

平成21年度自治医科大学医学部 研究奨励金研究成果報告

関節リウマチ新規治療ターゲットとしての BCMA 分子の関節炎への病的関与の解明

自治医科大学内科学講座
アレルギー膠原病学部門
永谷 勝也, 簗田 清次

我々は APRIL とその受容体である BCMA が関節リウマチ (RA) 患者の関節線維芽細胞様滑膜細胞 (FLS) に発現しており, RA 患者では血清 APRIL 濃度が有意に高いことを見出した。さらに, FLS に *in vitro* で APRIL を添加すると, FLS の有意な増殖と, 炎症性サイトカインである TNF- α , IL-1 β , IL-6 および破骨細胞分化因子である RANKL mRNA 発現が有意に増加することを示した。

我々はまず, これまで B 細胞の生存因子の一つと考えられていた APRIL とその受容体である BCMA が RA 患者 FLS に病的に発現しているメカニズムについて検討した。エピジェネティクスは, ゲノム DNA の後天的な修飾, 制御によってゲノム情報を活用する高次の生体システムである。RA のように, 遺伝因子や環境因子のような異なる複数の病因が複雑に関与する疾患では, エピジェネティクスが, その両者の橋渡しをする要素として注目されている。

PU.1 および OBF.1 は BCMA の発現調節に関わる転写因子およびコアクチベーターとして報告されている。エピジェネティックな PU.1 および OBF.1 発現調節の破綻が, 病的な BCMA 発現の一因である可能性があると予測し, RA と疾患コントロールの変形性関節症 (OA) 患者 FLS において, PU.1 および OBF.1 遺伝子の発現について比較検討した。その結果, RA 患者では, 疾患コントロールの OA 患者 FLS と比して, PU.1 および OBF.1 遺伝子の発現が有意に亢進していることが示された。

以上の検討から, エピジェネティックな PU.1 および OBF.1 発現亢進が BCMA の病的発現亢

進に関与し, RA 患者 FLS においては APRIL-BCMA のオートクラインループが形成され, 炎症性サイトカインや破骨細胞分化因子の発現を亢進させることにより RA の病態に関与している可能性が示唆された。

視床下部摂食中枢ニューロンの電気活動に対する アディポネクチンの作用と生理的意義

生理学講座 統合生理学部門
助教 須山 成朝

脂肪細胞はアディポカインを分泌して全身機能の制御に関わっているが, その中でアディポネクチンは代表的な善玉アディポカインであり, 末梢においてインスリン感受性増強, 抗動脈硬化, 抗炎症作用など多様な作用, 抗メタボリックシンドローム作用が報告されている。中枢神経系においても, 血中アディポネクチンが脳脊髄液へ移行すること, 視床下部の摂食・代謝中枢領域に受容体が発現すること, 脳室内投与により摂食とエネルギー代謝が変化することが報告されている。しかし, 中枢作用が強く示唆されるにもかかわらず, 研究グループ間で摂食・エネルギー代謝に対する効果は異なり, またそれらの作用を仲介する標的ニューロンと作用機構は不明である。研究グループ間で結果に差異が生じた原因として, 試験をする時間帯, すなわち空腹か満腹かの状態が異なり, 空腹期には摂食を抑制し, 満腹期には摂食亢進に働いていた。

このことから本研究は, 空腹, 満腹により大きく変化する要因としてグルコース濃度に着眼し, 「中枢アディポネクチンはグルコース濃度依存的に摂食行動を制御する」という仮説をたて, これを検証した。このため全身情報を初めにキャッチする第一次摂食・代謝センターであり, アディポネクチン受容体の発現が報告

されている視床下部弓状核のプロオピオメラノコルチン (Proopiomelanocortin; POMC) 発現ニューロンに焦点を当て、アディポネクチンの POMC ニューロン活性化作用を検討するため、急性スライスを用いたパッチクランプを行った。

スライスパッチクランプのため、POMC ニューロン特異的 GFP 発現トランスジェニックマウス (5~9 週齢) から麻酔下で脳を取り出し、視床下部弓状核を含む急性脳スライス (厚さ300 μ m) を作成し、人工脳脊髄液中で一時間以上静置した後、蛍光顕微鏡下で目的ニューロンを同定した。電流固定法によりアディポネクチン添加による膜電位の変化を記録した。

5 mM または10 mM グルコースを含む細胞外液灌流下でアディポネクチン添加による膜電位変化を測定した結果、5 mM グルコース存在下では POMC ニューロンの膜電位は約 4 mV の脱分極を示したのに対し、10 mM グルコース存在下においては約10 mV の過分極が観察された。さらに、他のニューロンからの入力を遮断するため、常時0.5 μ M テトロドトキシンを加えて活動電位の発生を抑制した条件下においても、同様の結果を示したことから、アディポネクチンは POMC ニューロンに直接作用し、低グルコース濃度においては活性化、高グルコース濃度においては抑制を引き起こすと結論された。

POMC ニューロンは活性化により摂食抑制に働くことが知られているが、急性スライスによる膜電位測定においてアディポネクチンは低グルコース状態では POMC ニューロンを活性化、すなわち空腹時において摂食抑制作用を、高グルコース状態では抑制、すなわち満腹時において摂食亢進を示唆した。先行研究における相反する結果はそれぞれの実験条件におけるグルコース濃度の違いを反映したと推察される。

ゲノミクス技術を用いた T 細胞性リンパ腫の病態解析

自治医科大学内科学講座 血液学部門
藤原慎一郎

【目的】

悪性腫瘍のゲノムにおいて様々なコピー数の異常が生じ癌遺伝子の重複あるいは癌抑制遺伝子の欠失が生じることが知られている。近年、ゲノムワイドなコピー数の解析手段として、comparative genomic hybridization (CGH) 法が開発され極めて高い解像度での解析が可能となった。われわれは、single nucleotide polymorphism (SNP) タイピング用に開発された高密度マイクロアレイを用いて T 細胞性リンパ腫の大規模ゲノムコピー数・loss of heterozygosity (LOH) スクリーニングを行った。

【方法】

T 細胞性リンパ腫患者73例 (末梢性 T 細胞性リンパ腫非特定型 (peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified : PTCL-NOS) 33例及び血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫 (Angioimmunoblastic T-cell lymphoma : AITL) 40例) のリンパ節よりゲノム DNA を抽出し、Affymetrix 社 GeneChip Mapping 100K アレイにハイブリダイズさせ網羅的 CGH 解析を行った。また、疾患細胞より RNA を抽出後、cDNA を合成しリアルタイム RT-PCR による遺伝子発現解析およびシーケンスによる塩基配列解析を行った。さらに、各患者の追跡調査を行いゲノム異常と生命予後との関連を統計的に解析した。

【結果】

T 細胞性リンパ腫に共通したゲノム異常を抽出すると、8, 9, 19 番染色体のコピー数の増加および3, 9 番染色体のコピー数の減少が共通のゲノム異常として認められた。共通した LOH 領域は2, 8 番染色体上に高頻度に認められた。クラスタリング解析にて、T 細胞性リンパ腫は共通のゲノム異常にていくつかのサブグループに分けられることが明らかとなった。また、PTCL-NOS および AITL のゲノム異常を比較すると各組織系に特異的なゲノムコピー数

の異常及び LOH が認められた。ゲノムコピー数の変化が候補遺伝子に与える影響を解析すると、7p22領域のコピー数増加が *CARMA1* の発現増加を、また、9q21領域のコピー数減少が *MTAP*, *CDKN2A*, *CDKN2B* の発現低下をもたらすことが明らかとなった。共通した LOH に存在する *Helios* を解析すると、シーケンスにて DNA 結合部位のアミノ酸が欠損した 2 種類の変異 *Helios* が検出された。変異 *Helios* は T 細胞性リンパ腫症例全体の 11% に検出された。さらに、Cox の比例ハザードモデルを用いた解析にて、2, 3, 5, 7, 8, 17, 18 番染色体のコピー数の増加および 1, 8, 9 番染色体の LOH が T 細胞性リンパ腫の予後不良因子となることが明らかとなった。AITL 症例の予後に影響する 13q22 領域を解析すると、同領域のコピー数増加は *MYCBP2* の発現増加をもたらす。さらに、*MYCBP2* 高発現症例は統計学的に有意に予後不良であることが認められた。

【結語】

高解像度アレイ CGH 解析にて T 細胞性リンパ腫の病態、予後に関係する新しいゲノム異常を明らかにした。ゲノム異常領域を解析することでいくつかの候補遺伝子を同定した。これらの知見は T 細胞性リンパ腫の層別化や分子標的薬の開発に有用と考える。

下垂体前葉ホルモン産生細胞の機能維持に対する濾胞星状細胞の役割

自治医科大学医学部解剖学講座 組織学部門
藤原 研

【背景】

下垂体前葉は 5 種類の異なる細胞種により 6 種類のホルモンを分泌する。前葉を構成する細胞にはホルモン産生細胞以外に濾胞星状細胞 (FS 細胞) があり、長い突起でホルモン産生細胞を取り囲むように存在している。これまでに FS 細胞は種々の成長因子やサイトカインを分泌することが知られているが、ホルモン産生細胞への作用は十分に理解されていない。最近、S100 β タンパク質のプロモーター下に

GFP 遺伝子を組み込んだトランスジェニックラット (S100b-GFP ラット) が作成された。このラットの下垂体前葉では FS 細胞のみが GFP を発現しており、容易に識別、単離することが可能となった。本研究では GFP 発現 FS 細胞をセルソーターにて純化、回収し、ホルモン産生細胞と遺伝子発現を比較することで FS 細胞特異的発現遺伝子を同定することを目的とした。

【方法】

S100b-GFP ラットの下垂体前葉の組織を collagenase, EDTA 処理し、細胞を単離した。フローサイトメトリー法により、GFP 陽性である FS 細胞の細胞群と陰性であるホルモン産生細胞の細胞群を分取した。それぞれの細胞群で発現している遺伝子を Whole Rat Genome Oligo Microarray (4x44K) (Agilent 社) を用いて解析をおこない、FS 細胞で特異的、もしくは高発現している遺伝子を検出した。さらにマイクロアレイによって解析したいいくつかの遺伝子の発現をリアルタイム RT-PCR 法により確認した。また、cRNA プローブを作製し、in situ hybridization 法を用い下垂体前葉組織での発現を検討した。

【結果】

S100b-GFP ラット下垂体前葉からフローサイトメトリー法により、GFP 陽性細胞 (濾胞星状細胞) と GFP 陰性細胞 (ホルモン産生細胞) を生きたまま選別、回収することができた。得られた細胞分画から RNA を抽出し、FS 細胞のマーカーである S100 β タンパク質、およびホルモン遺伝子発現 RT-PCR 法により解析したところ、GFP 陽性分画には FS 細胞が、陰性分画にはホルモン産生細胞が分取できたことが確認された。

次に、ソートして単離された濾胞星状細胞とホルモン産生細胞から total RNA を回収し、発現遺伝子をマイクロアレイにて比較することにより FS 細胞特異的に発現している遺伝子を網羅的に解析した。その結果、既知の FS 細胞に特異的に発現するとされる S100 β タンパク質、vimentin, FGF2, Anx1, Cx43 などの遺伝子が FS 細胞分画に高発現していることが確

かめられた。マイクロアレイの解析結果から、分泌性タンパク、接着因子、細胞外マトリックスに焦点を当てて特異的発現遺伝子をピックアップした。その中で、既知の分泌タンパク質であるがその産生細胞が同定されていない遺伝子が見つかった。リアルタイム PCR 法により発現量を定量した結果、FS 細胞に特異的に発現していることが再現され、さらに、in situ hybridization 法により、FS 細胞で発現していることが明らかとなった。

【考察】

FS 細胞はホルモン産生細胞と比較して多くの異なった遺伝子を発現していることをマイクロアレイにより網羅的に明らかにすることに成功した。FS 細胞特異的に発現している分泌タンパク質が同定でき、このタンパク質がホルモン産生細胞の機能調節因子として働く可能性が示唆された。さらに、アレイの結果から新規の機能調節因子が発見される可能性があり、詳細な解析が必要であると考えている。

cDNA 発現ライブラリースクリーニングによる新規癌遺伝子 FFAR2 の同定と消化管癌への関与

畑中 恒^{1) 3)}, 津久井舞未子¹⁾, 高田 修治³⁾,
倉科憲太郎²⁾, 崔 永林³⁾, 曾田 学³⁾,
山下 義博³⁾, 春田 英律^{2) 3)}, 濱田 徹^{2) 3)},
上野 敏秀³⁾, 玉田 喜一¹⁾, 細谷 好則²⁾,
佐田 尚宏²⁾, 安田 是和²⁾, 永井 秀雄²⁾,
菅野健太郎¹⁾, 間野 博行³⁾

¹⁾ 自治医科大学消化器内科

²⁾ 消化器外科

³⁾ ゲノム機能研究部

【抄録】

切除胆嚢癌組織より SMART 法で完全長 cDNA を選択的に増幅し、得られた cDNA を pMX レトロウイルスベクターに挿入し cDNA 発現レトロウイルスライブラリーを構築した。本ライブラリーを 3T3 細胞に感染させて得られた 89 個の形質転換フォーカスから PCR によりインサート cDNA を回収した。配列解析の結

果、これらの cDNA は計 19 種類の遺伝子に相当し、そのうち 4 遺伝子で形質転換能が確認された。その 1 つは短鎖脂肪酸に対する G 蛋白共役型受容体である *FFAR2* (free fatty acid receptor 2) 遺伝子であり、ソフトアガー培養アッセイ、ヌードマウスによる造腫瘍アッセイなどで悪性形質転換能が今回初めて確認された。我々の *FFAR2* cDNA の全塩基配列解析の結果配列異常は認められず、本遺伝子の高発現が発癌に関与していることが推察された。次に *FFAR2* の消化管癌への関与について、その発現量を定量的 RT-PCR で検討したところ、大腸癌 ($n=80, p=0.004$) と胃癌 ($n=89, p=0.006$) 臨床検体において、それぞれ非癌部よりも癌部で mRNA 発現量の有意な上昇が確認された。さらに in situ ハイブリダイゼーション解析、免疫組織化学染色によっても、大腸癌、胃癌組織の癌部で高発現していることが確認された。さらに *FFAR2* 発現 3T3 細胞において短鎖脂肪酸添加により細胞増殖能が有意に上昇した。*FFAR2* は、胃癌、大腸癌など広範な消化管癌の発癌、増殖促進へ関与していることが示唆され、将来的に治療標的候補の 1 つとなる可能性があると考えられた。

肺癌原因遺伝子の細胞内シグナル伝達機構解析

ゲノム機能研究部

崔 永林

我々が 2007 年に発見した肺がん原因遺伝子 EML4-ALK について、その発がんメカニズムの詳細な解明を目指した。まず EML4-ALK が実際に肺がん発症に中心的役割を果たすことを明らかにするべく、EML4-ALK を肺胞上皮特異的に発現するトランスジェニックマウスを作成した。同マウスは生後僅か数週齢で、両肺に数百個の肺腺がんを多発発症し、また観察期間中にさらに腫瘍サイズは増大した。すなわち EML4-ALK は同遺伝子陽性肺がんの発症に中心的役割を果たす極めて強力ながん遺伝子であることが示された。さらに EML4-ALK の治療モデル実験として、経口接種可能な ALK 特異

的阻害剤を製薬企業と共同で開発し、上記マウスに投与した。一日一回の経口投与のみでおよそ1ヶ月で肺がんはほぼ全て消失することが確認された。以上より ALK 阻害剤は EML4-ALK 陽性肺がんの全く新しい分子標的治療剤となることが *in vivo* において証明された。

一方 EML4-ALK の具体的な細胞内シグナル伝達機構を明らかにするべく、まず同キナーゼの細胞内分布を確認したところ、細胞質に粒状に存在することが示された。さらにチロシンリン酸化タンパクを同定する目的で、EML4-ALK 発現細胞内のリン酸化タンパクを鉄イオンカラムにて純化し、高感度プロテオミクス解析を行った。その結果、特定の細胞内タンパク群が EML4-ALK の酵素活性依存性にリン酸化されることが確認され、興味深いことにそのプロファイルは正常 ALK によるリン酸化タンパク群とは大きく異なることが明らかになった。

また実際の ALK 阻害剤による患者治療の際には、薬剤耐性症例の出現が予想される。そこで EML4-ALK 導入により成長因子非依存性に増殖可能となった培養細胞株に ALK 阻害剤を低濃度で投与し、薬剤耐性細胞クローンの選別を行った。得られた細胞クローンをさらに培養後、添加阻害剤の濃度を漸次増加させ、ALK 阻害剤の臨床上の実効濃度でも薬剤耐性となるクローンの選別を行った。その結果 *in vitro* において完全に薬剤耐性となる細胞クローンを得ることができた。このクローンに生じた二次性ゲノム変異を同定するため、元の細胞株とのゲノム配列の違いを次世代シーケンサーを用いて網羅的に解析した。その結果薬剤耐性株においてのみ新たに生じた点突然変異を複数個同定した。これら変異遺伝子それぞれについて ALK 阻害剤への反応性を検定したところ、最終的に2種類の薬剤耐性変異を新たに発見することに成功した。興味深いことにこれら変異は異なった細胞クローン上に生じており、互いに独立に培養状況下で生じた獲得性変異であることが明らかになった。これら2種類の変異共に、実験に用いた ALK 阻害剤のみならず他の ALK 阻害剤に対しても耐性になることが明らかになり、普遍的な ALK 阻害剤耐性獲得機構であると考えられた。また両変異共に薬剤耐性

となるが、その程度は用いる阻害剤によって異なった。しかもどちらの変異がより強く耐性かも、阻害剤によってまちまちであり、薬剤耐性の程度は、一部阻害剤の構造自体に依存していることも示された。これら変異を獲得した細胞株においては、ALK 阻害剤存在下でも EML4-ALK 自体のチロシンリン酸化レベルおよびそのキナーゼ活性が低下しておらず、我々が同定した薬剤耐性獲得変異は EML4-ALK のキナーゼ活性を直接的に制御するものであると考えられた。

以上より、我々は新たなアプローチを用いることで EML4-ALK 発現細胞の薬剤耐性獲得メカニズムを明らかにすることに成功した。こうして同定した変異を、今後臨床検体においてスクリーニングし、実際の ALK 阻害剤臨床応用の際の治療反応性にいかに影響を与えるかを検討予定である。

造血幹細胞：数の制御機構の解明

助教 光永佳奈枝

【背景及び目的】

Latexin 遺伝子は、大脳皮質のニューロンの部位特異的マーカーとして発見され (Genomics, 1997)、カルボキシペプチターゼのインヒビターとして解析が進められてきた。その後、Liang らにより、マウス系統で示される造血幹細胞数の違いは、Latexin の発現量と逆相関の関係にあることが報告され、Latexin の造血系との関与が示された (Nature Genetics, 2007)。しかしながら、Latexin が造血幹細胞数を制御するメカニズムは全く不明である。本研究ではその機能解明を目的にマウスの骨髄内における造血幹細胞数の制御機構について解析を行なった。

【方法】

Latexin 遺伝子欠損マウスと同腹正常マウスの造血幹細胞/造血前駆細胞の数の違いを明らかにするため、フローサイトメトリー法、コロニー形成法を使って解析した。また、骨髄内における Latexin 遺伝子の発現分布は不明な点が

多いことから、骨髓内の微小環境に存在する造血幹細胞を標的に、造血幹細胞のマーカー及びニッチ環境を示すマーカーと Latexin との二重染色により免疫組織染色、細胞染色を行なった。さらに、Latexin が活性を抑制するとされるカルボキシペプチターゼは骨髓内に発現していないことから、骨髓内における Latexin の新たな結合因子と機能を明らかにする目的で、ディファレンシャルプロテオミクス解析を行なった。

【結果】

先の報告から、Latexin ノックアウトマウスの造血幹細胞数は増加すると予想されたが、解析の結果、Latexin ノックアウトマウスの造血幹細胞数には対照と有意差は認められなかったものの、ヘテロ個体では増加し、ホモ個体では減少する傾向にあることがわかった。また、倒立顕微鏡デジタルイメージングシステムを使った、Latexin の発現様式の解析では、Latexin が造血幹細胞に発現することを明らかにした。骨髓切片を用いた発現解析の結果、Latexin 発現細胞は、造血幹細胞マーカーである Tie2, Robo4, N-cadherin の陽性細胞と一部重なり、N-cadherin においては、弱陽性細胞側（造血幹細胞側）に強く発現していた。また、これらの造血幹細胞マーカーは Latexin が欠損すると 1 / 3 程度までに発現が減少した。Latexin の新たな結合因子の探索においては、Latexin 遺伝子の発現の有無により、骨髓内では ECF-L, Endoplasmic reticulum chaperone protein, lactotransferrin の発現が 1 / 5 程度減少していることがわかった。

【結語】

多細胞生物の進化の過程では各組織、各細胞が互いの有機的連携を保ちながら生体の恒常性を維持し、個体が存続する。この有機的な連携は生体の内分泌系、神経系、免疫系、代謝系など、さまざまな化学反応によって調整される。Latexin 遺伝子を取り巻く分子は、骨髓内と大脳皮質等の他組織とは異なっており、発生段階、及び造血幹細胞の環境条件によっても変化する。Latexin の結晶構造から、骨髓内においてもペプチターゼなどの酵素に作用することは間違いないと考えられる。しかし、Latexin ノックアウトマウスで造血幹細胞数の有意な変化が

認められなかったことは、造血幹細胞の数はその他の遺伝子によっても制御されていることを示す。latexin の発現が欠損した際に変動した因子群などの解析から、造血幹細胞の数は、当初考えていたよりも複雑に制御されていることが示唆された。

クラミジア・トラコマティス性卵管性不妊症の病態形成における熱ショック蛋白の役割 ～クラミジア・トラコマティス二次感染モデルマウスを用いての検討～

平野 由紀^{1,2}

¹自治医科大学医学部産科婦人科学講座

²自治医科大学附属病院生殖医学センター

【目的】：

我々は、*Chlamydia muridarum*（以下 Cm）を経腔接種し、*Chlamydia trachomatis*（以下 Ct）性卵管性不妊症モデルマウスを樹立し、走査型電子顕微鏡を用いて Ct 感染モデルマウスの卵管における卵管性不妊の発症と密接に関連する線毛上皮細胞の表面構造の経時的破壊、および修復変化を報告してきた。しかし Ct 初回感染のみでは卵管の広範な組織傷害を観ることはなかった。卵管炎の病態形成は、Ct 持続感染や、遅延型過敏反応に関与する *Chlamydia* heat shock protein 60 (cHSP60) による免疫反応などに誘導されるとの報告があるが、未だ不明な点が多い。そこで今回、Ct 感染マウスにさらに遅延型過敏反応を想定した Ct 二次感染モデルを作製し、血清抗体価の測定および卵管傷害度について形態学的検討を行った。

【方法】：

- ① Ct 接種：5 週齢の BALB/c マウスに progesterone を投与し、1 週後に Cm を経腔的に接種した。初回接種群は週 2 回ずつ合計 5 回の接種を行い、初回接種群は初回接種より 35 日後に両側卵管を切除した。二次感染群は Cm 再接種を初回接種より 35、38 日に 2 回行い、70 日に両側卵管を切除した。また対照群には sucrose-phosphatic buffer を投与した。
- ② Ct 感染確認：それぞれ卵管周囲の swab を採

取し, FITC 標識抗 Ct 抗体で染色し Ct 抗原の存在を確認した。

- ③血中抗 Ct 抗体価, 抗 cHSP60抗体価の推移: 1 週毎に尾静脈より採血を行い, ELISA 法を用いて抗 Ct 抗体価 (IgG, IgA, IgM) (ヒタザイムクラミジア, 日立化成, Tokyo, Japan) および抗 cHSP60抗体価 (cHSP60-IgG-ELISA medac, Hamburg, Germany) を測定した。
- ④形態学的検討: 実験群の卵管組織を Hematoxylin Eosin (以下 HE) 染色を行い, 病理組織学的に形態変化を比較検討した。

【結果】:

- ①再接種の際に血中抗 Ct IgG 抗体価は有意な増加を示した。さらに抗 cHSP60抗体価も, 二次感染後に増加傾向を示した。抗体価はそれぞれ初回接種群と比し約 4 倍程度に上昇した。
- ②Ct 再接種群は初回接種群と比較し, 卵管により高度な線毛構造の破壊像と, 内腔により多量の分泌物を認めた。また一部に線毛の癒合所見, あるいは間質部の肥厚を確認した。

【結論】:

Ct 二次感染モデルマウスの卵管において, 初回接種群では認めなかった卵管上皮細胞のより強い破壊像を確認した。Ct 持続感染では Ct 菌体は増殖しないが, 免疫原性の高い cHSP60 は産生され続ける。本研究の結果から, 二次感染モデルマウスにおいて, 卵管上皮細胞のより強い破壊像と, 血中抗 cHSP60抗体価の上昇等の所見より, 遅延型過敏反応が卵管傷害の重症化に関与することが示唆された。

Sentinel Lymph Node Biopsy in Patients with Breast Cancer Using Superparamagnetic Iron Oxide and a Magnetometer

Mikio Shiozawa¹ MD, Alan Lefor² MD MPH
Yasuo Hozumi² MD PhD
Katsumi Kurihara¹ MD PhD
Naohiro Sata² MD PhD
Yoshikazu Yasuda² MD PhD
Moriaki Kusakabe DVM. PhD³

¹ Department of Surgery, Oyama Municipal Hospital 1-1-5 Wakagichyo, Oyama, Tochigi, Japan 323-0028

²Department of Surgery, Jichi Medical University 3311 Yakushiji, Shimotsuke, Tochigi, Japan 329-0498

³ Research Center for Food Safety, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan 113-8657

Abstract

Introduction: Sentinel lymph node biopsy (SLNB) is the standard of care for many patients with breast cancer, and is commonly done using a radioisotope (RI). However, throughout the world, many hospitals lack facilities for using RI. In this study, we developed a novel method using a superparamagnetic iron oxide (SPIO) tracer and a magnetometer instead of RI to perform SLNB. Patients and Methods: 30 patients were included in the study after obtaining IRB approval. Superparamagnetic iron oxide and patent blue dye were injected in the subareolar breast tissue. Following a few minutes of massage to promote migration of both magnetic tracer and dye, subcutaneous lymph nodes in the axilla were detected transdermally using the handheld magnetometer and harvested as the SLN. SLNB was followed by standard axillary dissection during the same operation in all patients. Results: Of the 30 patients (mean age, 58.2 ± 11.3 years), the rate of detection of SLN was 27/30 (90%) by the combination of blue dye and the magnetic tracer.

Seven cases had metastases to the SLN. There was one false negative, resulting in a sensitivity of 6/7 (85.7%) and an accuracy of 26/27 (96.2%). SLN were successfully identified by the magnetic method in 23/30 (76.7%). Conclusions: This is the first study to evaluate the use of a magnetic tracer to identify SLN in patients with breast cancer, and demonstrates that the technique is safe and effective. In some institutions, this new technique may alter the role of RI with further refinement and experience.

急性骨髄性白血病に対する化学療法直前の高感度CRPによる好中球減少中の感染症イベント予測

自治医科大学総合医学第一講座（血液科）

大島 久美

【目的】

発熱性好中球減少症（FN）時のCRP値がFNの原因検索や予後予測に有用であるとの報告があること、CRPの高感度定量が可能となりその予測能の向上が期待されていることから、急性骨髄性白血病（AML）患者で、治療開始前の高感度CRP値測定によって、その後の発熱や感染症の合併を予測できるか否かを検討した。

【方法】

自治医科大学附属さいたま医療センターにおいて、2003年10月から2008年1月までに初発寛解導入療法または、初回地固め療法を行ったAML患者のうち好中球減少（ $\leq 500/\mu\text{l}$ ）期間が1週間以上持続した患者75例〔男性49例、女性27例、年齢中央値53歳（16歳～78歳）〕、うち初発寛解導入療法施行患者38例と初回地固め療法を行った37例を対象とした。化学療法開始前より発熱や感染症合併、および治療として抗菌薬が投与されていた患者は除外した。化学療法施行直前に測定した高感度CRP値（ラテックス免疫比濁法）と、その後の好中球減少期間における①FN（好中球 $\leq 500/\mu\text{l}$ での腋下体温 $\geq 37.5^\circ\text{C}$ の発熱）、②臨床的に診断された感染

症（DI）、③血流感染症（BSI）の有無を評価した。ROC曲線を用いてCRP値の適切な閾値と各イベント発生に対する感度、特異度、陽性適中率（PPV）、陰性適中率（NPV）を検討した。

【結果】

寛解導入時ROC曲線のAUCは0.48であったが、地固め療法時には0.77であり、感度0.64、特異度0.82、PPV0.89、NPV0.50であった（閾値0.19）。多変量解析では地固め療法前のCRP値0.20 mg/dl以上がFN発症の独立した予測因子と判明した（閾値0.2）。

【考察】

初回地固め療法では、化学療法直前の高感度CRPによってFNの予測が可能であり、高危険群では嚴重管理の必要性が示唆された。さらに、低危険群では予防抗菌薬を見直すことも可能かもしれない。