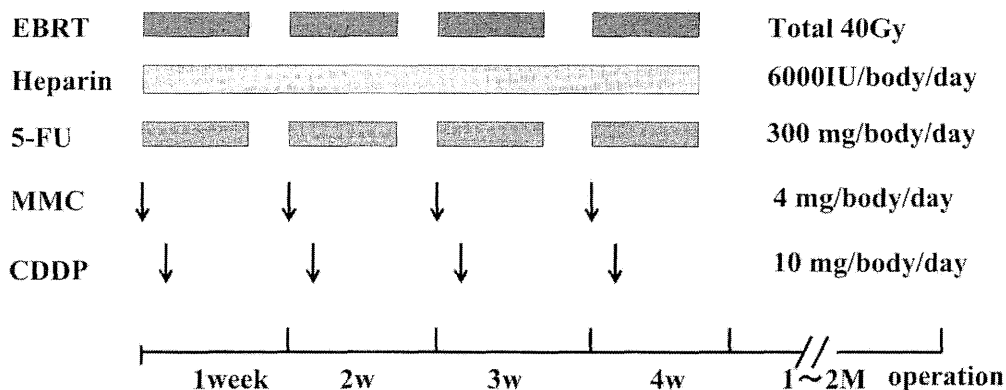
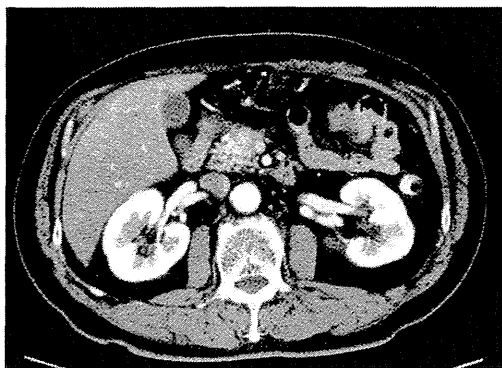


Fig. 3 術前化学放射線療法のレジメン

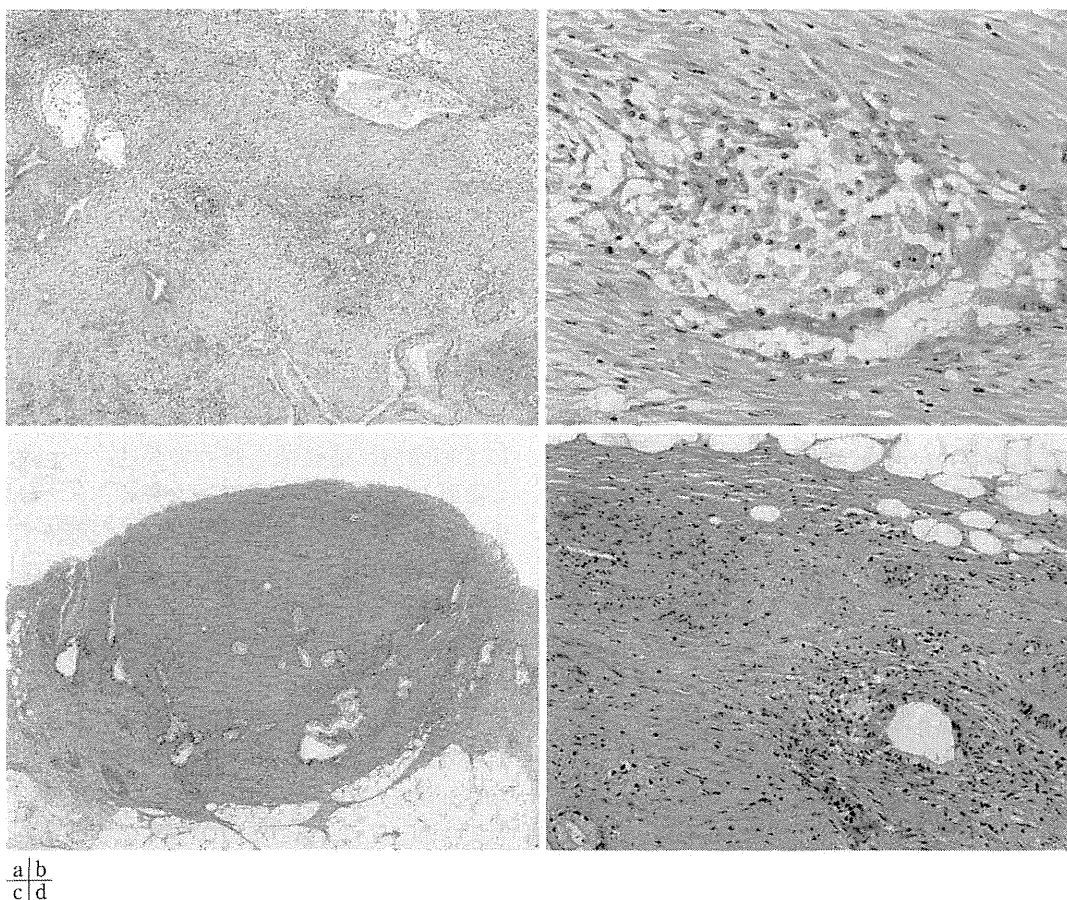
体外照射 40Gy に加え, 5 fluorouracil, mitomycin C, cisplatin, heparin を併用投与した.  
EBRT: 体外照射, 5-FU: 5 fluorouracil, MMC: mitomycin C, CDDP: cisplatin



**Fig. 4** 術前化学放射線療法後 CT 検査  
術前化学放射線療法後、原発巣腫瘍サイズは術前化学放射線療法前 (Fig. 1) と比較して 28.6% の縮小を認め、RECIST 基準による効果判定では SD であった。

術前化学放射線療法の効果が及んでいる可能性が示唆された (Fig. 5c, d)。以上より、浸潤性膵管癌、Tubular adenocarcinoma, well-differentiated type, scirrhus type, INF $\beta$ , ly1, v1, ne1, mpd (-), CH(-), DU(-), S(+), RP(+), PVsm (+), A(-), PL(-), OO(-), T4, N0, M1 (PER: omentum), Stage IVb, PCM(-), BCM(-), DPM(-) と診断された。

術後、外来にて血清 CEA の漸増を認めたため術後 1 年 9 カ月で Gemcitabine (GEM) 1400mg/body を 3 投 1 休投与にて開始した。血清 CEA の上昇は持続したが画像上再発所見は認めなかつ



a | b  
c | d

**Fig. 5** 病理組織学的所見 (HE 染色)

a: 膵原発巣 ( $\times 40$ ), b: 膵原発巣 ( $\times 200$ ) — 腺管構造の乱れの見られる部分で癌細胞が高度に変性し、マクロファージの出現も見られ、術前化学放射線療法の効果と考えられた。c: 腹膜播種巣 ( $\times 40$ ), d: 腹膜播種巣 ( $\times 200$ ) — 腹膜播種部には癌細胞が散見されるが、結合織が多く線維化が強く、血管の閉塞像も認める。これらから腹膜播種部にも術前化学放射線療法の効果が及んでいると考えられた。

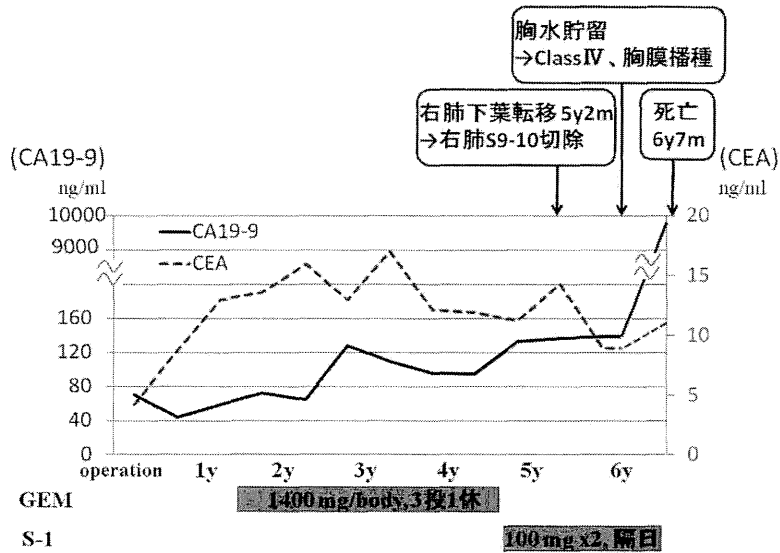


Fig. 6 術後経過と腫瘍マーカー推移

CEAの漸増を認め術後1年9カ月でGemcitabine 1400mg/bodyを3投1休投与にて開始した。画像検査上、再発は認めなかったが、術後4年9カ月でS-1 100mgに変更し治療を継続。5年2カ月のCTにて右肺下葉結節影を認め、増大傾向を認め、切除施行。その後、胸膜播種もあり6年7カ月で永眠した。

た。術後4年9カ月からはS-1 100mg/日、2分服、隔日投与（休薬期間なし）に変更し治療を継続した（Fig. 6）。

膵癌切除術後5年2カ月の胸部CTにて右肺下葉に結節を認めたため、原発性肺癌を疑い、右肺S9,10切除施行した。しかし、肺切除標本の病理検査では、HE染色で粘液産生の目立つ腺癌の像を認め、免疫染色を施行したところ、肺腺癌に特異的なTTF-1染色は癌腺管で陰性となり、既往膵癌の肺転移と診断された。

術後S-1の投与を継続したが、胸膜播種となり、膵癌切除後6年7カ月で永眠された。

## 考 察

膵癌は消化器悪性腫瘍の中でも特に予後不良の疾患であり、膵癌全国登録での膵頭部癌の5年生存率は切除・非切除全症例で10.7%、切除症例でも13.0%と報告されている<sup>5)</sup>。

膵癌術後の5年生存率は本邦でも少なく、特に膵癌腹膜播種陽性症例に対する切除後の長期生存の報告はほとんどない。本症例は術前診断が膵頭

部癌 Stage IVaであったために術前化学放射線療法を施行し、その後手術となった。さらに術中の腹腔鏡による遠隔転移診断も陰性であったため、膵頭十二指腸切除術を施行したが、摘出した標本にて網嚢内に播種巣を認め最終的にfStage IVbの診断となった。本症例では切除標本において腫瘍本体以外に播種巣にも術前化学放射線療法の治療効果が顕著に見られ、他に腹膜転移、リンパ節転移などの遠隔転移は認めなかった。さらに、画像所見でも明らかな腹膜再発所見は最後まで見られなかった。つまり、手術治療による切除と術前化学放射線療法の治療効果が、長期生存につながったと考えられた。また、リンパ節転移を認めなかったことも長期生存に寄与した要因の一つと考えられ、これも術前化学放射線療法の効果の可能性が考えられた。Tinklら<sup>6)</sup>は切除可能膵癌において術前化学放射線療法によりリンパ節転移が術前と手術時で50%から32%に減少し、リンパ節転移が術後生存率において、有意な予後因子であったと報告している。Breslinら<sup>7)</sup>も同様の報告をしている。

Table 2 本邦における膵癌肺転移切除報告例

報告者	術式	報告年	Stage	肺転移出現までの期間	再発病巣数	肺転移術式	肺切除後経過
伊藤 <sup>14)</sup>	膵全摘	2003	IVa	9年	4カ所	右S3区域切除 S6区域切除 左下葉切除	外来通院中
櫻井 <sup>15)</sup>	PPPD	2004	II	5年	1カ所	左下葉切除	4カ月後生存中
島田 <sup>16)</sup>	PD	2004	IVb	5年	1カ所	左下葉切除	2年生存中
保田 <sup>17)</sup>	DP	2009	II	4年	2カ所	右下葉切除 右上葉部分切除	37カ月後永眠
保田 <sup>17)</sup>	PPPD	2009	IVa	3年	1カ所	右下葉切除	6カ月後生存中
江本 <sup>18)</sup>	PD	2010	IVa	6年	1カ所	右S8区域切除	1年生存中
自験例	PD	2010	IVa	5年4カ月	1カ所	右S9, 10区域切除	17カ月後永眠

加えて本症例が Stage IVb にもかかわらず長期生存が得られたのは、肝転移予防対策として施行した経門脈的持続投与による術後補助療法<sup>3)</sup>、外来で施行した化学療法、さらには膵癌切除術後5年2カ月に出現した肺転移に対して切除したことなども長期生存に寄与した可能性が考えられた。

膵癌再発の好発部位は膵床部局所および肝臓であり、それぞれの再発率は71.8%~92%、61.5~92%と報告されている<sup>8-11)</sup>。一方、肺転移の割合は6.4%~22%と再発部位としては比較的稀である<sup>10,11)</sup>。肝転移再発までの平均期間は9.0カ月、局所再発では9.5カ月、多くは2年以内に起こるといわれている。相浦ら<sup>12)</sup>の報告では、膵癌術後の長期生存例の剖検の検討で、長期生存例では肺転移の頻度が多かったとしている。Katzら<sup>13)</sup>も同様の報告をしている。本症例においても膵癌切除後、長期経過することにより肺転移が前面に顕在化してきたものと考えられた。

医中誌による1983年~2010年までの検索では、膵癌術後肺転移に対して肺切除を行った報告は自験例を合わせて7例であった<sup>14-18)</sup>。いずれの症例も、長期生存後の肺転移再発である (Table 2)。肺転移巣に関しても、遺残のない切除が可能で、積極的に切除を行うことが予後の改善につながる可能性が考えられた。

## 結 語

今回、我々は術前化学放射線療法後に膵頭十二指腸切除術を施行し、集学的治療を積極的に行うことにより長期生存を認めた腹膜播種による

Stage IVb 膵頭部癌の1例を経験した。

## 文 献

- Gillen S, Schuster T, Mayer Zum Büschenfelde C, Friess H, Kleeff J. Preoperative/neoadjuvant therapy in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis of response and resection percentages. *PLoS Med* 2010; 7: e1000267.
- Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45: 228-47.
- Aiura K, Takahashi S, Matsui J, Ueda M, Kitagawa Y. Beneficial effects of 5-fluorouracil and heparin-based portal infusion chemotherapy combined with mitomycin c and cisplatin after curative resection of pancreatic cancer. *Pancreatol* 2010; 10: 250-8.
- 日本乳癌学会編. 臨床・病理. 乳癌取扱い規約. 第16版. 東京: 金原出版. 2008.
- 日本膵臓学会膵癌登録委員会編. 日本膵臓学会膵癌登録—20年間の総括. *膵臓* 2003; 18: 101-69.
- Tinkl D, Grabenbauer GG, Golcher H, et al. Downstaging of pancreatic carcinoma after neoadjuvant chemoradiation. *Strahlenther Onkol* 2009; 185: 557-66.
- Breslin TM, Hess KR, Harbison DB, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy for adenocarcinoma of the pancreas: Treatment variables and survival duration. *Ann Surg Oncol* 2001; 8: 123-32.
- Sperti C, Pasquali C, Piccoli A, Pedrazzoli S. Recurrence after resection for ductal adenocarcinoma of the pancreas. *World J Surg* 1997; 21: 195-200.
- Griffin JF, Smalley SR, Jewell W, et al. Patterns of failure after curative resection of pancreatic carcinoma. *Cancer* 1990; 66: 56-61.
- Kayahara M, Nagakawa T, Ueno K, Ohta T, Takeda T, Miyazaki I. An evaluation of radical resection for pancreatic cancer based on the mode of recurrence as determined by autopsy and diagnostic imaging. *Cancer* 1993; 72: 2118-23.



- 11) Westerdahl J, Andrén-Sandberg A, Ihse I. Recurrence of exocrine pancreatic cancer—local or hepatic? *Hepatogastroenterology* 1993; 40: 384-7.
- 12) 相浦浩一, 高橋 伸, 上田政和, 他. 膵癌術後長期生存例における剖検 4 例の検討. *膵臓* 2007; 22: 130-6.
- 13) Katz MH, Wang H, Fleming JB, et al. Long-term survival after multidisciplinary management of resected pancreatic adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 836-47.
- 14) 伊藤 博, 木村文夫, 清水宏明, 外川 明, 宮崎 勝, 藤沢武彦. 進行膵癌術後 9 年で生じた両側肺転移の 1 切除例. *日本臨床外科学会雑誌* 2003; 64: 1366-9.
- 15) 櫻井裕幸, 羽田真朗, 小山敏雄, 他. 膵癌手術 5 年後に孤立性肺転移を認めた 1 症例. *山梨肺癌研究会会誌* 2004; 17: 102-6.
- 16) 島田順一, 伊藤和弘, 西村元宏, 他. 孤立性結節性膵癌肺転移の 1 切除例. *日本呼吸器外科学会雑誌* 2005; 19: 581-4.
- 17) 保田絃一郎, 片岡正文, 仁熊健文, 三村哲重, 大原利憲. 膵癌肺転移の 2 切除例. *日本臨床外科学会雑誌* 2009; 70: 691-6.
- 18) 江本 慎, 蒲池浩文, 田原宗徳, 神山俊哉, 松下通明, 藤堂 省. 切除後 6 年で孤立性肺転移をきたした膵癌の 1 例. *日本臨床外科学会雑誌* 2010; 71: 1034-8.

## Long-term survivor of stage IVb pancreatic cancer with peritoneal dissemination treated with neoadjuvant chemoradiotherapy followed by pancreaticoduodenectomy

Ryo NISHIYAMA<sup>1)</sup>, Koichi AIURA<sup>2)</sup>, Minoru KITAGO, Masahiro SHINODA, Osamu ITANO, Shigeyuki KAWACHI, Minoru TANABE, Masakazu UEDA<sup>1)</sup>, Youhei MASUGI, Michiie SAKAMOTO<sup>3)</sup>, and Yuko KITAGAWA<sup>1)</sup>

**Key words:** Pancreatic cancer, Dissemination of peritoneum, Metastasis of lung, Neoadjuvant chemotherapy, Long-term survival

We report a case of long-term survivor of stage IVb pancreatic cancer with peritoneal dissemination. A 70-year-old man with pancreatic cancer (TS2, PV (+), T4N0M0, stage IVa) underwent pancreaticoduodenectomy after neoadjuvant chemoradiotherapy (40Gy radiation + 5-FU, MMC, and CDDP). Pathological examination of the resected specimen revealed a T4N0M1 (PER; omentum), Stage IVb tumor. In addition, neoadjuvant therapy led to further dissemination of the omental nodule and primary tumor. The patient underwent postsurgical chemotherapy with gemcitabine because of an increase in serum CEA levels. Follow-up CT performed 62 months after primary resection detected a mass in his right lung, which was treated by right lower lobectomy. Immunohistochemical study of the lung mass revealed it to be a metastatic lesion of the primary pancreatic tumor. Seventeen months after lung surgery, the patient died because of pleural dissemination of the pancreatic cancer.

<sup>1)</sup> Department of Surgery, Keio University School of Medicine (Tokyo)

<sup>2)</sup> Department of Surgery, Kawasaki Municipal Hospital (Kanagawa)

<sup>3)</sup> Department of Pathology, Keio University School of Medicine (Tokyo)

## 脱細胞化肝骨格を用いた肝臓再生

八木 洋\* 北川雄光\*

## Summary

肝再生医療開発へのニーズは、近年の幹細胞技術の発展とともに急速に高まっている。肝臓微細環境を再生するためにこれまでさまざまな医用工学的手法が開発されてきたが、われわれはそのなかでも、最近になり臓器全体を対象として発表された脱細胞化技術に着目し、これを肝臓に適応した。本技術はこれまでの医用工学的手法を用いた治療法と比較して、臓器特異的細胞外マトリックス (ECM) と三次元微細構造を保ちながら、大血管まで連続する移植可能な構造を有するといった特徴を備えている。この技術に現在発展の著しい胚性幹細胞 (ES 細胞) / 人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) 技術を応用することで、臨床応用可能な新しい技術として発展する可能性が期待される。

## Key words

細胞外マトリックス (ECM)、幹細胞 (stem cell)、肝細胞、三次元構造

## はじめに

肝臓は切除しても自己再生する大変ユニークな臓器の1つとして認識されているが、切除後の再生とその制御のメカニズムに関してはいまだに不明な点が多い。それだけに組織再生技術を開発させるうえで、肝臓の自己再生能制御機構を明らかにすることは重要な課題となっている。日本だけで年間4万人以上といわれる肝疾患患者のなかで、肝不全などの関連疾患によって約1万人が亡くなっている。重症肝不全の唯一の根治的治療法は肝移植であるが、慢性的なドナー不足によって、移植医療を享受できる患者数は、移植を必要とする患者数の3割にも満たないと考えられている。

したがって、この自己再生能を有する肝臓をいかに再生し、新しい治療法として応用するかという肝再生医療開発へのニーズは、近年の幹細胞 (stem cell) 技術の発展とともに急速に高まっている。

近年著しい発展を遂げている数々の医用工学的手法は、肝再生機構の理解を深め、臨床応用を考えるうえで大きな役割を担ってきた。とくに肝臓微細環境を再現するために、さまざまな手法が開発されてきたが、そのなかでわれわれは、以前から存在する手法でありながら臓器を対象とした新しい手法が最近になって発表された脱細胞化技術を、世界に先駆けて肝臓に適応した<sup>1)</sup>。本手法は肝臓における組織再生を理解するうえでの基盤技

\*YAGI Hiroshi, KITAGAWA Yuko/慶應義塾大学医学部外科学 (一般・消化器)

術として有効であるのみならず、これまでの医用工学的手法を用いた治療法<sup>2)</sup>と比較し、臨床応用に向けたいくつかの特徴的利点を有している。本稿では、脱細胞化技術の特徴と肝再生医療における役割について、現在の知見を述べたい。

## 1 細胞外マトリックスと脱細胞化技術

細胞外マトリックス (extracellular matrix : ECM) が細胞機能に果たす役割の重要性が、近年強く認識されてきている<sup>3)</sup>。ECM は、コラーゲン・ラミニン・フィブロネクチン・グリコサミノグリカン (glycosaminoglycan : GAG) などから構成され、産生/吸収によって細胞周囲環境を動的に制御する足場構造として、細胞自身の増殖・安定化・分化などの基本的な機能すべてに影響を与えている。生体内で細胞一つひとつは細胞塊を形成しているのではなく、いわば ECM のベッドに横たわって細胞間相互作用を示していると考えられている。したがって、従来から細胞機能を研究するうえで、ECM との相互作用を理解することは避けて通れない課題であった。この ECM が最近注目を集めてきた理由の1つに、幹細胞技術のめざましい進歩がある。すなわち、幹細胞技術を用いた再生医療の発展のなかでとくに成熟細胞を分化誘導する過程において、ディッシュ上の通常培養条件と比較して、生体により近い構造すなわち三次元立体構造や細胞間相互作用・ECM-細胞間相互作用を正しく制御することがいかに重要であるかという認識が、幹細胞研究において広く浸透してきたことがその1つと考えられる。

ECM の細胞培養への適用は、コラーゲンやマトリゲルといったおもに小動物の組織由来の成分として利用されているのが一般的であり、ある種の細胞培養、とくに肝細胞の培養などで必須であることが知られている。これらは生体内に存在する ECM の役割の一端として、ECM-細胞間相互作用を *in vitro* で再現するために有効である。実際に ECM を使用した培養系では、使用しない場

合と比較して細胞の長期生存や機能の維持の点で有意に高い。またこの ECM を細胞培養のみならず細胞移植治療へ応用する試みが、肝細胞移植の分野でも試みられてきた<sup>4)</sup>。細胞塊を ECM と同時に生体内に移植することで、生体内にとどまった肝細胞が ECM の相互作用によって一定の組織構造を保ち、細胞のみを移植したものと比較して有意に長期の生着・機能発現が可能となった。しかしながら、このような *in vitro* での細胞培養系や細胞塊移植の補助としての ECM 利用は、ECM が担うもう一方の重要な役割である三次元立体構造の再現や細胞間相互作用の制御機構という点では不十分であるうえ、使用されている ECM には有効な成分のごく一部しか含有されておらず、またこれらの一部は腫瘍組織由来であるなど、とくに細胞治療など臨床応用を考えた場合には大きな障壁となりうる。

これに対して、生体に従来ある ECM、とくに使用する細胞の由来組織特異的な ECM を用いることによって、より生体に近い培養・移植環境を構築する技術が、組織の脱細胞化法として開発されてきた<sup>5)</sup>。この手法は、組織を種々の細胞傷害性薬剤に曝露させることによって生細胞を除去し、蛋白のみを残存させるものであり、得られた ECM は種々の細胞培養の基盤として応用され、通常用いる ECM 成分より高い有効性を示しただけでなく、実際に皮膚・血管・心臓弁などの再生に応用され、大動物を含めた動物実験レベルでは良好な結果が示された。しかしながら、さまざまな臓器への臨床応用を考えた場合、この手法をもってしても臓器レベルでの立体構造の再現は非常に困難であることは否めなかった。

このような生体内の三次元立体構造を培養環境に再現する試みが、医用工学的アプローチの発展とともに、近年急速に広まってきた。マイクロ流体デバイスを用いた肝臓洞構造の再構築<sup>6)</sup>など、これまでにはなかった新しい技術の応用によって、生体に近い立体環境を再現することが可能と

なってきた。このような技術を基盤としてECMを立体構造内に適用することにより、生体内でECMがもつ多くの性質を生体外で提供できうるため、この技術融合はこれからの臓器再生にとって大いに期待される。しかしながら、臓器再生とその移植を考えた場合、この技術で制御可能と考えられる微細な構造の再現だけでなく、実際に血管吻合の可能な大脈管構造までの連続する複雑な構築を再現することが必要となるため、この点でとくに移植可能な実質臓器構造の再現は非常に困難であるといえる。

## 2 臓器脱細胞化技術の出現

臓器の再生を考えた場合、①適切なECM、②微小構造から大血管までの連続する三次元構造、そして③量・質ともに十分な細胞の供給、の条件を満たすことが必要となる。これまで述べてきたさまざまな技術革新をふまえ、これらの条件を満たすような臓器再生手法を実現化するために、既存技術の欠点を補うべく、2008年Ottら<sup>7)</sup>は、実質臓器そのものを脱細胞化する手法を世界に先駆けて報告した。本法は、先に述べた脱細胞化の手法を経脈管的アプローチを用いて実質臓器そのものに適応することによって、これまでその保持が困難であった実質臓器の立体構造を損なうことなく、臓器特異的ECMを保持する手法である。本報告では、大血管から細胞傷害性薬剤を循環させて脱細胞化した心臓に、心筋細胞を再度生着させて電氣的洞調律を発現させており、臓器そのものの再生の可能性を示唆する大変興味深い結果を示した。

心臓や血管と比較して、肝臓はその複雑な内部構造と多種多様な機能から、臓器としての再生が非常に困難とされている。われわれはこの臓器脱細胞化の手法を世界ではじめて肝臓に適応し、肝細胞を再度生着させることで、生体外で肝細胞機能の一部を発現するだけでなく、そのままグラフトとして生体への移植が技術的に可能であること

を示した<sup>1)</sup>、つづいて肺でも同様の報告がなされたこと<sup>8)</sup>、これまで再生医療実現化の障壁となっていた実質臓器の再生に、1つの技術革新とよべる手法が出現したといえる。本手法の最大の特徴的は、臓器内の末梢まで行き渡る血管を細胞傷害性薬剤のアクセスに利用することによって臓器全体に薬剤が均等に循環し、均一に臓器全体の細胞除去が可能であること、加えてこれまで最も困難であった、生体に従来あるべき細胞レベルの微細構造から大きな脈管への連続的な立体構造の再現を可能にしたことであり、さらに重要なことはこれらの構造をすべて生体由来の臓器特異的ECMがそのまま担っているという点である。すなわち外部由来の素材を使用することなく複雑な構造を保つことで免疫の問題点もクリアし、これから発展すべき臨床応用へ向けた大きなアドバンテージを有していると考えられる。

ただ本手法にもまだ改善すべき点は多い、その1つが、適切な細胞傷害性薬剤の選択である。心臓・肝臓および肺で報告されたような、いわゆる界面活性剤を用いて組織を脱細胞化した場合、細胞の除去には非常に効果的であるが、とくに肝臓のような複雑かつ脆弱な微細構造をもつ組織では、逆に必要なECMの一部が脱落することで立体構造が細部で破綻する可能性のあることがわかった。またこれまでの培養環境と比較した場合に、脱細胞化によって残存した臓器特異的ECMの細胞、とくに幹細胞の分化に対する詳細な影響はまだ検討されていない。さらに、小動物における脱細胞化臓器作製の経験から、漏出・出血など組織の脆弱性の問題や生体内での長期的な変化を観察する必要性など、今後明らかにすべき課題は数多く残っている。またこれから示していくべき大きな課題の1つが、ヒトサイズへのスケールアップである。とくに臓器再生を考えた場合、小動物での成功は必ずしも臨床応用への明確な方向づけにはならない。単純にサイズの相違のみならず、必要細胞数や解剖学的相違なども含めて、今

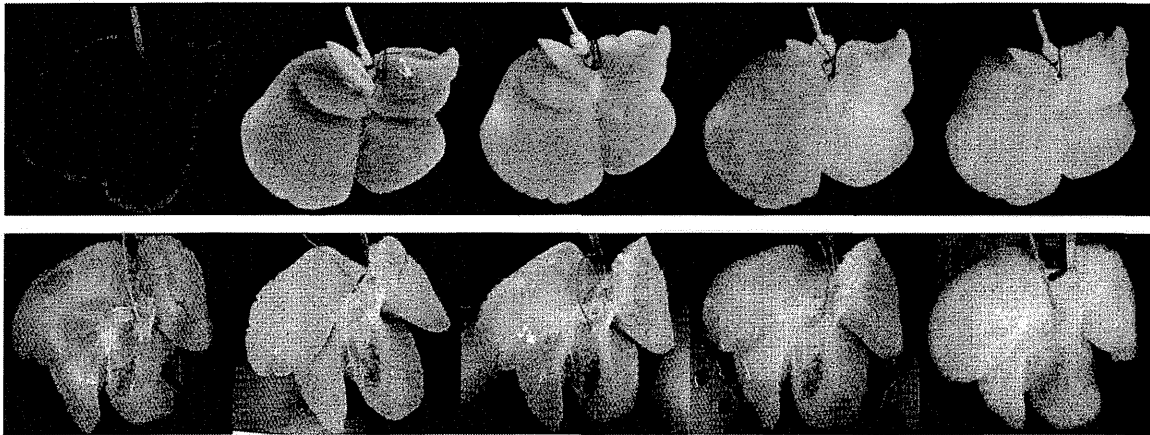


図 1. 肝臓脱細胞化の過程 (上段ラット：0～72 時間, 下段ブタ：0～96 時間)

後は多くの観点から修正をおこなったシステムを確立しなければならない。これをふまえて、われわれは世界に先駆けて、大動物の肝臓を用いた脱細胞化システムを提示してきた<sup>9)</sup>。図 1 に示すように、脱細胞化したブタ肝臓は、ラットと比較して構造がより安定しており、その強固な ECM 構造から、これを用いた再生グラフトであれば血管吻合による移植が可能ではないかとの期待をもっている。

### 3 | 幹細胞技術との融合

脱細胞化技術を含めたさまざまな医用工学的手法を再生医療に応用する道筋を考えた場合、多くの手法でなんらかの細胞を使用することは避けられず、結局はその細胞のドナーが必要となることで、ドナー不足という移植医療が抱える根本的な問題は解決されないため、少なくとも再生医療が移植医療に代わる画期的な新しい治療法とはなり得ない。したがって、これが医用工学的手法の抱える限界の 1 つであったともいえる。近年、これまで以上に再生医学研究が脚光を浴びるようになったのは、ほかでもない胚性幹細胞 (embryonic stem cell : ES 細胞)/人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell : iPS 細胞) 技術の創

出によると考えられる。とくに胎児由来である ES 細胞と比較して倫理的問題をクリアしやすい iPS 細胞の創出は、日本発の画期的技術として再生医療の可能性を大幅に広げた<sup>10)</sup>。とくに臓器再生を考えた場合、患者やドナーの皮膚をわずかに採取することによって樹立した、自己あるいは家族由来 iPS 細胞を使用することで、ドナー負担をほとんど考えることなく必要とする大量の細胞を入手できることで、これまでの医療を根本的に変える新しい治療法となる期待が高まっている。しかしながら、現在の急速な発展をもってしても、幹細胞から臨床応用に耐えうるような成熟度の高い細胞を多量に得ることは、いまだに困難である。その原因の 1 つとして、*in vitro* における成熟過程での適切な細胞周囲環境の欠落が考えられている。第 1 項でも述べたように、生体により近い構造、すなわち三次元立体構造や細胞間相互作用・ECM-細胞間相互作用を正しく制御することが、細胞の分化・成熟に大変重要な役割を担っていることが近年示されている。したがって、培養環境を生体内に本来あるべき状態に近づけるために、微細構造を人工的に制御可能なさまざまな医用工学的手法を応用することが、これからの再生医療の発展に必須であるといえる。実際に幹細胞を成

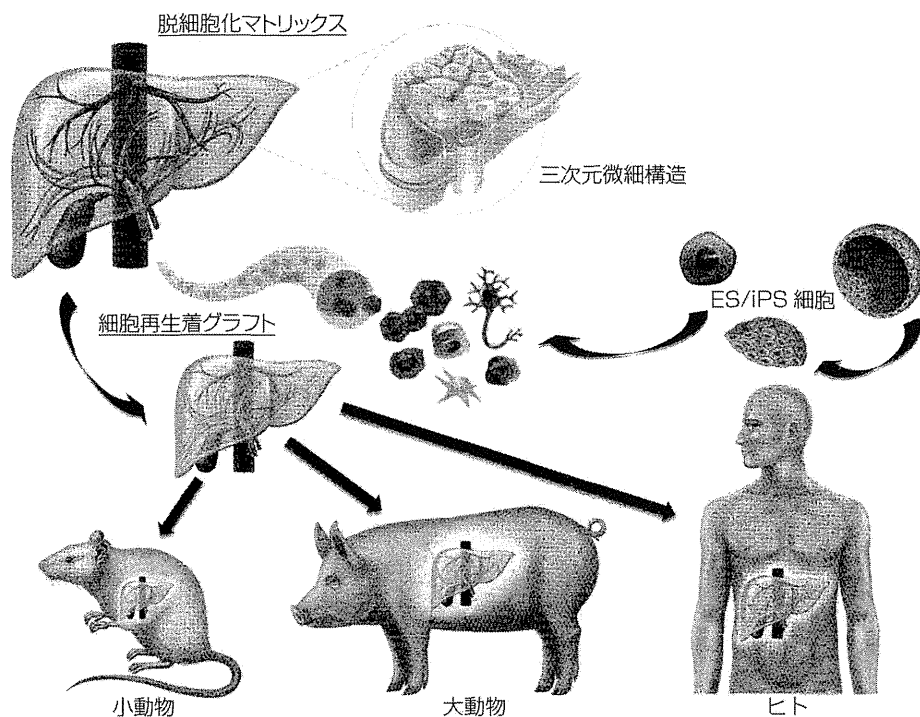


図 2. 脱細胞化肝骨格と幹細胞技術の融合による移植グラフトの開発

熟肝細胞へ分化誘導する場合、ECM-細胞間相互作用が重要な役割を果たすことが報告されており<sup>11)12)</sup>、どのようなECMを使用するかについて多くの考察がなされている。しかしながら生体由来のECMを、立体構造を含めて丸ごと使用する試みはまだなされておらず、われわれが用いている脱細胞化三次元ECM構造を幹細胞培養・細胞/臓器移植の基盤技術として応用することは、幹細胞が性質・局在ともに適切な変化を示すのに寄与し、ひいてはこれからの肝再生医療の発展に大きな布石となりうると考えている。このように、脱細胞化技術が臓器移植に取って代わるような革新的手法に発展するためには、ES細胞/iPS細胞をはじめとした多分化能を有する細胞を適切に使用することが必須であり<sup>13)</sup>、図2に示すようにこれらをふまえて、今後大動物を経てヒトに応用できる技術へと発展させていきたいと考えている。

## おわりに

再生医療は従来の治療法を根本的に置き換える可能性を秘めているが、実際の臨床応用までに越えるべき壁は高い。これを乗り越えるためには、組織・臓器構造と細胞との関係の正しい理解が必須であり、肝臓も例外ではない。とくに最近になって、肝臓を構成する星細胞などが担うECMの病的変化に伴う細胞-ECM間相互作用の変性が、細胞自体の病的変性よりも、むしろ臓器としての機能低下に強くかかわっていることが示されてきている<sup>14)</sup>。実際に線維化の強い肝炎の肝臓から肝細胞のみを分離した後、環境を可能な限り正常化できれば、細胞機能の低下は可逆的であることが示されている。肝臓のなかに一定の割合で存在すると考えられている幹細胞<sup>15)</sup>が、肝細胞や胆管細胞などへの分化・成熟はもとよりそれ自身が細胞機能制御の一部を担っているのであれば、す

で *in vitro* で明らかにされているように、これらの幹細胞の役割を念頭においたうえでも、肝臓由来の ECM が肝臓そのものの再生に大変重要であることが容易に想像できる。われわれは生体由来の ECM を効果的に用いながら臓器固有の立体構造を保った脱細胞化肝骨格を有効に活用し、これからの再生医療の基盤技術として発展させていきたいと考えている。

#### 文献

- 1) Uygun BE, Soto-Gutierrez A, Yagi H *et al* : Organ reengineering through development of a transplantable recellularized liver graft using decellularized liver matrix. *Nat Med* **16** : 814-820, 2010
- 2) Yagi H, Parekkadan B, Suganuma K *et al* : Long-term superior performance of a stem cell/hepatocyte device for the treatment of acute liver failure. *Tissue Eng Part A* **15** : 3377-3388, 2009
- 3) Rozario T, DeSimone DW : The extracellular matrix in development and morphogenesis : a dynamic view. *Dev Biol* **341** : 126-140, 2009
- 4) Navarro-Alvarez N, Soto-Gutierrez A, Chen Y *et al* : Intramuscular transplantation of engineered hepatic tissue constructs corrects acute and chronic liver failure in mice. *J Hepatol* **52** : 211-219, 2010
- 5) Badylak SF : The extracellular matrix as a biologic scaffold material. *Biomaterials* **28** : 3587-3593, 2007
- 6) Sudo R, Mitaka T, Ikeda M *et al* : Reconstruction of 3D stacked-up structures by rat small hepatocytes on microporous membranes. *Faseb J* **19** : 1695-1697, 2005
- 7) Ott HC, Matthiesen TS, Goh SK *et al* : Perfusion-decellularized matrix : using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nat Med* **14** : 213-221, 2008
- 8) Ott HC, Clippinger B, Conrad C *et al* : Regeneration and orthotopic transplantation of a bioartificial lung. *Nat Med* **16** : 927-933, 2010
- 9) Yagi H, Fukumitsu K, Fukuda K *et al* : Human-Scale Whole-Organ Bioengineering for Liver Transplantation : a Regenerative Medicine Approach. *Cell Transplant* 2011 (accepted)
- 10) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M *et al* : Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* **131** : 861-872, 2007
- 11) Snykers S, De Kock J, Rogiers V *et al* : *In vitro* differentiation of embryonic and adult stem cells into hepatocytes : state of the art. *Stem Cells* **27** : 577-605, 2009
- 12) Peerani R, Zandstra PW : Enabling stem cell therapies through synthetic stem cell-niche engineering. *J Clin Invest* **120** : 60-70, 2010
- 13) Soto-Gutierrez A, Navarro-Alvarez N, Yagi H *et al* : Stem cells for liver repopulation. *Curr Opin Organ Transplant* **14** : 667-673, 2009
- 14) Liu L, Yannam GR, Nishikawa T *et al* : The microenvironment in hepatocyte regeneration and function in rats with advanced cirrhosis. *Hepatology*, 2011 [Epub ahead of print]
- 15) Dollé L, Best J, Mei J *et al* : The quest for liver progenitor cells : a practical point of view. *J Hepatol* **52** : 117-129, 2010

## 特集：外科感染症における分子生物学的研究

## トピックス

## Alarmin (HMGB1) など 一代表的 Alarmin, HMGB1 研究の今一

慶應義塾大学外科

篠田昌宏, 田邊 稔, 須田康一, 竹内裕也, 北川雄光

要旨：感染下において損傷組織から遊離される内因性物質 alarmin (危険信号分子) の中でも、核内タンパク HMGB1 が最近世界中の研究者から注目を浴びている。1999年に HMGB1 の敗血症における late mediator としての重要性が報告されて以来、急性肺損傷、心筋障害、肺炎、外傷、各種術後、DIC、虚血再灌流障害等の急性炎症のみならず、慢性関節リウマチ等の慢性炎症、悪性腫瘍の増殖や浸潤、転移等、さまざまな病態における key mediator の一つであることが明らかとなった。われわれも、この「運命決定因子」に着目し、敗血症、小腸・肝虚血再灌流傷害、劇症肝不全での HMGB1 動態を解明するとともに、各種の HMGB1 制御法の開発を試みている。HMGB1 中和抗体のほか、HMGB1 の阻害剤タンパク A Box の遺伝子導入、HMGB1 吸着カラムによる体外循環等であり、市販薬の遺伝子組み換えヒトトロンボモジュリンにも注目している。

【索引用語】 HMGB1, alarmin, 敗血症, 炎症

## I. Alarmin とは

感染下においては、損傷組織から「危険に付随した分子パターン」すなわち alarmin (危険信号分子) が遊離されるといわれる。Alarmin とは、2006年2月、イタリア、ミラノにおける The European Molecular Biology Organization (EMBO) 主催のワークショップにて定義された炎症反応に繋がる各種の内因性物質の総称である。同ワークショップでは、①アポトーシスではなくネクローシスに陥った細胞から急速に分泌される、②活性化された免疫担当細胞から能動的に分泌される、③樹状細胞を含む自然免疫系を受容体を介して活性化する、④侵襲そのものや炎症による二次的な障害によって破壊された組織の再生を促し、生体の恒常性維持に寄与する、の4つの性質を有する内因性物質を alarmin と定義することが提唱された。このワークショップの内容は Harris ら<sup>1)</sup>によってミーティングレポートに詳細にまとめられ(図1)、エンドトキシン(以下、LPS)をはじめとする病原微生物に関連した外因性の物質、病原体関連分子パターン(pathogen-associated molecular patterns: 以下、PAMPs)とともに alarmin を理解するうえで貴重な資料となっ

ている。Alarmins と PAMPs を総称して、傷害関連分子パターン(damage-associated molecular patterns: 以下、DAMPs)とする論文がある一方、PAMPs を外因性物質、DAMPs を内因性物質とする論文も認められ、特に DAMPs という用語の理解には注意を要する。Alarmin の仲間(表1)<sup>2)</sup>には heat shock protein, S100 蛋白, hepatoma-derived growth factor 等多数の分子が含まれるが、本稿ではその代表格、high mobility group box chromosomal protein 1 (以下、HMGB1) について、教室で最近得られた知見とともに概説する。

## II. Alarmin の代表格 HMGB1

## 1. HMGB1 について

HMGB1 は、約30年前に DNA 結合蛋白として発見された分子量 30kD の蛋白である。平常時には核内に存在し、DNA ラセン構造の維持等生命に不可欠な役割を担っている。その存在に脚光をあげたのは、1999年の Wang ら<sup>3)</sup>の発表である。Wang ら<sup>3)</sup>は、マウス敗血症モデルにおいて血中 HMGB1 が上昇していること、HMGB1 の中和抗体を用いることで病態が改善することを報告し、HMGB1 の敗血症における late mediator としての



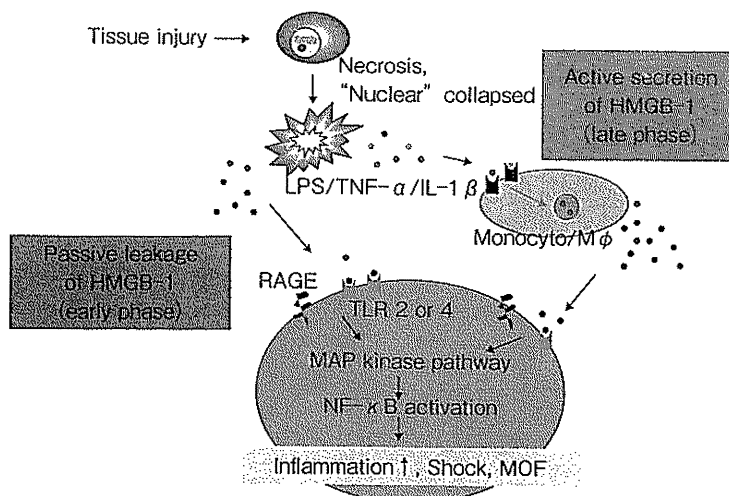


図1 Alarminの産生経路：2006年のThe European Molecular Biology Organization (EMBO)主催のワークショップのミーティングレポートでは、alarminが受動的に漏れでてくる経路と、活性化されたマクロファージなどが能動的に産生する経路が紹介されている。

表1 Alarminの仲間（文献2より引用，改変）

Molecule	Passive release	Active nonclassical secretion	Role in inflammation/immunity	Promoting tissue regeneration
HMGB1	●	●	●	●
S100s		●	●	●
HDGF	●	●		●
HSPs		●	●	
IL-1a		●	●	
Uric acid			●	
Cathelicidins		●	●	●
Defensins		●	●	
EDN		●	●	
Galectins		●	●	
Thymosins			●	●
Nucleolin		●	●	
Annexins		●	●	

機能、重症度のマーカーや治療標的としての有用性を報告した。1999年当時は、HMGB1関連論文は年間に数件であったが、その後、敗血症のみならず急性肺損傷、心筋障害、肺炎、外傷、各種術後、disseminated intravascular coagulation（以下、DIC）、虚血・再灌流障害等の急性炎症、さらには慢性関節リウマチや動脈硬化等の慢性炎症、悪性腫瘍の増殖や浸潤、転移等、さまざまな病態におけるkey mediatorの一つであることが明らかとなり、近年ではHMGB1関連論文は増加の一途である（図2）。数多くある炎症性メディエータの中なかでも、HMGB1は個体の運命を決定する「運命決定因子」「死のメディエータ」と呼ばれるようになる。徐々に明らかとなってきたことは、HMGB1の産生経路には上述のalarminで記述したごとく2つあり、一

つは組織が壊死に陥り受動的に漏れでてくる「passive leakage」、もう一つは活性化されたマクロファージなどが能動的に産生する「active secretion」ということである。いずれの経路によって産生されたHMGB1も、血中に存在するフリーのHMGB1は細胞表面上のreceptor for advanced glycation end-product (RAGE) や toll like receptor (TLR)-2,4等に結合し細胞内に炎症性シグナルを伝達し、NFκBを活性化するなど各種の炎症反応や細胞遊走を促進する<sup>4) 5)</sup>。また、もっとも最近の知見では、HMGB1は単独では炎症を惹起する作用は弱く、炎症性サイトカイン、single strand DNA、LPSなどと複合体を形成して初めて炎症性作用を持つことも明らかになりつつある<sup>6)</sup>。

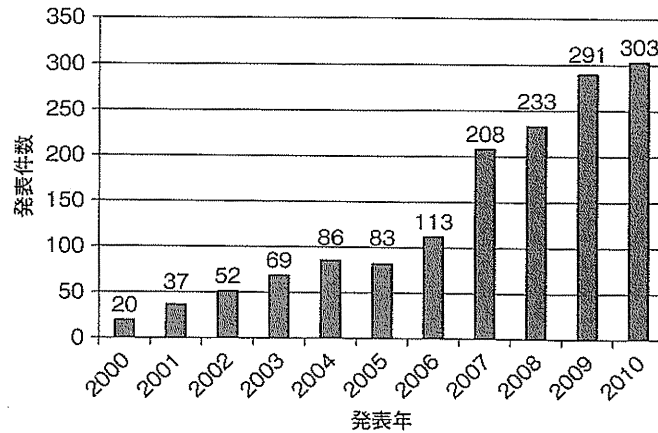


図2 HMGB1 関連論文の年次推移 (著者がPubMedにて検索した結果)。

## 2. 本邦, 教室での HMGB1 関連研究

HMGB1 に対する世界的な注目が集まりつつある中, 本邦では 2006 年に鹿児島大学丸山征郎教授を中心として厚生労働科学研究「侵襲の運命決定因子 HMGB1 を分子標的とした救命的治療法の開発」が始動する<sup>7)</sup>。国内の数多くの HMGB1 研究者が丸山教授を中心に HMGB1 研究成果を世界に発信すべく集まったわけである。構成員であった慶應義塾大学外科教授の北川雄光は, まず敗血症における HMGB1 動態と病態制御の実験に取り組んだ。すなわち, ラット盲腸穿孔による敗血症モデルにおいて中和抗体が病態を改善しうることを報告した<sup>8)</sup>。続いて, 食道癌術前の血中 HMGB1 値が術後の合併症発生と関連があると病態予知的価値を発表<sup>9)</sup>, さらに, ラット肝虚血再灌流モデルにおいても HMGB1 が病態改善の鍵を握っているとの仮説を立て, 血中 HMGB1 動態を明らかにし, 中和抗体による病態改善効果を報告した<sup>10)</sup>。その後, ラット小腸虚血再灌流モデル<sup>11)</sup>, ラット急性肝不全モデル<sup>12)</sup>, ブタ急性肝不全モデル<sup>13)</sup>, 急性肝不全患者において<sup>14)</sup>, 血中 HMGB1 動態を詳細に検討し, 敗血症のみならず, 組織の壊死が起こる腹部内の各種の病態で HMGB1 の血中動態を次々と明らかにした。特に, 肝組織中 HMGB1 に関しては, 免疫組織染色, 組織内 HMGB1 タンパク定量によって検討を追求した (図 3)。教室で過去に行った炎症性サイトカイン関連研究では, ラット肝虚血再灌流モデル, ラット急性肝不全モデルいずれにおいても, 肝臓内マクロファージが炎症性サイトカインを過剰産生し血中レベルが上昇するという結果が得られていたため<sup>15) 16)</sup>, HMGB1 に関しても同様の結果を予想していたが, 実際には肝内 HMGB1 は免疫組織染色も組織内 HMGB1 タンパク定量も明らかな

低下を示し, 壊死によって HMGB1 タンパクは組織内より「leak」してくることが強く示唆されたのである。

## III. HMGB1 を制御する各種の strategy

### 1. 特異的中和抗体

1999 年の Wang ら<sup>3)</sup>の報告で用いられた方法は, HMGB1 の特異的中和抗体であった。以後, 各種の病態で HMGB1 関連研究が行われてきたが<sup>8) 10) ~ 12)</sup>, 用いられた制御法のほとんどは特異的中和抗体である。教室の実験においても上述のごとく, ラット敗血症モデル, ラット肝虚血再灌流モデル, ラット急性肝不全モデル (図 4) で絶大な病態改善効果を発揮した。

### 2. 吸着体の開発

Yamamoto ら<sup>17)</sup>は, ラット肝虚血再灌流モデルにおいて HMGB1 吸着体を体外循環下に使用し, 血中 HMGB1 レベルが低下すること, さらには病態改善に有効であることを報告した。同じ年, 教室でも, 同様の吸着体が *in vitro* で, さらには動物モデルの血中 HMGB1 レベルを低下させることを報告した<sup>18)</sup>。従来より HMGB1 を血漿ごと除去する血漿交換という手法はあったにせよ, HMGB1 を特異的に吸着する同吸着体の開発のインパクトは大きかった。この研究結果を受け, 教室では同吸着体を内蔵したカラムを大動物に使用可能なサイズにスケールアップして体重 25kg のブタ実験に用いることを試みた。しかし, 同吸着体の特性が現時点ではスケールアップに適さないことが判明し, 実験半ばで断念している。一方, 教室は同吸着体と全く構造を異にする吸着体を東レ株式会社 (東京都) より供与され, ブタ急性肝不全モデルに体外循環下に用い

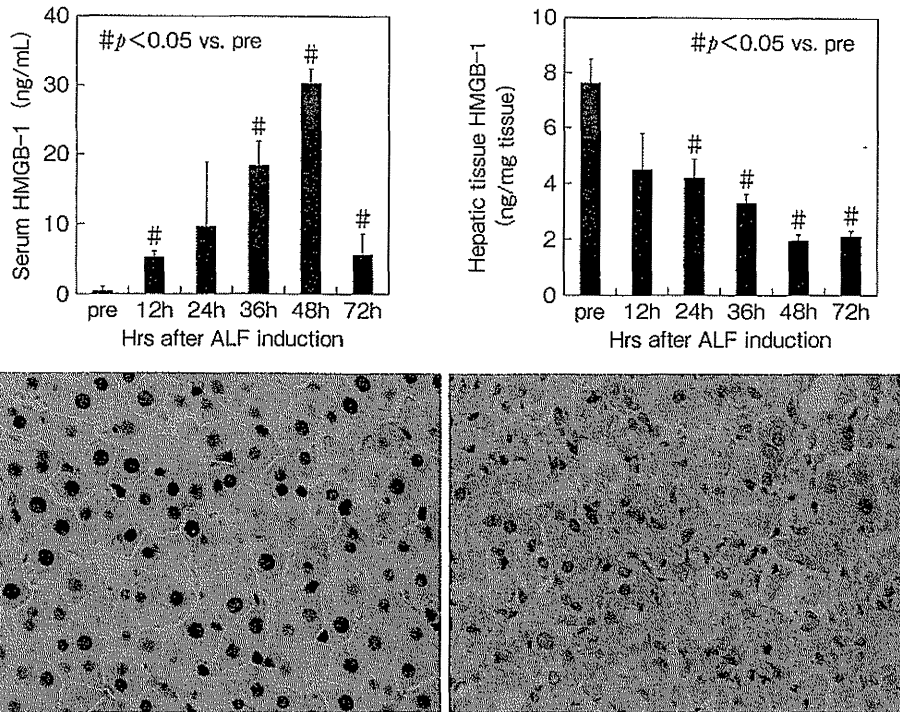


図3 ラット急性肝不全モデルにおける HMGB1 動態：ラット急性肝不全モデルにおいては血中 HMGB1 が経時的に上昇するのに比し（左上），肝組織中 HMGB1 は対照的に低下していく様子（右上）が観察された。肝組織の HMGB1 免疫染色の結果，肝炎誘導前に核内に濃く染まっていた HMGB1（左下）が，肝炎誘発後 48 時間後に壊死した核内には存在していない（右下）ことが判明し，受動的漏出を観察したものと考えられた。ALF，急性肝不全。

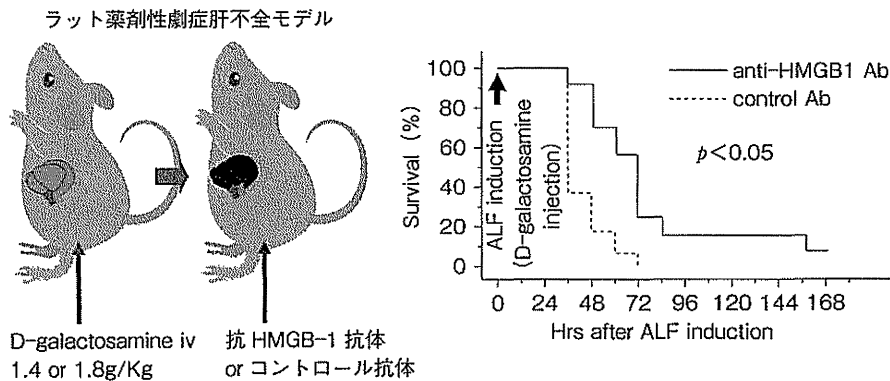


図4 ラット急性肝不全モデルにおける抗 HMGB1 抗体の生存率改善効果：ラット急性肝不全モデルに抗 HMGB1 抗体を投与したところ生存率の劇的改善効果を確認。ALF，急性肝不全。

たところ，血中 HMGB1 レベルを低下させることを明らかにした<sup>13)</sup> (図5)。急性肝不全，特に脳症をきたす劇症肝不全においては，血漿交換，持続血液透析等の体外循環治療はしばしば行われる治療選択肢であり，対外循環システムのカラムを入れ替えることで本カラムによる治療が可能となるならば臨床的メリットは大きいものと考えている。同カラムによる治療効果が動物実験で証明されれば，臨床

応用も十分可能であると期待している。

### 3. HMGB1 A box

HMGB1 制御法を別の観点から報告した論文がある。2004 年に Yang ら<sup>19)</sup> は，HMGB1 は A box, B box, C tail の 3 つの部分から成り，A box 部分は RAGE や TLR などの膜受容体に結合するものの炎症性シグナルを伝達する力が弱い，すなわち

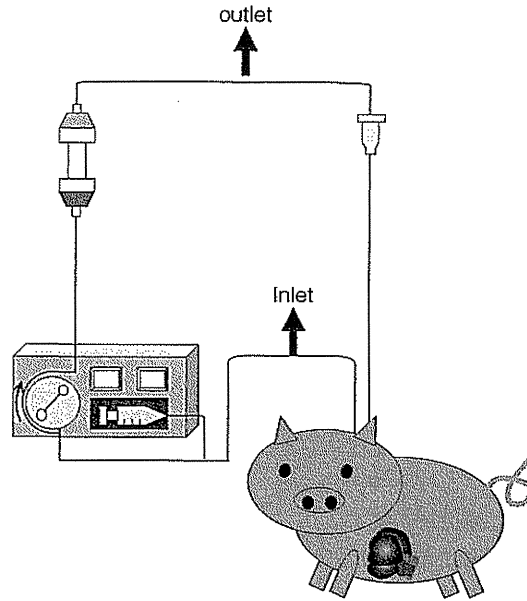


図5 プタを用いての体外循環実験：HMGB1 吸着カラム（非売品，東レ株式会社）がプタ急性肝不全モデルで血中 HMGB1 レベルを低下させることが明らかになりつつある。

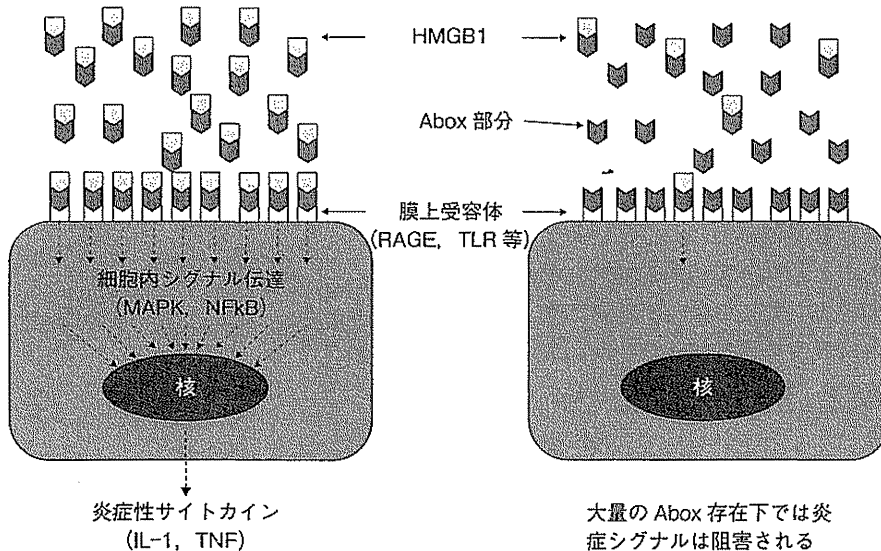


図6 HMGB1 A box：HMGB1 の A box domain は、HMGB1 と競合的に膜上受容体に結合するが、炎症性シグナルを伝達しないため、HMGB1 に拮抗的に働く。

HMGB1 と競合的に膜受容体と結合する HMGB1 阻害タンパクであると報告した (図6)。彼らは実際 HMGB1 の A box 部分のタンパクを精製し、*in vitro* において HMGB1 刺激によるマクロファージからの TNF 産生を阻害すること、*in vivo* においてラット敗血症モデルの病態を改善することを示した。この A box タンパクは、敗血症のほかいくつかの病態でもその有用性が示され、現在ではイタリアの HMGBiotech 社によって市販されている。教室にお

いても本タンパクの存在に早期に着目、敗血症のみならず肝・小腸虚血再灌流モデル、急性肝不全モデルにてその有用性を検証する計画を立てた。しかしながら、同タンパクの購入には 2mg=1,400 ユーロという、*in vivo* 実験を想定した際には大変高額な費用がかかることが大きな問題となった。そこで、教室は A box 研究を安価に遂行するため、独自に A box タンパクを encode するアデノウイルスベクターを作製することとした。アデノウイルスベク