

- 4) Ono S, Tsuji Y, Baba K, et al : A new operative strategy for refractory microcystic lymphangioma. *Surg Today* 44 : 1184-1187, 2014
- 5) Matsuzoe D, Iwasaki A, Hideshima T, et al : Postoperative chylothorax following partial resection of mediastinal lymphangioma : report of a case. *Surg Today* 25 : 827-829, 1995
- 6) Nadolski G, Itkin M : Thoracic duct embolization for the management of chylothoraces. *Curr Opin Pulm Med* 19 : 380-386, 2013
- 7) Knutson RA, Merbitz LA, Creekmore MA, et al : Use of sugar and povidone-iodine to enhance wound healing : five year's experience. *South Med J* 74 : 1329-1335, 1981
- 8) Bauer BS, Kernahan DA, Hugo NE : Lymphangioma circumscriptum—a clinicopathological review. *Ann Plast Surg* 7 : 318-326, 1981
- 9) Patel GA, Schwartz RA : Cutaneous lymphangioma circumscriptum : frog spawn on the skin. *Int J Dermatol* 48 : 1290-1295, 2009
- 10) Impellizzeri P, Romeo C, Borruto FA, et al : Sclerotherapy for cervical cystic lymphatic malformations in children. Our experience with computed tomography-guided 98% sterile ethanol insertion and a review of the literature. *J Pediatr Surg* 45 : 2473-2478, 2010
- 11) Royer J, Pageaut, Rollin JP, et al : Malignant transformation of lymphangioma into angioblastic sarcoma in a child. *Bull Soc Ophtalmol Fr* 69 : 472-473, 1969
- 12) 田口智章, 前田貞作, 仁屋正記, 日本小児期外科系関連学会協議会 : 小児外科から成人内科への移行 (トランジション). *診断と治療* 101 : 1785-1791, 2013

違法コピーに注意！！

そのコピーは大丈夫ですか？

現代社会において、コピー（複写）はなくてはならないものになっていますが、その手軽さゆえに違法コピーが後を絶ちません。あなたが日常的に行っているコピーは大丈夫ですか？ 著作権法に定められた例外、つまり、個人または家庭内で使うために自らコピーする場合や図書館において調査研究等のため一部分をコピーする場合（著作権法第 30、31 条等）のごく限られた範囲以外のコピーは、すべて著作権者の許諾を得なければ違法となります。企業や研究施設等で職務上利用するコピーはすべて許諾が必要となりますので、ご注意ください。

違法コピーは健全な創作活動、出版活動の障害となり、ひいては文化・学術の発展を阻害する大きな要因となります。今一度、著作権についてお考えください。

許諾の手続きは簡単です！

医学や関連領域の出版物の多くは、(社)出版者著作権管理機構 **JCOPY** に複写権の管理・運営が委託されています。複写される場合は事前に **JCOPY** に連絡し許諾を得てください。

JCOPY (社) 出版者著作権管理機構

TEL03-3513-6969 FAX03-3513-6979 info@jcopy.or.jp

JMPA 一般社団法人
日本医書出版協会

不正なコピーは

許さない！

Q&A サイト「それは違法かも。」

「これって違法？」著作権に関するよくある質問にわかりやすくお答えしています。

<http://www.ihokamo.net/>

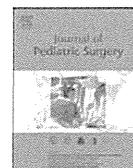
情報受付窓口「不正コピー情報ポスト」

不正コピーなど、明らかに違法なものを見つけたら、こちらまで情報をお寄せください。

<https://www2.accsjp.or.jp/piracy/>
フリーダイヤル 0120-765-175



社団法人 コンピュータソフトウェア著作権協会
<http://www2.accsjp.or.jp/>



Prenatal administration of neuropeptide bombesin promotes lung development in a rat model of nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia

Kohei Sakai ^{a,*}, Osamu Kimura ^a, Taizo Furukawa ^a, Shigehisa Fumino ^a, Koji Higuchi ^a, Junko Wakao ^a, Koseki Kimura ^a, Shigeyoshi Aoi ^a, Kouji Masumoto ^b, Tatsuro Tajiri ^a

^a Department of Pediatric Surgery, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan

^b Department of Pediatric Surgery, Faculty of Medicine, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 August 2014

Accepted 5 September 2014

Key words:

Bombesin

Congenital diaphragmatic hernia

Nitrofen

Lung hypoplasia

Fetal therapy

ABSTRACT

Background/purpose: Fetal medical treatment to improve lung hypoplasia in congenital diaphragmatic hernia (CDH) has yet to be established. The neuropeptide bombesin (BBS) might play an important role in lung development. The present study aims to determine whether prenatally administered BBS could be useful to promote fetal lung development in a rat model of nitrofen-induced CDH.

Methods: Pregnant rats were administered with nitrofen (100 mg) on gestation day 9.5 (E9.5). BBS (50 mg/kg/day) was then daily infused intraperitoneally from E14, and fetal lungs were harvested on E21. The expression of PCNA was assessed by both immunohistochemical staining and RT-PCR to determine the amount of cell proliferation. Lung maturity was assessed as the expression of TTF-1, a marker of alveolar epithelial cell type II.

Results: The lung-body-weight ratio was significantly increased in CDH/BBS(+) compared with CDH/BBS(−) ($p < 0.05$). The number of cells stained positive for PCNA and TTF-1 was significantly decreased in CDH/BBS(+) compared with CDH/BBS(−) ($p < 0.01$). The TTF-1 mRNA expression levels were significantly decreased in CDH/BBS(+) compared with CDH/BBS(−) ($p < 0.05$).

Conclusions: Prenatally administered BBS promotes lung development in a rat model of nitrofen-induced CDH. Neuropeptide BBS could help to rescue lung hypoplasia in fetal CDH.

© 2014 Elsevier Inc. All rights reserved.

The treatment of newborn babies with congenital diaphragmatic hernia (CDH) remains challenging for pediatric surgeons [1]. Recently, we have introduced new therapeutic approaches in addition to a gentle ventilation strategy and achieved a survival rate of more than 90% in cases of isolated CDH [2]. However, it continues to be impossible to rescue babies with extreme pulmonary hypoplasia. In order to solve this problem, several surgical fetal therapies, including tracheal occlusion, have been developed to promote fetal lung growth [3]. However, the risk of premature birth remains a serious problem with no improvements.

Neuropeptide bombesin (BBS) is a 14-amino acid peptide originally identified in skin of the frog *Bombina orientalis* [4]. Its mammalian homologue, which has been identified as gastrin-releasing peptide (GRP), and BBS are referred to collectively as “bombesin-like peptides” (BLPs). The receptors of BBS are known to be widely distributed in the central nervous system and gut [5]. The authors have previously noticed the concept of the brain–gut axis and reported that BBS

maintained intestinal mucosal structures and exhibited an immunomodulatory effect in transplanted intestinal allografts while preserving the graft microcirculation and preventing ischemic reperfusion injury [6–10]. In addition, this multipotent neuropeptide has been reported to promote the growth and maturation of the developing fetal lung in both humans and nonhuman primates [11–13]. It was also reported that the highest level of bombesin-like peptide occurred in mid-gestation human fetal lung [14]. However, there have been no reports that exogenously administered BBS could promote growth and maturity of immature lung in pathological condition like immature lungs in CDH.

To evaluate lung maturity, immunohistochemical staining against proliferating cell nuclear antigen (PCNA) has been widely used and reported that PCNA-positive cells in the fetal lung decrease during the late stage of pregnancy in rats [15]. TTF-1 is known as a marker of alveolar epithelial cells type II (AECs-II) and is considered to play an important role in stem cell production in the alveolar epithelium [16]. The differentiation from AECs-II into alveolar epithelial cells type I (AECs-I) should be one of the key processes in lung development in late gestation and the number of TTF-1-positive cells was reported to increase in immature lungs. TTF-1 should be appropriate to evaluate lung maturity in addition to PCNA.

The aim of this study was to investigate whether BBS promotes lung growth and maturity in a rat model of nitrofen-induced CDH.

* Corresponding author at: Department of Pediatric Surgery, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine, 465 Kawaramachi-Hirokoji, Kamigyo-ku, Kyoto, 602-8566, Japan. Tel.: +81 75 251 5809; fax: +1 81 75 251 5828.

E-mail address: kohei-sk@koto.kpu-m.ac.jp (K. Sakai).

1. Materials and methods

1.1. Animal model

Pregnant Sprague–Dawley rats were purchased from Shimizu laboratory (Kyoto, Japan). The day in which the vaginal plug was confirmed was considered to be day 0 of gestation (E0). In order to produce the fetal CDH rat model, 100 mg of nitrofen (2,4-dichlorophenyl-p-nitrophenylether: WAKO Chemical, Osaka, Japan) dissolved in 1 ml of olive oil was administered via an orogastric tube under short anesthesia on E9.5 (term, 22 days). As a control, some rats were given the same dose of olive oil without nitrofen. The animals were divided into three groups on E14: 1) CDH/BBS(+) group, in which the nitrofen-treated rats were administered BBS (50 µg/kg/day; Peptide Institute, Inc., Osaka, Japan) using an osmotic minipump (Alzet 2002; Palo Alto, CA, USA) implanted in the peritoneal cavity under general anesthesia; 2) CDH/BBS(−) group, in which the nitrofen-treated rats were administered normal saline instead of BBS using an osmotic minipump; and 3) control group, in which rats treated without nitrofen were administered normal saline instead of BBS using an osmotic minipump. The fetuses were harvested via cesarean section and weighed on E21. The peritoneal cavity of each fetus was opened and a defect in the diaphragm was confirmed with a visual inspection of the diaphragm. The bilateral lungs were removed and weighed, and the lung-body-weight ratio (both lungs (mg)/body (g) weight: LBWR) was measured. The expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) was assessed using both immunohistochemical staining and real-time polymerase chain reaction (PCR) in order to determine the amount of cell proliferation. The degree of lung maturity was assessed as the expression of thyroid transcription factor-1 (TTF-1), a marker of alveolar epithelial cell type II.

1.2. Immunohistochemical staining

The left lungs were immersed and fixed in 4% paraformaldehyde for eight hours and embedded in paraffin. The samples were cut into 5-µm-thick sections and deparaffinized. Subsequently, antigen retrieval was performed by boiling the sections in a 10 mmol/L of sodium citrate solution at a pH of 6.0 for two periods of five minutes in a microwave at medium heat. After rinsing the slides in PBS, the endogenous peroxidase activity was blocked by exposing the slides to a 3% hydrogen peroxide in methanol solution for a period of 10 minutes.

To detect positive cells of PCNA or TTF-1 in the lungs, immunohistochemical staining was performed using a primary antibody to rat PCNA (PC10; Nichirei, Tokyo, Japan) or TTF-1 (SPT24; Nichirei, Tokyo, Japan). The sections were incubated with the primary antibodies for one hour at room temperature. The primary antibodies were visualized using the Histofine Simple Stain MAX-PO (M) kit (Nichirei, Tokyo, Japan) according to the instruction manual. The slide was counterstained with hematoxylin. Using a Dynamic Cell Count (BZ-H1C; Keyence, Tokyo, Japan) with high power field (×400), the number of positive cells was counted and averaged for five sites in each group.

1.3. RT-PCR and real-time RT-PCR

The left lungs obtained from the three groups, control (n = 8), CDH/BBS(−) (n = 7) and CDH/BBS(+) (n = 7), were analyzed. Total RNA was extracted according to the guanidinium acid phenol method using ISOGEN II (Nippon gene, Toyama, Japan). In addition, total RNA was reverse transcribed using ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix (Toyobo, Tokyo, Japan) according to the manufacturer's instructions.

Real-time reverse transcription-PCR (RT-PCR) was performed using the Real-time PCR Master Mix (Toyobo, Tokyo, Japan) and the 7500 Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems, Foster, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. The matching primers for PCNA (Rn01514538_g1), TTF-1 (Rn01436110_m1) and β-actin (Rn014244440_s1) were purchased from Applied Biosystems.

1.4. Statistical analysis

The statistical analysis was performed using Student's *t*-test for unequal variances. A *p* value of less than 0.05 was considered to be statistically significant.

2. Results

The incidence of CDH in this study was 50% (13/26 fetuses) among the nitrofen-treated rats not administered BBS and 49% (24/49) in those administered BBS. The defect in the diaphragm was observed on the left side in all CDH fetuses, and no other anomalies were found.

There were no significant differences in body weight between the CDH/BBS(−) group and the CDH/BBS(+) group. The LBWR values were compared between the three groups: control (nitrofen(−), BBS(−)) (n = 23), CDH/BBS(−) (nitrofen(+), BBS(−)) (n = 13), and CDH/BBS(+) (nitrofen(+), BBS(+)) (n = 24). Consequently, the LBWR in the CDH/BBS(−) group was significantly less than that observed in the control group (16.05 ± 2.32 v.s. 23.86 ± 2.78; *p* < 0.01). On the other hand, the LBWR in the CDH/BBS(+) group was significantly greater than that observed in the CDH/BBS(−) group (18.29 ± 3.03 v.s. 16.05 ± 2.32; *p* < 0.05) (Fig. 1).

Regarding the immunohistochemical stainings, both PCNA- and TTF-1-positive cells were localized to the alveolar endothelium in the fetal rats. The number of PCNA-positive cells in the CDH/BBS(−) group was significantly greater than that observed in the control group (877.0 ± 87.8 v.s. 290.4 ± 50.65; *p* < 0.01). Meanwhile, the number of PCNA-positive cells in the CDH/BBS(+) group was less than that observed in the CDH/BBS(−) group (501.8 ± 72.7 v.s. 877.0 ± 87.8; *p* < 0.01) (Fig. 2). In addition, the number of TTF-1-positive cells in the CDH/BBS(−) group was significantly greater than that observed in the control group (664.0 ± 90.5 v.s. 238.4 ± 52.8; *p* < 0.01). Conversely, the number of TTF-1-positive cells in the CDH/BBS(+) group was significantly less than that observed in the CDH/BBS(−) group (267.6 ± 30.0 v.s. 664.0 ± 90.5; *p* < 0.01) (Fig. 3).

On RT-PCR, the mRNA expression levels of PCNA (PCNA/β-actin) were low in the CDH/BBS(+) group. However, there were no significant differences between the CDH/BBS(−) and CDH/BBS(+) groups (2.49 ± 1.11 v.s. 1.69 ± 0.58) (Fig. 4). On the other hand, the mRNA expression levels of TTF-1 (TTF-1/β-actin) in the CDH/BBS(+) group were significantly decreased compared with those observed in the CDH/BBS(−) group (2.55 ± 1.21 v.s. 1.45 ± 0.23; *p* < 0.05) (Fig. 5).

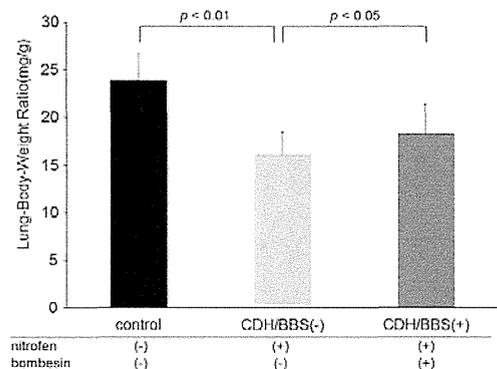
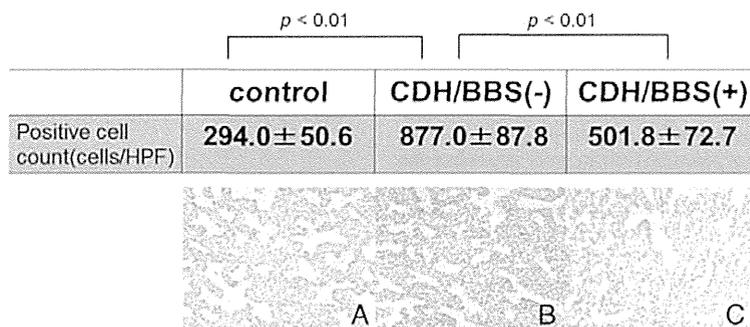


Fig. 1. Lung-body-weight ratio (LBWR) values in the control, CDH/BBS(−) and CDH/BBS(+) groups. The LBWR values in the control group were significantly greater than those observed in the CDH/BBS(−) group (*p* < 0.01). The LBWR values in the CDH/BBS(+) group were also significantly greater than those observed in the CDH/BBS(−) group (*p* < 0.05).



BBS: bombesin, CDH: congenital diaphragmatic hernia
HPF : high power field

Fig. 2. Immunohistochemical staining for PCNA. Micrographs show the nuclear localization of PCNA and TTF-1 in the lung alveolar epithelium. The number of PCNA-positive cells in the CDH/BBS(-) group was significantly greater than that observed in the control group. Meanwhile, the number of PCNA-positive cells in the CDH/BBS(+) group was less than that observed in the CDH/BBS(-) group. PCNA staining; control group (A), CDH/BBS(-) group (B), CDH/BBS(+) group (C) Original magnification: ×400.

3. Discussion

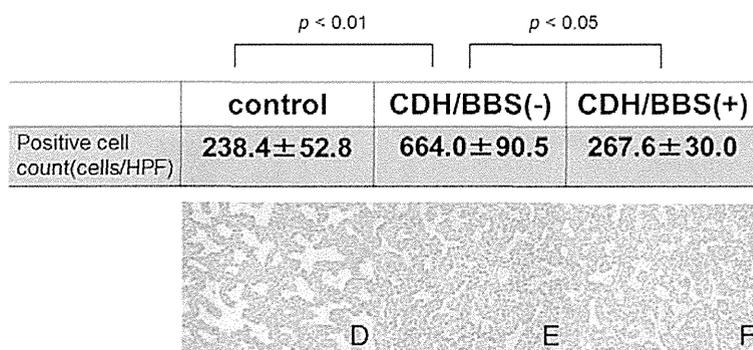
The present study demonstrated that the prenatal administration of BBS promotes lung growth and maturity in a rat model of nitrofen-induced CDH without inducing other serious anomalies. To our knowledge, there have been no previous reports showing that prenatal medical treatment increases fetal lung weight in a rat nitrofen-induced CDH model.

The use of prenatal medical treatment with corticosteroids in fetuses with CDH has been reported both experimentally and clinically [17]. There are many reports showing that the antenatal administration of corticosteroids may correct lung immaturity; however, no experiments using corticosteroids have succeeded in increasing the fetal lung volume. With respect to clinical studies, late gestational maternal corticosteroid administration has been found to have no effect in improving fetal lung hypoplasia to date [18].

There are various experimental reports indicating that the administration of antenatal retinoic acid affects the expression of various genes related to lung maturity in CDH rat models [19–21], and Montedonico et al. found that prenatal treatment with retinoic acid stimulates alveologenesis in hypoplastic lungs under the setting of CDH [22]. However, Gonzalez-Reyes et al. reported no changes in the lung weight-to-body

weight ratio using similar rat models [23]. Furthermore, retinoic acid appears to be unlikely as a candidate of prenatal treatment for CDH, because the prenatal administration of this agent carries the potential risk of inducing many major anomalies, such as intestinal atresia and anorectal malformations [24]. As a pilot study, we investigated the effect of BBS to pregnant rats without nitrofen administration from day 1 to investigate whether BBS might have other effect to the fetus. As a result, it was confirmed that there were no increase of lung volume and no major anomalies found in fetuses. In the present study, no other anomalies were found in the nitrofen-induced rat CDH model and the additional administration of BBS did not induce any further anomalies. Considering the potential for teratogenic risk and safety, BBS may be a candidate for use in prenatal medical therapy. In order to access the actual effect of BBS to lung of CDH rat in this study, the parameters of lung maturation were compared between CDH/BBS(-) group and CDH/BBS(+) group.

In this study, both PCNA and TTF-1 were used as markers of lung maturation. The number of PCNA-positive cells is increased in immature lungs. Similarly, in our CDH model with lung hypoplasia, both the number of PCNA-positive cells and the mRNA expression of it were significantly increased, thus indicating that lungs in our CDH model were immature ones. TTF-1 is a marker of alveolar epithelial cells type II



BBS: bombesin, CDH: congenital diaphragmatic hernia
HPF : high power field

Fig. 3. Immunohistochemical staining for TTF-1. Micrographs show the nuclear localization of TTF-1 in the lung alveolar epithelium. The number of TTF-1 positive cells in the CDH/BBS(-) group was significantly greater than that observed in the control group. The number of TTF-1 positive cells in the CDH/BBS(+) group was less than that observed in the CDH/BBS(-) group. TTF-1 staining; control group (D), CDH/BBS(+) group (E), CDH/BBS(-) group (F).

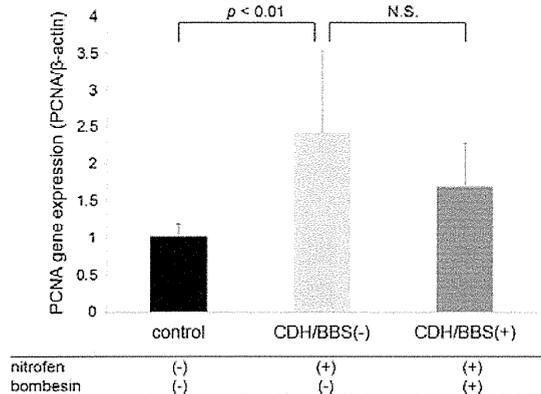


Fig. 4. mRNA expression levels of PCNA on RT-PCR. The expression levels of PCNA were increased in the lungs of the CDH/BBS(-) group compared to that observed in the control group ($p < 0.01$). There were no significant differences between the CDH/BBS(-) and CDH/BBS(+) groups.

(AECs-II). It has been reported that the AEC-II levels are also increased in the hypoplastic lungs of animals with CDH [25]. In the present study, it was also confirmed that both the number of TTF-1-positive cells and the mRNA expression of TTF-1 in the CDH group were also significantly increased, compared with that observed in the control group. Therefore, based on our results in PCNA and TTF-1, the hypoplastic lungs in our rat CDH model indicated to be immature.

As for the effect of BBS administration on fetal lung maturity, the expression levels of PCNA and TTF-1 were significantly decreased in the CDH/BBS(+) group. Our results showed BBS was considered to have promoted fetal lung maturity. As described previously, we investigated the effects of the BBS and elucidated its multipotent ability to maintain and modulate the mucosal structure and immunity of the gastrointestinal system [6–10]. Based on present and previous data, we speculate that BBS plays an important role via the same pathways in the respiratory and intestinal mucosa systems. In this study, it is impossible to deny that BBS affected maternal metabolism and had some secondary effect to the fetus. However, in our previous study of rat intestinal transplantation, it was confirmed that BBS surely had direct effect on the intestinal mucosal system. Therefore, we now speculate that BBS affected directly the lung of the fetuses as well as their intestine.

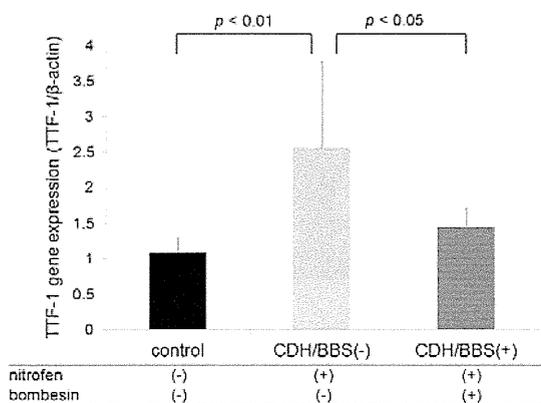


Fig. 5. mRNA expression levels of TTF-1 on RT-PCR. The expression levels of TTF-1 were increased in the lungs of the CDH/BBS(-) group compared to that observed in the control group ($p < 0.01$) and CDH/BBS(+) group ($p < 0.05$).

In conclusion, the prenatal administration of the neuropeptide bombesin increases the fetal lung volume and promotes fetal lung maturity without inducing other anomalies in a rat nitrofen-induced CDH model. The prenatal administration of neuropeptide BBS may be a possible candidate therapy for improving lung hypoplasia in patients with fetal CDH.

Acknowledgments

This work was supported by Grant-in-Aid for Exploratory Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan (MEXT KAKENHI grant number 22659318).

The English used in this manuscript was reviewed by Brian Quinn (Editor-in-Chief, Japan Medical Communication).

References

- [1] Doyle NM, Lally KP. The CDH Study Group and advances in the clinical care of the patient with congenital diaphragmatic hernia. *Semin Perinatol* 2004;28:174–84.
- [2] Kimura O, Furukawa T, Higuchi K, et al. Impact of our new protocol on the outcome of the neonates with congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Surg Int* 2013;29:335–9.
- [3] Harrison MR, Keller RL, Hawgood SB, et al. A randomized trial of fetal endoscopic tracheal occlusion for severe fetal congenital diaphragmatic hernia. *N Engl J Med* 2003;349:1916–24.
- [4] Erspamer V. Amphibian skin peptides in mammals: looking ahead. *Trends Neurosci* 1983;6:200–1.
- [5] McDonald TJ, Jorvall H, Nilsson G, et al. Characterization of a gastrin-releasing peptide from porcine non-antral gastric tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1979;90:227–33.
- [6] Furukawa T, Kimura O, Go S, et al. Small bowel allografts maintained by administration of bombesin while under immunosuppression. *J Pediatr Surg* 2003;38:83–7.
- [7] Kinoshita H, Kimura O, Furukawa T, et al. Preoperative bombesin administration can protect the rat small bowel allograft from ischemic reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 2005;40:1877–80.
- [8] Kimura O, Higuchi K, Furukawa T, et al. Neuroendocrine-immune modulation may be useful for allograft-specific immunosuppression in small bowel transplantation. *Transplant Proc* 2006;38:1825–6.
- [9] Higuchi K, Kimura O, Furukawa T, et al. Bombesin can rescue the enteric ganglia from FK506 neurotoxicity on small bowel transplantation. *J Pediatr Surg* 2006;41:1957–61.
- [10] Higuchi K, Kimura O, Furukawa T, et al. Bombesin can minimize impairments of interstitial cells of Cajal induced by FK506 in small bowel transplantation. *J Pediatr Surg* 2009;44:541–5.
- [11] Sunday ME, Hua J, Dai HB, et al. Bombesin increases fetal lung growth and maturation *in utero* and in organ culture. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990;3:199–205.
- [12] Sunday ME, Hua J, Reyes B, et al. Anti-bombesin antibodies modulate fetal mouse lung growth and maturation *in utero* and in organ cultures. *Anat Rec* 1993;236:25–32.
- [13] Sunday ME, Hua J, Torday J, et al. CD10/neutral endopeptidase 24.11 in developing human fetal lung: patterns of expression and modulation of peptide-mediated proliferation. *J Clin Invest* 1992;90:2517–25.
- [14] Wharton J, Polak JM, Bloom SR, et al. Bombesin-like immunoreactivity in the lung. *Nature* 1978;273:769–70.
- [15] Morikawa Y, Fujii K, Okada T, et al. Quantitative changes of lung tissue components during perinatal period in rats. *J Vet Med Sci* 1999;61:1229–33.
- [16] Fujino N, Kubo H, Suzuki T, et al. Isolation of alveolar epithelial type II progenitor cells from adult human lungs. *Lab Invest* 2011;91:363–78.
- [17] Suen HC, Bloch KD, Donahoe PK. Antenatal glucocorticoid corrects pulmonary immaturity in experimentally induced congenital diaphragmatic hernia in rats. *Pediatr Res* 1994;35:523–9.
- [18] Lally KP, Bagolan P, Hosie S, et al. Corticosteroids for fetuses with congenital diaphragmatic hernia: can we show benefit? *J Pediatr Surg* 2006;41:668–74.
- [19] Doi T, Sugimoto K, Ruttenstock E, et al. Prenatal retinoic acid upregulates pulmonary gene expression of PI3K and AKT in nitrofen-induced pulmonary hypoplasia. *Pediatr Surg Int* 2010;26:1011–5.
- [20] Ruttenstock EM, Doi T, Dingemann J, et al. Prenatal retinoic acid treatment upregulates late gestation lung protein 1 in the nitrofen-induced hypoplastic lung in late gestation. *Pediatr Surg Int* 2011;27:125–9.
- [21] Ruttenstock E, Doi T, Dingemann J, et al. Prenatal administration of retinoic acid upregulates insulin-like growth factor receptors in the nitrofen-induced hypoplastic lung. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2011;92:148–51.
- [22] Montedonico S, Sugimoto K, Felle P, et al. Prenatal treatment with retinoic acid promotes pulmonary alveologenesis in the nitrofen model of congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 2008;43:500–7.
- [23] Gonzalez-Reyes S, Martinez L, Martinez-Calonge W, et al. Effects of antioxidant vitamins on molecular regulators involved in lung hypoplasia induced by nitrofen. *J Pediatr Surg* 2006;41:1446–52.
- [24] Kubota Y, Shimotake T, Iwai N. Congenital anomalies in mice induced by etretinate. *Eur J Pediatr Surg* 2000;10:248–51.
- [25] Takayasu H, Nakazawa N, Montedonico S, et al. Impaired alveolar epithelial cell differentiation in the hypoplastic lung in nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Surg Int* 2007;23:405–10.

■ 特集 プロが見せる手術シリーズ (4) : 難易度の高い腫瘍の手術

腸間膜リンパ管腫切除術

文野 誠久* 金 聖和 坂井 宏平 樋口 恒司
青井 重善 古川 泰三 木村 修 田尻 達郎

はじめに

リンパ管腫は、先天性のリンパ管形成異常であり、体表発生が多く、腹腔内に発生する頻度は0.8~6.4%と少ない¹⁾。なかでも腸間膜に発生した場合は、感染や捻転などで急性腹症として発症し診断されることが多い。治療方針としては、外科的切除が望ましいが、病変の局在、範囲、周囲臓器への進展様式によっては切除が困難なこともあり、治療方針の決定に難渋する場合もある。

本稿では、当科で経験した、リンパ管腫症を除いた腸間膜原発リンパ管腫3例について、手術適応および術式について詳述する。

I. 症 例

当科で経験した腸間膜リンパ管腫3例を呈示す

る。いずれも感染を契機に診断され、うち2例は小腸間膜原発でそののちの経過観察中に小腸捻転を併発し、緊急開腹術を施行した。もう1例は結腸間膜原発で、手術適応について検討中である。

1. 症例 1

4歳, 男児。回腸間膜原発リンパ管腫。

3歳11カ月時に感染を契機に腹腔内リンパ管腫と診断された。経過観察中の4歳3カ月時に炎症所見を伴わない急性腹症を発症し、腹部造影CTにてイレウス像を呈し、小腸のwhirl poolとbeak sign, および骨盤内の多房性病変を認め(図1), 小腸捻転の疑いにて緊急開腹術を施行した。

2. 症例 2

3歳, 女児。空腸間膜原発リンパ管腫。

3歳5カ月時に腹膜炎症状で発症し、腹部造影CTにて小腸間膜リンパ管腫を指摘され(図2),

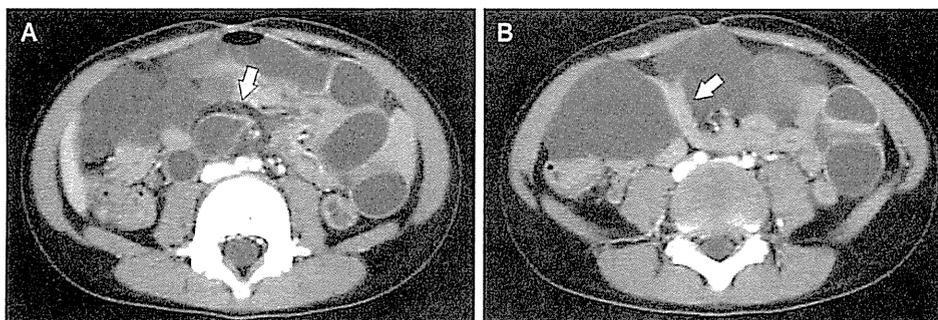


図1 症例1: CT

A, 小腸はびまん性に拡張を示し、一部が急峻に狭小化してbeak signを呈している(矢印)。

B, 狭小化した小腸が、多房性嚢胞のなかを走行している。

Shigehisa Fumino Kiyokazu Kin Kohei Sakai Koji Higuchi Shigeyoshi Aoi Taizo Furukawa Osamu Kimura Tatsuro Tajiri

* 京都府立医科大学小児外科 [〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上る梶井町465]

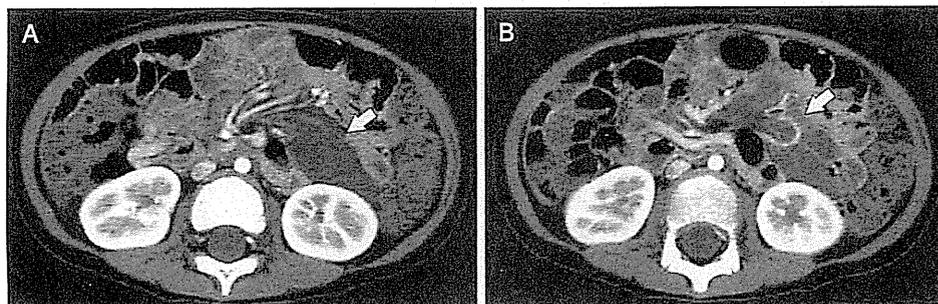


図 2 症例 2: CT

A. 腸間膜内に嚢胞性病変を認める, B. 嚢胞内には腸間膜の血管アーケードが認められる。

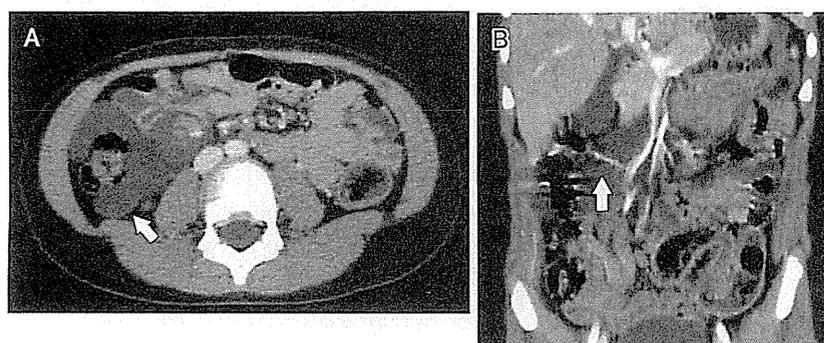


図 3 症例 3: CT

A. 嚢胞性病変が上行結腸を約 3/4 周取り囲み, さらに腸間膜根部に向かって扇状に進展している。
B. 右結腸動静脈から上腸間膜動脈根部に向かって嚢胞性病変が取り囲んでいる。

抗菌薬治療にて軽快した。2 カ月後に炎症所見を伴わない間欠的腹痛が出現したため, 当院救急外来を受診した。小腸捻転が疑われ, 緊急開腹術を行った。

3. 症例 3

5 歳, 男児。右結腸間膜原発リンパ管腫。

3 歳時に腹膜炎症状で発症し, 造影 CT にて右結腸動脈を取り巻くように存在する結腸間膜の嚢胞性病変を指摘された。抗菌薬治療にて軽快し, そののち感染の再燃はなく, 外来で経過観察中であつた。5 歳時に造影 CT を再検したところ, 病変は上行結腸周囲から内側に存在し, 上腸間膜動脈 (SMA) 根部まで扇状に進展していた (図 3)。全摘するには右半結腸切除が必要となるため, 現在も引き続き無治療でフォロー中である。

II. 手 術

1. 症例 1

上腹部横切開で開腹したところ, 淡黄色透明の腹水が中等量貯留していた。拡張した小腸と骨盤内に嚢胞性病変を認め, これを創外へ脱転したところ, 回腸末端から 30 cm 口側に Meckel 憩室を認め, そのすぐ口側の腸間膜末梢側に 15 cm にわたり多房性嚢胞性腫瘤を認め, この部位の回腸は腫瘤に巻き込まれ, 扁平に伸展されていた (図 4)。さらに, その根部の腸間膜および, 口側・肛門側の腸管が反時計回りに 360 度捻転していた (図 5)。腸管の色調は良好で, 虚血性的変化は認められなかった。Meckel 憩室を含めた 15 cm の腸管とともに腫瘤を全摘し, 回腸-回腸吻合を 4-0 PDS 糸にて Jourdan 連続縫合で行った (図 6)。術後は再発なく経過している。



図 4 症例 1：術中写真①

腸間膜末梢側に多房性嚢胞性腫瘍を認め（白矢印）、その肛門側に Meckel 憩室を認める（黒矢印）。



図 5 症例 1：術中写真②

リンパ管腫に巻き込まれた回腸の腸間膜根部が反時計回りに 360 度捻転している（矢印）。

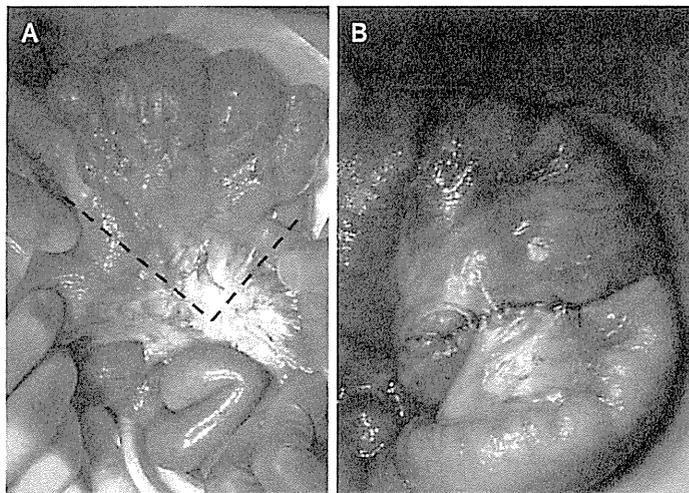


図 6 症例 1：術中写真③

点線のごとく腸間膜を処理し、Meckel 憩室を含めた 15 cm の腸管とともにリンパ管腫を全摘した (A)。腸管断端は端々吻合を行った (B)。

2. 症例 2

臍上部 Ω 切開にて開腹したところ、乳び腹水の軽度増量を認めた。創直下に鶯卵大の嚢胞性病変を認め、これを穿刺吸引し縮小させたうえで腸管ごと創外へ脱転した。全体を確認したところ、Treitz 靱帯から 20 cm 肛門側の空腸間膜に 10 cm にわたって多房性嚢胞性病変を認め、SMA 根部を中心に、小腸全体が時計回りに 360 度捻転していた (図 7)。また移動性盲腸を認めた。捻転を解除したところ、腸管虚血の所見は認められなかつ

た。リンパ管腫は腸間膜根部に近く SMA 本幹から約 2 cm の距離であり (図 8)、リンパ管腫壁近くを vessel sealing device (LigaSureTM：日本コヴィディエン(株)) を用いて切離した。罹患範囲の空腸を合併切除し、4-0 PDS 糸で端々吻合した。さらに腸間膜を修復後、ポリグリコール酸シートを貼付し、フィブリン糊を散布した。皮膚は切開線が臍輪を形成するように縫合した (図 9)。術後再発や腹水は認めていない。

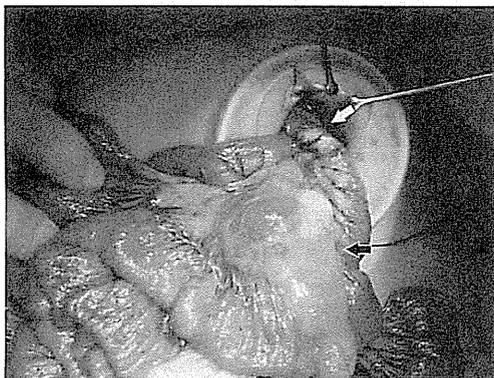


図 7 症例 2：術中写真①

空腸間膜に 10 cm にわたって多房性嚢胞性病変を認め (黒矢印), SMA 根部を中心に, 小腸全体が時計回りに 360 度捻転していた (白矢印)。

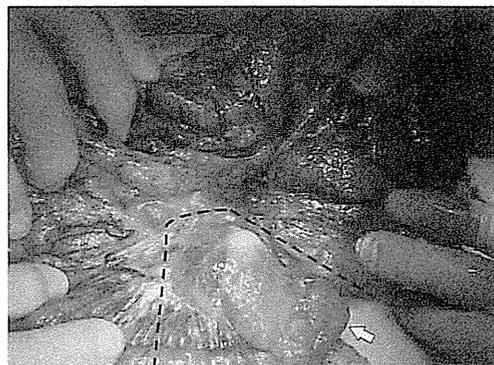


図 8 症例 2：術中写真②

リンパ管腫は SMA 本幹に近く (矢印), これを損傷せぬように壁近くを vessel sealing system を用いて切離し, 腸管ごと全摘した (点線)。

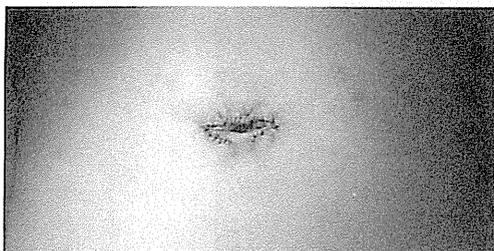


図 9 開創時臍部外観

III. 考 察

腹部リンパ管腫は, 小腸間膜リンパ管腫が 69% を占め, 大網リンパ管腫 15%, 結腸間膜 11%, 後腹膜 5% と続く¹⁾。ほとんどが若年発症で, 感染による腹膜炎や腫瘍内出血, 腸捻転による腸閉塞など, 急性腹症として発症するものが大部分である²⁾。

治療の適応については, 診断がつけば外科的治療が望ましいと考えられる。しかし, 重要血管に進展している場合や, 腸管, 腸間膜に広範囲に存在し全摘に腸管大量切除を要するなどの侵襲の大きい治療を余儀なくされる場合もあり, 画一的に適応決定は難しい。腸捻転を併発した場合は, 絞扼, 腸管壊死のリスクがあるため exploration の絶対適応となることに異論はないと思われるが, 上記のような切除困難例は術式の選択が難しい。幸い, 今回の 2 症例においては, 小腸間膜に限局

して発生しており, 全摘は比較的容易であった。そのなかでの術式の工夫として, 症例 2 のように腸間膜根部に近い症例では, 十分な margin を確保した切除が困難なため, 術後リンパ漏の懸念があり, vessel sealing device を使用した。Liga SureTM は血管壁を融解し融合させてシールを作成する機序で作動し, 組織の温度上昇を防いで周囲組織への熱損傷が少ない。リンパ節郭清においても有意に術後リンパ漏を減少させたとの報告もある³⁾。さらにフィブリン糊とポリグリコール酸シートである吸収性組織補強材を用いて腸間膜を補強することで, 術後腹水や再発は認めていない。

術創に関しては, 捻転発症例は緊急手術となるため, 十分な準備時間がとれず急変のリスクもあるため最優先事項ではないが, できるだけ低侵襲が望ましい。症例 1 では, 捻転による腸閉塞発症時であり, 腹腔鏡は禁忌ではないが腹腔内の free space を確保しにくいと判断し, conventional な上腹部横切開を選択した。症例 2 では, 腸閉塞症状を認めず, 腹部膨満もなかった。このような場合は, 一般的には腹腔鏡が 1st line となると考えられるが⁴⁾, 小腸間膜リンパ管腫と術前診断されており, 創部からの小腸の脱転が必要になると判断していたため, 臍部小開腹を施行した。本例では, リンパ管腫の穿刺吸引を併用することでこの創から手術を完遂しえたが, 視野の確保が難しい場合は, 腹腔鏡を併用する option も有用と考えら

れた。術後の整容性は十分満足できるものであった。

手術非選択例である症例3では、画像上右結腸間膜に病変が存在しており、全摘には右半結腸切除が必要となる。このような症例では、より低侵襲を目指すのであれば亜全摘、開窓術、硬化療法なども選択肢にあげられるが⁵⁾、再発や難治性腹水を生じるリスクもあり、積極的には選択しづらい。感染のエピソードは単回であり、腸捻転のリスクはまずないと考えられるため、現在は経過観察としている。

今回の小腸間膜原発例は2例いずれも絞扼性イレウスが否定できず緊急開腹術を余儀なくされたが、絞扼にいたっていない場合は、待機的に臍部からの小開腹や腹腔鏡による観察を行い、診断および病変の部位や周囲臓器との位置関係を把握し、可能であればそのまま切除、必要であれば開腹手術に切り替えるといった治療戦略が有用であ

ると考えられた。

文 献

- 1) Weiss SW, Goldblum JR: Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors, 4th ed, Mosby, St. Louis, pp956-967, 2001
- 2) de Perrot M, Rostan O, Morel P, et al: Abdominal lymphangioma in adults and children. Br J Surg 85: 395-397, 1998
- 3) Yasumizu Y, Miyajima A, Maeda T, et al: How can lymphocoele development be prevented after laparoscopic radical prostatectomy? J Endourol 27: 447-451, 2013
- 4) Tran NS, Nguyen TL: Laparoscopic management of abdominal lymphatic cyst in children. J Laparosc Adv Surg Tech A 22: 505-507, 2012
- 5) 徳原克治, 濱田吉則, 渡邊健太郎, 他: 巨大腸間膜リンパ管腫に対し腹腔鏡下囊腫亜全摘術と硬化療法を併用した1例. 日小外会誌 39: 970-975, 2003

雑誌『小児外科』45巻12号(2013年12月号)定価(2,700円+税)

特集 小児NST病態栄養シリーズ：在宅栄養のすべて

保険診療体制と問題点

静脈栄養在宅支援システム

経腸栄養在宅支援システム

栄養アセスメント

大学病院における在宅支援システム

こども病院における在宅支援システム

市中総合病院における在宅栄養支援

小児の地域連携ネットワーク

離島の地域連携ネットワーク—鹿児島県の

離島在住者に対する支援の現況について

管理栄養士の役割

薬剤師の役割

看護師の役割

静脈カテーテル管理の問題点

静脈栄養製剤の問題点

摂食・嚥下リハビリテーションの問題点

誤嚥性肺炎の対策

胃瘻・腸瘻カテーテルのトラブルと対策

経腸栄養剤のトラブルと対策—微量栄養素

欠乏症

重症心身障がい児(者)の在宅栄養

短腸症候群の在宅栄養

腸管機能障害の在宅栄養



好評発売中

東京医学社

〒101-0051 東京都千代田区神田神保町2-20-13 Y'sコーラルビル TEL 03-3265-3551 FAX 03-3265-2750

E-mail: hanbai@tokyo-igakusha.co.jp URL: http://www.tokyo-igakusha.co.jp/

特 集

「小児短腸症候群」

本邦の小腸移植症例について

上野 豪久

腸管不全, 静脈栄養, 腸管不全関連肝障害

I はじめに

短腸症候群や腸管運動障害などの腸管不全は、1968年にDudrick（米国）らによってはじめられた中心静脈栄養法により生存可能となった。その後、静脈栄養法の発達により患者の予後やQOLは飛躍的に改善した。しかし、少なくない患者が中枢ルートの喪失や、静脈栄養法による肝障害などで不幸な転機をたどっている。ほかの臓器不全と同じく、腸管不全の根本的な治療として小腸移植がある。小腸移植の歴史は中心静脈法の発表よりも早く臨床応用では1964年にDeterling（米国）が最初の人に対する小腸移植を実施したとされており、実際に報告されたのはそれから三年後年にLillihei（米国）によってであった。1988年に日本でも第一回の日本小腸移植研究会が開催され1996年には本邦で最初の小腸移植が実施された。この章では本邦の小腸移植症例について述べたいと思う。

II 小腸移植とは

まず、小腸移植について概略する。2013年に英国ケンブリッジで発表された国際小腸移植レジストリーによると小腸移植は2013年2月までに全世界で2887例が行われた。小腸移植を実施し

た施設は世界で83施設に上る。全症例数では単独小腸移植が1309例、肝小腸同時移植が898例、多臓器移植が680例行われた。年間症例数は2008年の年間約250例をピークとして現在は100例を超える程度の移植が行われている。適応疾患は成人、小児ともに短腸症候群が2/3を占めている（図1）。

小腸移植の適応は2014年厚労科研田口班の研究により、現在以下のように考えられている。具体的に小腸移植の適応は、腸管不全により経静脈栄養から離脱の見込みがない状態で、静脈栄養の継続が困難になったときである。まず、適応疾患としては以下のものがあげられる。

1. 短腸症候群

下記疾患およびその治療の結果生じた栄養吸収障害のため電解質、主要栄養素、微量元素などの維持を中心静脈栄養に依存する状態

- ①中腸軸捻転
- ②小腸閉鎖症
- ③壊死性腸炎
- ④腹壁破裂・臍帯ヘルニア
- ⑤上腸間膜動静脈血栓症
- ⑥クローン病
- ⑦外傷
- ⑧デスモイド腫瘍
- ⑨腸癒着症

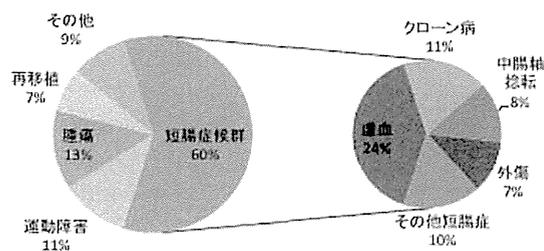


図1 国際小腸移植登録の小腸移植の原疾患（成人）

2. 機能的難治性腸管不全

改善が期待できない小腸蠕動運動または消化吸収能の異常のために健全な小腸機能が保たれていない状態

- ①慢性特発性偽小腸閉塞症
- ②広汎腸無神経節症
- ③巨大膀胱短小結腸腸管蠕動不全症
- ④腸管神経節細胞僅少症
- ⑤ micro villus inclusion 病
- ⑥その他

また、禁忌事項としてはほかの臓器移植と同様に基礎疾患が良性であることとされている。ただし、悪性腫瘍の治療終了後の観察期間において再発の徴候がなく完治していると判断される場合は禁忌としない。伝染性の活動性の感染症を有する者は禁忌となる。また、年齢としても65歳以下が望ましい。

小腸移植の適応として一つは静脈栄養の合併症をきたしたときである。重要なのは静脈栄養による肝障害をきたしたときであり、具体的には、血清ビリルビン値が2.0 mg/dl以上を持続、または門脈圧亢進症、肝線維化、肝硬変など肝障害があるときである。また、中心静脈の左右の内頸静脈、鎖骨下静脈、大腿静脈の計6本のうち、2カ所以上の中心静脈の閉塞した場合も、中枢ルートを失う可能性があるため適応となる。それから頻回なカテーテル感染症も繰り返したとき、具体的には入院が必要なカテーテル敗血症が年2回以上

あった場合か、真菌血症で septic shock または ARDS (acute respiratory distress syndrome) のエピソードがあったときとされている。大量の下痢により、輸液管理によっても頻回の重篤な脱水症または、静脈栄養の結果腎障害をきたしているときも小腸移植が必要と考える。

また、死亡率の高い疾患による高リスク症例の場合は、単独で小腸移植の適応と考える。本邦でみられる疾患としては先天性粘膜異常 (micro villus inclusion 病, intestinal epithelial dysplasia) と、超短腸症候群 (残存小腸：小児 10cm 未満, 成人 20cm 未満) の場合があげられる。

頻回に入院を繰り返す高い罹病率 (High morbidity) も単独で小腸移植の適応と考えている。

III 腸管不全の現状

小腸移植の原疾患である腸管不全は全国的な実数がまだ把握されていない。また、そのうち難治性腸管不全については小腸移植が適応となっているが、どの程度の患者が小腸移植の対象となるかも不明である。そのため、平成23年より厚生労働省科学研究福澤班にて腸管不全に対して全国実態調査が行われた。そのうち小腸移植の適応となる症例について述べる。

調査方法は過去5年の後方視的観察研究とした。腸管不全並びに小腸移植の患者を診療する施設に対して、多施設共同研究としての症例登録を行い、経静脈栄養を必要とする腸管不全と診断された全症例を対象とした。全国の302施設に対してアンケート調査を行い、過去5年間に診療した腸管不全患者に対する実態調査として調査票を送付し、69施設より354症例の回答を得た。310名が調査時に生存していた。このうち184名は経静脈栄養から離脱できていなかった。死亡症例のうち11名は肝不全により死亡していた。また、調査時経静脈栄養から離脱できない患児のうち49名は2本以上の中枢ルートの閉塞を認め、19名は黄疸を認める著明な肝障害を認めた。小腸移植の対象となる患児を推定すると、中枢ルートの閉

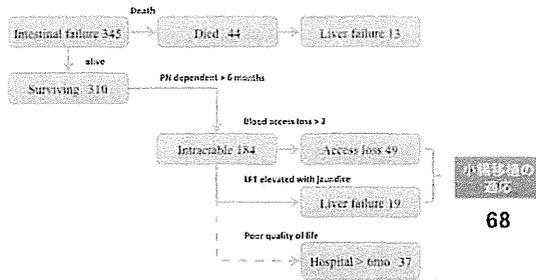


図 2 腸管不全の小腸移植必要患者数

塞と肝障害を有する 68 名は小腸移植の適応があると考えられる。今回、腸管不全の調査対象のうち死亡症例のうち中心静脈栄養の合併症として死亡した 13 症例も、小腸移植で救命できた患者が含まれると考える (図 2)。

IV 本邦の現状

2013 年 12 月末までに、本邦では 22 名に対して 25 例の小腸移植が実施された (図 3)。年間の移植数は数件程度であり、ほかの臓器移植に比べると極端に少ないといえる。脳死ドナーの待機患者が少ないこともあり、臓器移植法改正後に、ドナー提供数は増加したが、小腸移植の実施数はほかの臓器と違って著明に増加したとはいえない。ドナー別では脳死小腸移植が 13 例、生体小腸移植が 12 例であった。また、現在のところ実際に脳死小腸移植の待機患者は 2015 年 1 月 1 日現在 5 名にとどまっている。

国内の小腸移植の実施された年齢の内訳をみると、19 歳以上のほぼ成人に対して実施された症例数は 10 例であるのに対し、2 歳以下の乳幼児に対する症例は 3 例と非常に限られている。小腸移植の原疾患は新生児、乳児期の小児外科疾患に伴う短腸症候群が多いにもかかわらず若年者に対しての小腸移植はほとんど行われていない。これは小児の臓器提供がほとんどないことが原因と考えられる。

小腸移植の原疾患の 36% は主に中腸軸捻転などの小児外科疾患における小腸大量切除後による

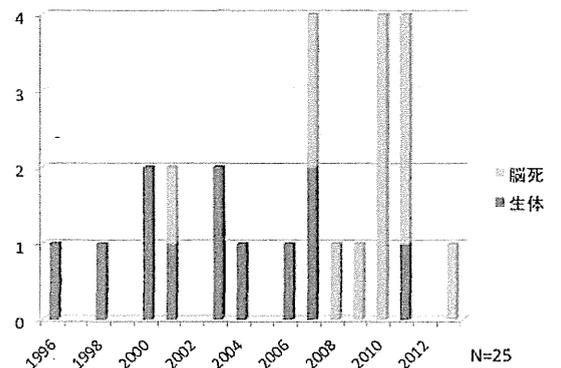


図 3 本邦小腸移植の年代別推移

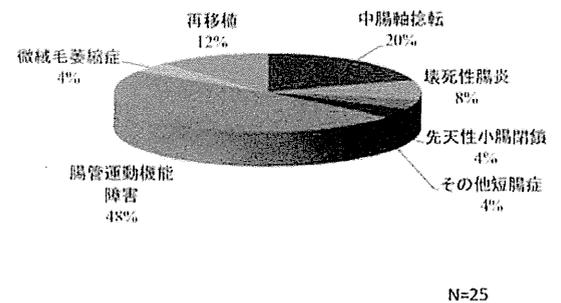


図 4 本邦小腸移植の原疾患

短腸症候群によるものである。それに対して腸管運動障害がおよそ半数と、海外に比べると本邦の小腸移植は腸管運動障害によるものの割合が多い (図 4)。これも短腸症候群による肝硬変症例は小腸移植までたどり着けないため、このような結果になっていると考える。

術式は、肝・小腸同時移植が 1 例のほかは、全例単独小腸移植であった。しかし、生体肝移植を先行して行い、ドナーが出現し次第その後に脳死小腸移植を行った異時性肝・小腸移植といえるものが 2 例実施されている。国内でも肝小腸同時移植は制度上可能ではあるが、肝臓の提供があって初めて肝小腸同時移植が可能であるため、静脈栄養による肝不全のように慢性肝疾患に対しては上位の点数がつかない現状では運用上は現実的ではない。

小腸移植の成績を (図 5) みると、患者の 1 年

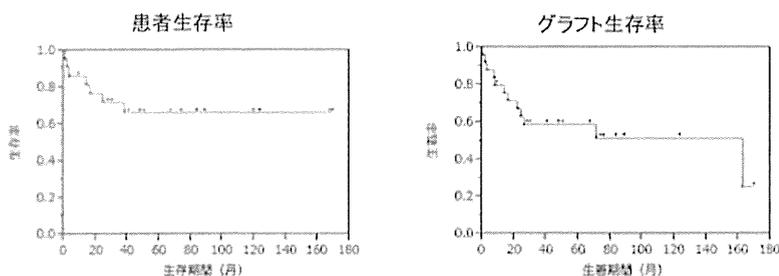


図5 本邦小腸移植の成績

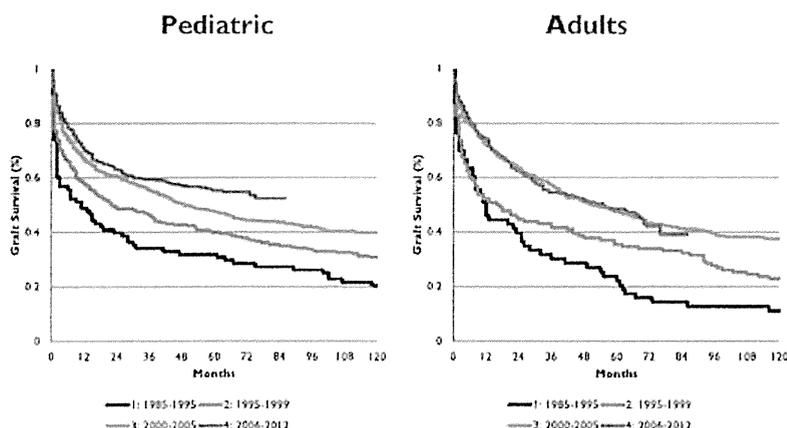


図6 国際小腸移植の年代別生着率

生存率は86%、5年生存率は65%、10年生存率は65%となっている。グラフト生着率も1年生着率、5年生着率、10年生着率がそれぞれ80%、62%、51%と同様な成績を示している。この成績は海外の小腸移植の成績に比べると（図6）格段に良好であることがわかる。

特に、患者生存率と、グラフト生存率を2006年以前と以降にて比較すると、2006年以降の患者の1年生存率は93%、5年生存率は76%、グラフト生着率も1年生着率、5年生着率がそれぞれ87%、71%と非常に高い成績を誇っている。この成績をみれば、小腸移植が難治性腸管不全の標準的治療の一つとなりうるものだと考える。特に、静脈栄養の合併症を引き起こし予後が不良な患者に対してならば十分検討するに値するといえる。

小腸移植の全例が移植後に静脈栄養から部分的には離脱することが可能であった。しかし、補液を必要とする患者も半数程度は存在し輸液から完全に自由になるわけではなかった。そのため、小腸移植後でも長期にわたって、外来入院管理が必要な場合もある。ただし、輸液が必要であっても静脈栄養に依存する必要や合併症の恐れは低下するため生命予後の観点からは大いに評価することができる。

V 本邦の小腸移植の実際と問題点

小腸移植の術式としては肝不全を伴っていないければ、術式としては単独小腸移植が選択される。腸管不全関連肝障害（IFALD）は腸管不全の重要な合併症であり静脈栄養の合併症として肝不全に

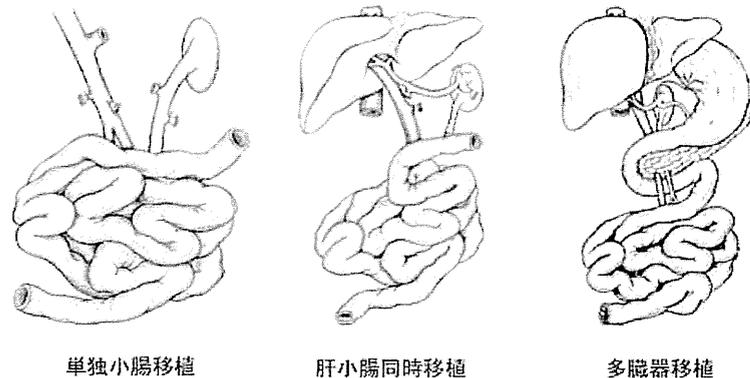


図 7 小腸移植の術式

至った場合には、もはや小腸単独の移植では回復が見込めないため、肝・小腸同時移植が選択される(図7)。肝・小腸移植、または多臓器移植が海外では頻繁に行われているが、国内では脳死移植時の臓器提供方法が整備されておらず、また、生体ではドナーへの負担が大きいことから今まで1例のみしか行われていない。生体肝移植先行小腸移植症例が2例実施されている。そのうち1例は生体肝移植実施後9カ月目に脳死小腸移植を実施されたが、急速に肝硬変に至り、小腸移植後21カ月目に再度生体部分肝移植後実施されている。このように、腸管不全に対して肝移植を実施しても急速に再び肝不全に至る例があるため、本来は肝臓と小腸は同時に移植するのが望ましい。

小腸移植の場合もほかの臓器と同様に脳死移植と、生体移植の選択がある。臓器移植法が2011年に改正されてから臓器提供数が増大したため現在では脳死下にて臓器提供を受ける例が海外と同様に増加しているが、依然として生体小腸移植も実施されている。脳死移植では健康なドナーを傷つける必要がないという最大の利点があり、また、小腸の全てを摘出して移植に用いることができるのが長所であるが、ドナーがいつ出現するかはわからず、遠方で脳死ドナーが出た場合、臓器を摘出して搬送するのに時間がかかるという短所がある。現在、疎血時間は12時間程度が許容で

きるので、本邦ではあまり問題になることはない。また、小腸移植は待機患者が少なくたとえ脳死ドナーの出現が年50例程度であっても比較的有利に脳死臓器提供を受けることができる。小腸移植はドナーの体格がレシピエントより小さいことが望ましいが、本邦では小児ドナーの出現が少ないため成人のドナーからの部分小腸移植に頼らざる負えない。

小腸移植の免疫抑制剤としては本邦ではタクロリムスを主体とした免疫抑制剤が使用されており、すでにサイクロスポリンとともに小腸移植に適用が通っている。小腸移植は拒絶を起こしやすいために、導入療法として抗胸腺抗体(rATG サイモグロブリン[®])やバシリキシマブ(シムレクト[®])などが必要不可欠である。これらの薬剤は小腸移植の導入療法としては保険適用となっていないが、使用しているのが現実である。

また国内で手に入らない薬剤としては、維持免疫抑制療法としてはSirolimus(ラパマイシン[®])も必要な薬剤である。小腸移植は腎障害をきたすことも多く、タクロリムスの濃度を下げるためには必要不可欠な薬剤である。現実的に国際小腸移植登録においても、Sirolimus使用症例の予後が良いことが明らかになっている。小腸移植においては抗体関連拒絶や、慢性拒絶の制御も必要な課題であることから、Ritximab(リツキサン[®])も

インダクションと使用される例が増えてきているが、この薬剤に関しても現状では保険適用となっていない。感染症では、移植小腸がサイトメガロ腸炎を起こした場合には腸管機能が著しく落ちることがあることから、その予防や治療としての抗CMVグロブリン（Cytogam[®]）も必要とされるが、この薬剤も現在国内では手に入れることができない。これらの薬剤については、移植学会からも全臓器移植に対しての適用として適用拡大を要望している。

小腸に対する急性拒絶反応は最も頻度の高い合併症であり、拒絶反応を早期に検出することが小腸移植後の術後管理としては最も重要な課題となる。手術直後からの定期的な内視鏡と組織学的な検査が早期拒絶反応の発見のために重要である。本邦では、術後1カ月は週に2-3回と頻回に行われていると思われる。内視鏡所見として小腸粘膜の浮腫、易出血性、絨毛の短縮などが小腸拒絶反応を示唆する所見であるが、最終的には病理診断によって確定することとなっている。移植病理医との綿密な連携も重要である。移植小腸の拒絶の早期診断は拒絶反応の進行を防ぐ治療を示す点で非常に重要であり、小腸移植の病理診断については従来の陰窩のアポトーシスに加え粘膜固有層の肉芽腫様の所見が診断に有用だと考えられている。これらの所見については小腸移植の病理に精通した移植病理医が必要である。

小腸移植の短期成績は向上しているものの、長期成績についてはいまだに満足を得るものを得ていない。大きな原因となっているのが抗体関連拒絶や、慢性拒絶であるが、病理診断上も肝移植のようにコンセンサスを得ているわけではない。これらの拒絶反応についても国内の病理医のコンセンサスを得る必要がある。

小腸移植については抗体関連拒絶が重要であることから、術前から、もしくはDe novoの抗HLA抗体について検査する必要がある。そのように経過を注意深くみていたとしても遠隔期に重度の拒絶を起こす可能性もあることが、依然とし

て小腸移植の問題である。

VI 現在の問題点

臓器移植法が改正されても、小腸移植の実施総数は依然として少ないままである。これは、小腸移植の潜在的待機患者は多数存在すると考えられるが、小腸移植の実施にまで至っていないことが原因として考えられる。理由としては小腸移植の適応の判断と経済的問題があると考えられる。

難治性腸管不全の患者に対する小腸移植の適応の問題であるが、移植施設まで紹介がなされていないことが考えられる。

これは、腸管不全が直ちに小腸移植の適応とならないことが判断を困難にしている。腸管不全であっても中心静脈栄養が維持できれば小腸移植を考える必要はなく、中心静脈栄養の合併症をきたして初めて適応となる場所に移植施設への紹介時期の難しさがある。

難治性腸管不全の患者のうち中心静脈栄養で生命維持を行うことが困難、または著しく生活の質が落ちている患者が対象となる。

1. 中心静脈栄養を行う中枢ルートがなくなることが予測されること
2. 肝障害を始めほかの臓器に障害がもたらされて、それが進行していること
3. 生活の質が著しく落ちていること。

1. の中枢ルートの残存本数については、小児においては左右内頸、鎖骨下静脈の4本のうち、成人においてはこれに左右の大腿静脈も含めた残存ルートが2本になった時点で小腸移植を考えなければならない。小腸移植を実施するためにも中枢ルートは必要なので、中枢ルートがなくなってしまうと、小腸移植そのものが実施できなくなってしまう。肝障害については、肝硬変となってしまうと小腸移植そのものが困難であるため、肝の線維化が進行している段階（F2）で小腸移植を検討することとなる。また、腎障害が進行した段階でも同様に移植の術後管理が腎不全にて困難になるため、クレアチンクリアランスが60程度で

小腸移植を検討することが望ましい。いずれにせよ、腸管不全が直ちに小腸移植の適応となるのではなく、腸管不全の合併症が適応になるところが小腸移植の適応の判断を難しくしている。

肝障害についても肝硬変に至ってしまうと肝・小腸同時移植を検討しなければいけないため、肝の線維化が進行し始めた段階で肝移植を検討しなければならない。また、腎障害についても同様に進行していない段階で移植の適応を評価する必要がある。

生活の質については、頻回なる感染症などで入院期間が長期にわたる場合、または腹痛が強くて内科的にコントロールできない場合に移植の適応について評価を行うべきだと考える。

いずれにせよ、小腸移植の適応時期の評価については難しいため、難治性腸管不全で静脈栄養から離脱できない場合は早期に移植施設にコンサルトを行うべきだと考える。今後はこのような潜在的な小腸移植適応患者の実態を把握し、登録を行い、適切な時期に移植施設に紹介するために、平成 24 年度からは「腸管不全に対する小腸移植技術の確立に関する研究（福澤班）」として、腸管不全の患者を登録し移植施設に適切に紹介できるように研究事業も進めている。

次に、小腸移植の件数が伸びない理由は経済的理由、特に保険が認められていないことにある。

現在、臓器移植法で認められた臓器の中で小腸移植のみが保険適用でないため、この費用を自費で補う必要がある。2011 年に、一部施設で先進医療が認められたもののほかの臓器移植に比べるとハードルはかなり高いものとなっている。

小腸移植に使用される免疫抑制剤は国内では全例タクロリムスを主体とした免疫抑制剤が使用されている。タクロリムスとサイクロスポリンについては 2011 年に適用が認められた。しかし、移植小腸移植は拒絶反応を起こしやすいことからタクロリムスとステロイド以外にもさまざまな薬剤が Induction と使用されている。現在、IL-2 レセプター抗体であるシムレクト[®]や、抗胸腺抗体

であるサイモグロブリン[®]などがあげられる。ただし、これらの薬剤も国内で販売はされているものの、小腸移植の適用が認められているわけではないため、移植学会などで認められるべく努力がされている。その成果もあってサイモグロブリン[®]については拒絶反応に対しては適用が認められた。

本来小腸移植を必要とする患者は中心静脈栄養の合併症によって肝不全をきたした例が少なからずあるため、肝・小腸同時移植や、多臓器移植など肝移植を同時に行う必要もある。本邦では、生体肝移植を先行して行い、その後に脳死小腸移植を実施するような異時性肝小腸移植が試みられてきた。現在、肝臓と小腸を同時に登録して、肝臓が提供を受けられれば優先的に小腸を提供されるように制度が変更になったが、腸管不全による慢性的な肝硬変で肝臓の提供を受けることは難しいため依然として肝・小腸同時移植は非現実的である。

小さな乳幼児では手技的に実施することが困難であることから、十二指腸や膵臓も含んだ多臓器臓器移植が海外では一般的に行われているが、本邦では認められていないことは小児領域では大きな問題となっている。

ヒルシュスプルング病類縁疾患のような腸管運動障害の患者では部分多臓器移植が必要であるが、こちらも同様に現状では道が開かれていない。

VII 終わりに

本邦の小腸移植は、症例は少ないものの優れた成績を保っている。それにもかかわらず小腸移植においては臓器移植法で認められた臓器の中で唯一保険が適用されていない。腸管不全の患者に希望の光が差し伸べられるためには早期の保険適用が望まれる。

文献

- 1) 日本小腸研究会小腸移植登録 2014 年
- 2) 国際小腸移植登録 国際小腸移植シンポジウム 2013 年 英国 ケンブリッジ

【長期予後と成人後の医学的問題】

小児外科疾患

八木 實^{*1} 尾花和子^{*2} 田口智章^{*3} 仁尾正記^{*4}

キーワード●小児外科, 長期予後, トランジション

はじめに

日本における小児外科は、この半世紀で格段の進歩が認められている。平成 26 年、日本小児外科学会は設立 50 周年を迎えた。この 50 年間で新生児外科疾患、胆道閉鎖症、小児固形がんを中心に、救命の段階から QOL の向上も含めた長期生存の段階になり、昨今では小児期に手術を受けた患児の大部分が成人に達し天寿を全うする時代になっている。したがって現在、小児期に手術を受け、長期にわたって治療やフォローアップが必要な患児は、思春期や青年期になっても小児外科医が窓口になって、それぞれの臓器に特異的な診療科である耳鼻科、泌尿器科、産婦人科や成人内科と連携しながら診療している場合が多いのが現状である。

本稿では、小児外科各疾患の長期予後の概略と、それらの成人後の諸問題をトランジションの観点から概説したい。

1 小児外科疾患の長期予後

1. 新生児外科疾患の長期予後

新生児外科疾患は新生児期の手術のみで治癒

する疾患が大部分であるが、術後長期にわたり治療やフォローアップを要するものもあり、成人期に達してもフォローアップしなければならないことも少なくない。先天性腸閉鎖症、臍帯ヘルニアや腹壁破裂などの腹壁異常、横隔膜ヘルニアなどで開腹手術を受けた患児は、通常は特に問題ないが、長期経過時に癒着性イレウスを起こすリスクを有していることは言うまでもない。したがって、成人期に至っても腹部に小児期に受けた術創がある場合は、成人期の術後と同様に、絞扼性イレウスの危険性も念頭に置く必要がある。

水腎症を含む閉塞性尿路疾患遠隔期例では、腎機能障害が進行し透析や腎移植につながるケースもあるので、腎臓内科医との連携も重要である。このほか、新生児外科疾患で術後も長期的なケアを必要とするものは、直腸肛門奇形(鎖肛)、特に総排泄腔遺残症や高位鎖肛、総排泄腔外反症、食道閉鎖症の気管軟化症合併例、横隔膜ヘルニアの肺低形成例などである。

直腸肛門奇形(鎖肛)では骨盤底筋群の発育の悪い高位鎖肛例などを中心に、便失禁や高度な便秘などの排便障害や尿失禁などの排尿障害

Long term prognosis and transition in the post-operative patients of pediatric surgical field.

^{*1}Minoru Yagi : Department of Pediatric Surgery, Kurume University School of Medicine, ^{*2}Kazuko Obana : Department of Pediatric Surgery, Yamanashi Prefectural Central Hospital, ^{*3}Tomoaki Taguchi : Department of Pediatric Surgery, Kyusyu University Graduate School of Medical Sciences, ^{*4}Masaki Nio : Department of Pediatric Surgery, Tohoku University Graduate School of Medicine

^{*1} 久留米大学医学部主任教授(小児外科), 日本小児外科学会理事(トランジション検討委員会担当), ^{*2} 山梨県立中央病院小児外科主任医長, 日本小児外科学会トランジション検討委員会委員長, ^{*3} 九州大学大学院医学研究院教授(小児外科), 日本小児外科学会前理事長, ^{*4} 東北大学大学院医学系研究科教授(小児外科), 日本小児外科学会理事長

が継続する場合がある。総排泄腔遺残症および外反症では、排便障害のほかに、月経障害や妊娠困難など生殖器障害や難治性の尿路感染など泌尿器障害を併存することも多い。内科医のみならず産婦人科医や泌尿器科医との連携が必要で、ストーマ症例では皮膚・排泄ケアに関し認定を受けたWOC (wound, ostomy and continence) ナースや、こころのケアも含めたチームによる診療が必要であることも多い。

ヒルシユスプルング病の治療は、現在ではtransanal endorectal pull-through法が主流となり、術後良好な排便機能を認めることが多いが、過去においては術式が多岐にわたり、成人期になっても術後合併症由来の失禁、汚染、便秘、排尿障害が認められる症例も散見され、術後長期にわたって小児外科にとどまらず泌尿器科との連携でフォローアップを行うことが肝要である。

食道閉鎖症では嚥下障害や胃食道逆流症や気管軟化症のために呼吸困難や肺炎を起こすことがある。特に上気道感染を契機に症状が悪化することもあるので注意を要する。小児期から耳鼻科医との連携を図ることも重要で、成人期例では内科医や耳鼻科医との連携が必要である。最近では胸筋を切開せずに低侵襲で手術が行われているが、以前の症例では胸筋切開に由来する側弯症例が散見され、整形外科医との連携も重要である。

横隔膜ヘルニアでは横隔膜全欠損や高度肺低形成などの重症症例の救命例では、反復する呼吸器感染、気管支喘息、慢性肺機能障害、慢性肺高血圧症、胃食道逆流症、逆流性食道炎、栄養障害に伴う成長障害、精神運動発達遅滞、聴力障害、漏斗胸、脊椎側弯などを発症しやすい。生存例の15～30%程度にこれらの後遺症や障害を伴うと言われ、新生児外科治療の改善による重症症例の救命例の増加に伴い、長期にわたり在宅酸素療法が必要な症例を含む後遺症や障害を有する症例が、今後一層増加すると考えら

れ、本症の長期フォローアップと治療の継続が重要で、総合診療医を中心とした地域連携も必要である。

2. 乳幼児期外科疾患の長期予後

胆道閉鎖症例では約1/3が自己肝で成人に達するが、小児期に肝移植を受けた患児は一生免疫抑制薬の服用を続ける必要があり、服薬のコンプライアンスの問題のみならず長期薬剤服用の副作用として、感染症、腎障害、糖尿病、高血圧、発がんなどのリスクがある。したがって、成人期以降は内科医による免疫抑制薬の継続投与と、長期的な合併症に留意した定期的健診が必要となる。

胆道拡張症では成人期になってから、吻合部狭窄、肝内結石、胆管炎、胆管がんの発症を認めることがあるため、小児外科でのフォローアップにとどまらず、成人肝胆膵外科との連携も重要である。

小児がんの治療成績の劇的な向上により、進行例でも治療後に長期生存する症例が増加してきた。こういう症例では成長障害、腎機能障害、内分泌・代謝障害だけでなく、10年後、20年後の晩期再発のみならず二次がん発症のリスクもあり、長期フォローアップを含め、成人血液・腫瘍内科医との連携も念頭に入れるべきである。

ヒルシユスプルング病類縁疾患は直腸に神経節細胞が存在するにもかかわらず、ヒルシユスプルング病のような機能的腸閉塞症を来す疾患で、このうちhypoganglionosis (神経節細胞減少症)、MMIHS (megacystis-microcolon-intestinal hypoperistalsis syndrome; 巨大膀胱短小結腸腸管蠕動不全症)、CIIP (chronic idiopathic intestinal pseudo-obstruction; 慢性特発性偽性腸閉塞症) は全消化管に異常があり、長期的な静脈栄養や経腸栄養、腸瘻の管理など、成人に至るまで治療が必要である。現在、厚生労働科学研究の研究班(研究代表者: 田口智章)にて、全国実態調査を基に小児から成人に至るシームレスな診断基準、重症度分類、ガイドラ

インの整備が行われており¹⁾、平成27年1月から小児慢性特定疾患および難病指定として成人期まで医療費補助が開始される予定である。

3. 重症心身障害児に対する小児外科医の関与とその予後

重症心身障害児は小児科医が成人期に到達してもずっと診療しているのが現状である。新生児仮死や低酸素性脳症による脳性麻痺、重症てんかん、脳炎、髄膜炎の後遺症などは、新生児期から20歳を過ぎても重症心身障害児療育施設または在宅で、小児科医により診療や経過観察されているのが一般的のようである。それらの症例に外科的処置が必要になった場合に、小児外科医が対応しているのが現状である。胃食道逆流症、誤嚥による嚥下性肺炎の防止などが主な外科的な使命であり、栄養路の確保・誤嚥防止目的で胃瘻造設術が、重度の胃食道逆流症には噴門形成術が、気道確保や誤嚥防止目的に気管切開術や喉頭気管分離術が行われている。また、気管切開例では気管腕頭動脈瘻による出血を認めることがあり、腕頭動脈離断術が行われることもある。そのほか、消化性潰瘍からの出血や穿孔、腫瘍の発生なども散見される。ある程度広い範囲の臓器に臨機応変に対応できるのが小児外科医の強みであり、これに代わる成人外科医は今のところ養成されていないのが現状である。

III 小児外科疾患におけるトランジションの必要性と問題点

昨今、小児期発症疾患を有する患児の成人期に向かう診療にあたって、小児期医療から個々の患者にふさわしい成人期医療への移り変わり、すなわち、移行期医療(トランジション)が重要な課題となっている。移行期においていかなる医療を受けるかの決定権は患者にあり、患者およびその家族の望まない成人診療科への転科を勧めるために使われてはならないのは言うまでもない。そのために患者本人が理解力と判

断力に応じた説明を受け決定したり、意見を表明できることが重要で、成人期の小児期発症疾患に対しては、年齢と共に変化する病態の研究、適切な診療方法の開発が不可欠である。同時に、病態の変化と人格の成熟に伴い、小児期医療から成人期医療へ移行する間で、これら2つの医療の担い手が、シームレスな医療を提供することが肝要である。

小児期に手術を受けた患児のうち、手術で病気が治癒し通常の日常生活を営むことが可能で、問題なく成長し成人に達する者が多数を占めている。しかしながら、一部の患児は術後も排便・排尿障害や腎障害、運動障害などが継続し、長期的な治療が必要な例もあり、思春期・成人期に達すると性や生殖の問題も生じてくるのも現状で、トランジションが問題となってくる。

現在、小児期に手術を受け、長期にわたり治療やフォローアップが必要な患児は、思春期や青年期になっても小児外科医が窓口になって、それぞれの臓器に特異的な診療科である耳鼻科、泌尿器科、産婦人科や内科と連携しながら診療している場合が多い。しかし、成人期になると小児期にはないような病気、つまり成人病や成人特有の上皮由来のがんなどの発症があるため、成人としての健診を定期的に受診し、成人期の病気を見逃さないようにしなければならない。そのためには患者に自分は成人であると自覚させ、それから先の展望を十分に説明し、小児外科医から巣立っていく必要がある。しかしながら、患児と医師には小児期の病気を介した濃い人間関係ができていくことが多く、それらの関係を継続したまま成人期まで小児外科医が診療にあたるのは時間的制約もあり、お互いにとって不利益の場合も多い。

小児期に発症し成人期にも認められる疾患である潰瘍性大腸炎やクローン病などは、むしろ内科医のほうが得意な疾患なので、小児系診療科から成人診療科へのスムーズな移行が可能と