

課題番号 : 26指120

研究課題名 : 疾病の治療方法、保健医療のEBMに資する研究13

「NCGMのグローバル医療を達成するための熱帯皮膚病領域におけるTeledermatology構築に関する研究」

主任研究者名 : 日ノ下 文彦

分担研究者名 : 四津 里英

キーワード : 皮膚遠隔診療、皮膚感染症、グローバル化、開発途上国、国際協力

研究成果 :

目的 :

1. 国立国際医療研究センター病院(NCGM)・渡航者外来を受診し、皮膚症状を有する患者の診断、転帰、その他の状況等の実態把握を行う。
2. スマートフォン撮影画像、デジタルカメラ撮影画像、対面診療(face-to-face)による熱帯皮膚病の診断率の比較検討を行う。
3. 当センター・渡航者外来を受診し、皮膚症状を有する患者での store and forward (SAF) 法を用いた遠隔画像診断(teledermatology)システムを構築する。
4. 西アフリカ・コートジボワールでの学童皮膚検診(主任研究者と現地保健省・NGO共同プロジェクト)と当センターを3で構築した遠隔診療で結び、その有用性を検証する。

※ 1~3を「研究1」、4を「研究2」と位置づける。

研究1 NCGM: DCC-皮膚科間 Teledermatology

成果 : 2014年度の準備期間(倫理審査、DCC-皮膚科間協力関係構築等)を経て、2015年3月1日よりDCC(渡航者外来)における患者登録を開始した。2015年度末までに、計19名の登録を終了している。患者の内訳は、男:女=15:4、平均年齢は36.5歳であった。日本人は10名、外国人9名とほぼ半々であった。12名(63%)に、過去3ヶ月以内の渡航歴があった。入院患者は、5名(26%)であった。皮膚科兼診があった患者のうち皮膚生検を実施した者は、17名中2名(12%)であった。疾患は、湿疹性病変6名、梅毒3名、非特異的ウイルス感染症2名、アフリカ紅斑熱1名、デング熱1名、蜂窩織炎1名、皮膚潰瘍1名、リンパ浮腫1名、移動性関節炎1名、猿咬症1名、膿痂疹1名であった。

デジタルカメラとスマートフォンで撮影した写真は、いずれもクオリティーが高く、問診から得られる情報(現病歴、既往歴、渡航歴など)と併せある程度まで診断が可能であったが、系統だった解析については、症例の蓄積を待ち、次年度以降実施予定である。今後、写真のクオリティー評価の定量化も必要である。

研究2 NCGM-コートジボワール間 Teledermatology

成果 : 2015年11月16~2016年1月15日に、コートジボワールのAdzopé地域において学童皮膚検診を実施した。16村50校の6~12歳の児童計13,019名を地域看護師 village nurseが皮膚症状の有無についてスクリーニングし、3,504名(27%)が陽性だった。皮膚科医と検査技師で成る調査チームは、このうち7村18校を訪問し、陽性リストにあがった児童986名の確定診断を行った(1,429名がリストにあがっていたが、443名は不在)。この調査時に診察した全児童の皮膚症状を、スマートフォンを用いて写真撮影を実施した。データは、現在解析中である。



研究 1

目的：

1. 国立国際医療研究センター病院(NCGM)・渡航者外来を受診し、皮膚症状を有する患者の診断、転帰、その他の状況等の実態把握を行う。
2. スマートフォン撮影画像、デジタルカメラ撮影画像、対面診療(face-to-face)による熱帯皮膚病の診断率の比較検討を行う。
3. 当センター・渡航者外来を受診し、皮膚症状を有する患者でのstore and forward (SAF) 法を用いた遠隔画像診断(teledermatology)システムを構築する。

成果：

2014年度

- 9月に倫理委員会承認取得
- DCC-皮膚科間協力関係構築
- 3月より患者登録・データ収集開始

2015年度

- 19例の症例登録
- 男：女=15:4, 平均年齢 36.5歳、日本人：外国人=10:9, 12名に過去3ヶ月以内の渡航歴あり、入院患者5名(26%)
- 湿疹性病変6名、梅毒3名、非特異的ウイルス感染症2名、アフリカ紅斑熱1名、デング熱1名、蜂窩織炎1名、皮膚潰瘍1名、リンパ浮腫1名、移動性関節炎1名、猿咬症 1名、膿痂疹 1名



研究 2

目的：西アフリカ・コートジボワールでの学童皮膚検診（主任研究者と現地保健省・NGO共同プロジェクト）と当センターを3で構築した遠隔診療で結び、その有用性を検証する。

成果：

2014年度

- 5月- 研究協力体制整備、事前フィールド調査
- 9月- NCGM、コートジボワール保健省倫理委員会承認取得
- 11月- 日本国際保健医療学会にて研究成果発表



調査チーム

2015年度

- 6月- 23rd World Congress of Dermatology (Canada)にて発表
- 7月- 学童皮膚検診準備のためフィールド入り
- 11月- 日本国際保健医療学会にて研究成果発表
- 11月-1月- Adzopé地域にて学童皮膚検診実施
 - ✓ 計13,019名の児童を地域看護師によりスクリーニングし、3,504名が陽性
 - ✓ このうち986名の児童を皮膚科医＋検査技師の調査チームにより診断確定
 - ✓ スマートフォンでの写真撮影
- 3月- American Academy of Dermatology Annual Meeting (USA)にて発表

課題番号 : 26指120

研究課題名 :

Dual Energy 法による実効原子番号イメージングの基盤構築
「脂肪を含む生体疾患における組成弁別の定量化」

主任研究者名 : 日ノ下 文彦

分担研究者名 : 新井 知大

キーワード : computed tomography, dual energy, quality assurance, fatty liver, fat density, material, decomposition

研究成果 :

本研究は独立行政法人 産業技術総合研究所 と共同研究契約を締結し、継続中である、

本研究では Dual Energy CT により肝臓内脂肪密度を推定した。豚の肝臓と脂肪を真空下で攪拌する事により気泡の混入を抑制した均一試料を作成し、それぞれの質量減弱係数を算出した。これらを基準物質対とし Material Decomposition 解析を行う事で算出される肝臓内脂肪密度の測定値は参照値の準等価値として評価する事が可能となった。脂肪肝と診断される CT 画像に対し、新たに「肝臓内脂肪密度」といった指標を追加することで、外科的侵襲性の無い脂肪肝の進行度診断の補助となることが示唆された。いずれの測定結果についても、メーカーから提供される性能仕様書に記載がないことから、使用者がこれを有する事で装置固有の性能評価となり検査の信頼性も増す事になる

現在は、昨年度行われた臨床結果の解析と論文文化に向け準備を進めている。

学会発表実績

[1]. Quantification of Intrahepatic Fat Density with Dual Energy CT Imaging —Phantom Verification Regarding Precision Assurance—, ECR 2015: European Congress of Radiology

[2]. Optimal basis-materials for material decomposition with dual energy CT, ECR 2016: European Congress of Radiology

現在、下記の論文について国際ジャーナルで査読対応中です。

Title: Accuracy Analysis of Intrahepatic Fat Density Measurement with Dual-Energy Computed Tomography: Validation using a Test Phantom

Journal name: *Medicine* (<http://journals.lww.com/md-journal/Pages/default.aspx>)

課題番号 : 26指120

研究課題名 : 日米の大規模データを用いた糖尿病等生活習慣病の実態と治療内容の推移に関する研究

主任研究者名 : 日ノ下文彦

分担研究者名 : 杉山雄大

キーワード : 糖尿病、政策研究、二次データ解析

研究成果 :

- 米国の小児肥満に関する認識の推移についての研究・・・1999-2012年のNHANESを用いた反復横断研究である。米国では2007年に小児肥満の用語に変更があった(成長曲線から性ごとのBMI for Ageの85%tile - 95%tile・・・at risk of overweightからoverweightへ、95%tile以上・・・overweightからobesityへ)。この変更は、肥満を明確に指し示す言葉を使用することで、小児や保護者に肥満であることの認識を強くもってほしいという意図によって行われたものである。しかし、今回の研究結果により、この時期の肥満の子どもやその保護者による、その子どもの肥満に関する認識は上昇していないことが判明し、認識させるための別の対策が必要であろうと考察した。この内容はAcademyHealth Annual Research Meeting (2015年6月)にポスター発表し、現在論文投稿中である。
- 学歴ごとのコレステロールの測定の有無の経年変化に関する研究・・・先行研究では、1999-2002年のNHANESにおいて、コレステロールを今まで測定したことのある割合が学歴によって差がある(学歴が低い方が測定した割合が低い)という結果だったが、これが2012年までの間に変化があるかどうかを調べた。結果、高卒未満の学歴の人で有意な上昇を認めたが、各群(高卒未満、高卒、高卒より上)の間の差は縮まらなかった。この結果は、木下乙女看護師(14階病棟)がAHA Epidemiology & Lifestyle(2015年3月)でポスター発表した。本内容は論文投稿の準備中である。
- 国民健康・栄養調査に関しては、2014年度内にクリーニングしたデータを用いて解析を行い、2015年11月に、日本公衆衛生学会で発表した(コレステロールを下げる薬の内服有無によって、食事量の変化に違いがあるか?)。これは、NHANESを用いて杉山がかつておこなった先行研究と比較するために行ったものである。こちらに関しても論文発表予定である。
- 研究手法の勉強のため、NHANESを用いた研究に興味のある若手研究者を募り、勉強会を2015年度は計5回開催した。辻本哲郎医師(糖尿病内分泌代謝科)は、糖尿病患者における味覚異常と大血管障害の関係など、数件の研究を行っており、現在論文投稿中である。研究協力者の井上浩輔医師(横浜労災病院、当センター臨床研修修了者)は、正常範囲における甲状腺機能の違いと生命予後に関する研究をNHANESを用いて行い、International Thyroid Congress (2015年11月)にて発表を行い、現在論文投稿中である。

課題番号 : 26指120

研究課題名 : 多剤耐性菌感染症の包括的疫学及び有効な感染対策の評価に関する研究
～変化する患者構造と耐性菌との関連についての検討

主任研究者名 : 日ノ下文彦

分担研究者名 : 早川佳代子

キーワード : 院内感染対策、高齢患者、新規高度耐性菌

研究成果 :

本研究は以下の3つのパートについて検討を行うことを目的としており、それぞれについての研究成果を概説する。

① 多剤耐性菌による院内感染の疫学及び有効な感染対策について

院内感染の原因菌として頻度の高いMRSA(メチシリン耐性黄色ブドウ球菌)感染症を対象に、2011/3～2013/12に行われた各種院内感染対策とMRSA感染症の発生頻度についての検討を行った。試験期間中のMRSA感染症平均発症頻度は0.14/1,000 patient-days、MRSA菌血症平均発症頻度は0.036/1,000 patient-daysであり、当院の黄色ブドウ球菌のうち、46%がMRSAであった。医療・看護ケア度が高い患者の喀痰から検出される傾向が強く、手指衛生や病棟リンクナースシステムを用いた感染管理が有効に働いていることが判明した。研究結果に関しては2014年度のSHEA(米国医療疫学学会)にて発表を行った。

院内感染で問題となる基質特異性拡張型βラクタマーゼ産生菌(ESBL)、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は近年、市中への拡散が指摘されている。これらの菌の市中からの流入の推移、院内での検出が大半である*C. difficile*との比較について検討を行った(2011/4～2013/12)。MRSAの検出率は0.37/0.59(市中/院内、1000在院患者総日数あたり)(2011)、0.21/0.51(2012)、0.20/0.42(2013)と減少傾向にて推移した。ESBLの検出率は0.12/0.23(2011)、0.23/0.30(2012)、0.19/0.31(2013)であった。*C. difficile*の検出率は0.05/0.36(2011)、0.07/0.77(2012)、0.03/0.68(2013)であった。市中ESBLのうち、大腸菌の占める割合は65%(2011)、81%(2012)、90%(2013)と著明に上昇していた。菌種ごとに検出頻度の推移には異なる傾向が認められた。ESBLの増加の背景には、市中型ESBL産生性大腸菌の関与が考えられた。院内の多剤耐性菌検出率の解釈については、院外の疫学的状況にも留意が必要であると考えられた。研究結果に関しては2015年度の環境感染学会にて発表を行った。

市中型ESBL産生性大腸菌の増加と院内感染対策に与える影響について調べ、2015年度の米国感染症学会にて発表を行った。当院で検出されるESBL産生大腸菌の26%は市中由来であることが判明し、その分子学的解析についても施行した。論文化を行い、現在査読中である。

多剤耐性菌による院内発症による血流感染症の原因としては、本邦でもカテーテル関連血流感染症が多くを占める。米国感染症学会より刊行されていたカテーテル関連血流感染症の診断と治療に関するガイドラインを日本語に翻訳し、米国感染症学会の公式ウェブサイト日本語バージョンとして掲載されることで、より広い国内での使用を可能にした。

② 高齢患者における耐性菌感染症の疫学的検討

重症感染症に焦点を絞るため、耐性菌感染頻度も含め血液培養陽性例の高齢者と非高齢者の比較を行った。2012/4-2014/9の1832例の菌血症症例を解析した結果、高齢者は70%を占め、医療関連菌血症は高齢者により多かった。耐性菌(MRSAやESBL)の頻度は年齢群による変化はなかった。しかし、菌血症の起原因菌は年齢群により異なっており、高齢者には大腸菌や腸球菌による菌血症が多かった。菌血症の原因として、非高齢者ではカテーテル関連菌血症、高齢者では尿路感染症が多かった。また、高齢者では菌血症罹患後の死亡率が高い傾向にあった。研究結果に関しては2015年度のECCMID(ヨーロッパ臨床微生物学感染症学)にて発表を行った。論文化予定である。

③ 新規の高度耐性菌の分子学的解析及び臨床疫学的特徴及び危険因子の同定

新規の高度耐性菌が検出される頻度の高い、海外にて入院加療歴のある患者における耐性菌分離頻度を検討した(2012/1～2016/2)。23例の海外にて入院加療歴のある患者のうち、13例(56.5%)にて多剤耐性菌が検出された。中には、日本国内での検出が極めて稀である高度耐性菌も含まれていた(OXA-48型カルバペネマーゼ産生菌、XDR-アシネトバクター菌、vanA型バンコマイシン耐性腸球菌など)。このため、感染管理上、保菌のスクリーニング結果がでるまでは、感染対策(隔離、接触感染対策)が望ましいことが判明した。海外からの帰国者における多剤耐性菌検出の危険因子としては、渡航地域(中東、ヨーロッパ、アジア)、デバイスの使用、渡航先でのICUへの入室や侵襲的医療処置、複数種類の抗菌薬曝露が挙げられた。現在国内には、海外にて入院加療歴のある患者に対する感染対策に関するガイドラインのない状況であり、本研究結果に関しては今後エビデンスとして示せるよう論文化を行い、現在査読の結果を受けて修正中である。

また、マレーシア渡航歴のマクロライド及びフルオロキノロン耐性 *Campylobacter jejuni* による旅行者下痢症の一例に関し、2014年度の日本感染症学会東日本地方会学術集会にて発表を行った。

<学会発表>

“Epidemiology and trends in MRSA infections at a large tertiary hospital in Japan: The importance of a ward-based continuous infection control effort.” Presented as poster at SHEA Spring 2014 Conference, Denver, April, 2014.

“Comparison of the epidemiological characteristics and outcomes of bacteremia among younger adults, old and very old adults in Japan.” Presented as a poster presentation at European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Copenhagen, Denmark, April, 2015.

“Molecular and clinical epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase producing (ESBL) *Escherichia coli* in Japan: Characteristics of community-associated ESBL *E. coli* as compared to healthcare-associated ESBL *E. coli*.” Presented as a poster presentation at ID week, San Diego, Oct, 2015.

第63回日本感染症学会東日本地方会学術集会(2014年10月)マクロライド及びフルオロキノロン耐性 *Campylobacter jejuni* による旅行者下痢症の一例

第30回日本環境感染学会総会・学術集会(2015年2月)
多剤耐性菌及び *C. difficile* の検出頻度の推移に関する疫学的検討

<論文>

High rate of multidrug-resistant organism colonization among patients hospitalized overseas highlights the need for preemptive infection control (under review)

Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* in Japan: Characteristics of community-associated versus healthcare-associated ESBL *E. coli* (under review)

<その他の出版物>

日本語訳、血管内カテーテル関連感染症の診断と治療に関する実践的臨床ガイドライン、米国感染症学会による2009年改訂版(2014)

課題番号 : 26 指 120

研究課題名 : ST 上昇型急性心筋梗塞患者への経皮的冠動脈形成術施行時における
水素混合ガス吸入の有効性の検討

主任研究者名 : 日ノ下 文彦

分担研究者名 : 池田 長生

キーワード : ST 上昇型心筋梗塞

水素混合ガス

再灌流障害

研究成果 : 心筋梗塞後の左室収縮機能低下を予防するために現在介入できる点は、虚血再灌流障害を抑制して梗塞サイズの最小化を図ることにある。再灌流障害の原因に活性酸素の関与があげられており、動物実験では、ラジカルスキャベンジャーとして働く水素混合ガスの吸入によって、心筋虚血再灌流障害を軽減できることが証明された。本研究の目的はヒトにおいても同様の効果があることを証明することであった。またその安全性についても検討を行う予定であった。

2015年12月31日現在までに計47例が水素混合ガスの投与を受けたが、うち6例がフォローアップ不能（遠方への転居、同意撤回など）・データ不十分 などであった。目標症例数50に達していないため、どの患者が実薬投与群か否かは現時点では明らかなされていない。

しかし、①血管の閉塞部位から予測される心筋障害量（peak CK など）と実際の数値に明らかな乖離がある症例（これまでの経験からは予測し難いほど心筋障害が小さい） ②通常は生存退院が困難と予想される心筋障害量にもかかわらず、合併症無く独歩退院していった症例などが見受けられている。これらが水素混合ガス吸入群であった可能性がある。

目標症例数に向けて症例登録中であった。

分担研究者が異動するため、**国際医療研究開発費**を使用しての研究継続はできないため中止とさせていただいた。ただし、同研究は**国際医療研究開発費**を受けない形で循環器内科で継続を予定している。

課題番号 : 26指120
研究課題名 : 日本の病院における血液培養サーベイランス研究
主任研究者名 : 日ノ下 文彦
分担研究者名 : 竹下 望

キーワード : 菌血症、血液培養、サーベイランス

研究成果 : 菌血症は死亡や、予後不良である合併症につながる感染症であり、診断に血液培養というゴールドスタンダードがある。本研究では、病原体微生物情報に加え、患者の医療情報や基礎疾患などの背景情報、菌血症の種類と予後による情報を国内の複数医療機関から収集することで、国内の菌血症のレジストリーを作成することを目標としている。第一目標として、菌血症をきたした患者の背景および、カテーテル感染などの頻度と予後についての評価を行った。第1期として、国立国際医療研究センター、亀田総合病院、虎ノ門病院、東京女子医科大学病院、静岡県立静岡がんセンターの5施設から集計を行った。その中で、2012年10月から2013年9月までの12ヶ月に血液培養が陽性となった全3284症例における血液培養の症例について解析を行った。菌血症の背景としては、支柱における医療関連菌血症（CHA-BSIs）が550例、入院中の医療関連菌血症（HA-BSIs）が1892例、医療関連感染のリスクがない市中感染（CA-BSIs）が764例であった。主な病原体は、*coagulase-negative Staphylococcus* sp. (754, 23.0%)、*Escherichia coli* (598, 18.2%)、*S. aureus* (300, 9.1%)であった。195例(5.9%: 38 CHA-BSIs/ 136 HA-BSIs/ 21 CA-BSIs)が血液培養採取から7日以内で死亡し、469例(14.3%: 75/350/44)が30日以内に死亡した。さらに、499例(15.2%: 36/463/0)が中心静脈カテーテル関連感染症であり、163例(5.0%: 4/157/2)が末梢ライン関連感染症であった。入院中の医療関連感染において、死亡、カテーテル関連感染などのリスクが高いことが示された。患者背景を、CA-BSIs、CHA-BSIs、HA-BSIsの3郡で比較を行うと、CA-BSIsが有意に少ないものは慢性腎機能障害のみであった。また、市中感染における2郡間（CA-BSIsとCHA-BSIs）では、違いがなかったものの、HA-BSIsと比較すると白血病/リンパ腫、ステロイド使用者において有意差を認めた。固形癌を基礎疾患とする場合は、3郡それぞれで有意差を認め、CHA-BSIsで頻度が最も多かった。また、中心静脈カテーテル留置、末梢静脈ライン留置はいずれも、3郡間でそれぞれ有意差も認め、HA-BSIsが最も頻度が高い傾向を認めた。菌種別の死亡率では、全体の最多死亡原因菌種は *coagulase-negative Staphylococcus* sp. (754, 23.0%)であり、*Escherichia coli* (598, 18.2%)、*S. aureus* (300, 9.1%)であった。7日間死亡率では、肺炎球菌がCA-BSIsでは6.9%で、同じ市中感染でも、CHA-BSIsでは28.6%であった。またE. coli、K. pneumoniaはCHA-BSIsでE. coli (5.0%)、K. pneumonia (12.0%) CA-BSIsでE. coli (1.5%) K. pneumonia (5.7%)より高いものの、HA-BSIsとの比較ではE. coli (7.4%)、K. pneumonia (8.8%)と大きな違いはなかった。一方、*P. aeruginosa* (8.8%)、*Stenotrophomonas maltophilia* (40.3%)、*Candida* sp. (8.3%)のようにHA-BSIsのみで死亡している菌種も認めた。

菌血症のサーベイランスデータとして、患者背景、菌種によって、死亡率やカテーテル感染発生数などの検知を調査できることが示された。本データベースで、単独施設における解析には実用的であり、すでいくつかの研究へと派生しているが、病院間のデータベースとしても運用できるように、現在改訂を行っており、昨年は感受性の情報を収集するべく入力フォームを変更した。多施設との連携を開始すべく、調整を行っていく必要がある。

日本の病院における菌血症
サーベイランス研究
(多施設共同研究)

国立国際医療研究センター
国際感染症センター
竹下望

日本の病院における菌血症
サーベイランス研究
(多施設共同研究)

菌血症は死亡、予後不良である合併症につながる疾患
診断に血液培養というゴールドスタンダードがある

病原微生物情報



患者の医療背景(市中感染、医療関連感染)
患者の基礎疾患(免疫不全、基礎疾患、化学療法)
菌血症の分類(カテーテル感染(中心・末梢)、菌血症)
予後

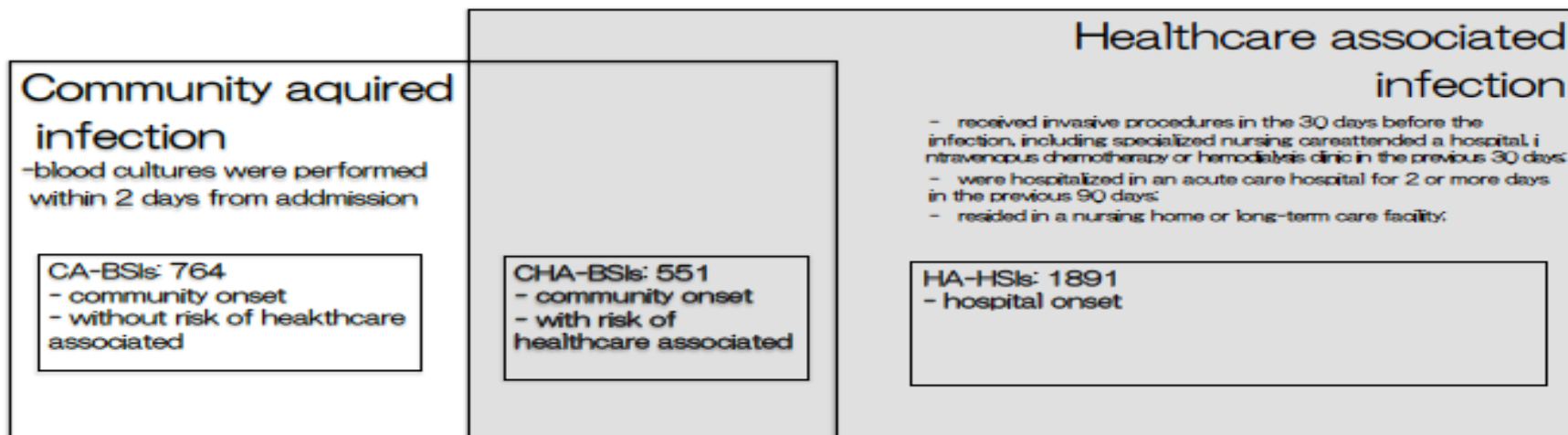
医療背景・基礎疾患ごとの起炎菌分布
カテーテル感染における起炎菌分布

菌血症のなかの患者のリスク因子解析
菌血症におけるカテーテル感染の頻度

(将来性)

菌血症のデータベースとしての運用
(特定グループ、特定菌種などへ規模を揃えることが可能)
病院における感染対策への質的評価指標へ
(継続的ベースラインサーベイランス)
診療ガイドラインへの反映
国外の疫学情報とも比較が可能

Figure 1 Definon of BSIs groups



※exclude 78 cases which we can not analyze risk of healthcre assoiated infection.

	CA-BSIs		CHA-BSIs			HA-BSIs		CHA-BSIs				
	n	n	VS CA-BSIs			n	VS CA-BSIs			VS CHA-BSIs		
			odds ratio	95% CI			odds ratio	95% CI		odds ratio	95% CI	
Central venous catheter infection	0	37				462						
Peripheral catheter line infection	2	4	2.786	0.509	15.266	157	34.5	8.53	139.517	12.382	4.568	33.558
contamination	187	76	0.494	0.368	0.662	249	0.468	0.379	0.578	0.948	0.719	1.25
bacteremi without CLABSI and												
contamination	561	425	1.22	0.952	1.589	957	0.371	0.308	0.446	0.304	0.244	0.378
7-days mortality	21	38	2.551	1.479	4.399	136	2.627	1.645	4.193	1.03	0.709	1.496
30-days mortality	44	75	2.403	1.624	3.557	350	3.311	2.387	4.594	1.378	1.05	1.808

Table 2. Prevalence of CLABSI and mortality

課題番号 : 26指120
研究課題名 : 食道扁平上皮癌ハイリスク粘膜の遺伝子解析研究
主任研究者名 : 日ノ下文彦
分担研究者名 : 矢田智之

キーワード : 食道扁平上皮癌、まだら食道、遺伝子解析
研究成果 :

本研究では、食道扁平上皮癌組織だけでなく、非癌組織である『非まだら食道』および『まだら食道』の背景食道粘膜を含めた3群間で遺伝子変異解析を行い、食道扁平上皮癌の病態進行に関わる体細胞変異を探索的に比較することを目的とする。

臨床検体は、飲酒・喫煙習慣があり食道扁平上皮癌のリスクが高いと考えられる患者(対象 a)から前向きに採取した食道生検組織、及び過去に NCGM で食道扁平上皮癌に対し切除術が施行された患者(対象 b)の保存されている FFPE 検体を用いる。対象 b)は FFPE 検体から薄切切片を作成し、laser captured microdissection にて癌組織を回収する。これらの試料からゲノム DNA を抽出し、TruSeq Amplicon - Cancer Panel を用い、ターゲットシーケンスを行う。

進捗状況は以下の通りである。

1) 検体収集

平成 28 年 3 月までに、対象 a): 186 例(まだら群: 45 例、非まだら群: 141 例)、対象 b): 65 例の登録を行っているが、目標症例数に達していない状況である。登録数が伸びていないので、各部署へアナウンスしながら更に症例の獲得に努力し、登録を継続していく予定である。なお、現在まで、脱落例・中止例は認めていない。

2) 食道生検組織からの DNA 抽出

平成 28 年 3 月までに 25 検体の DNA 抽出を行っている。いずれも解析に十分な濃度および純度の DNA が得られており、引き続き DNA 抽出を継続していく予定である。

3) FFPE 検体からの組織回収・DNA 抽出

平成 28 年 3 月までに 3 検体からの組織回収・DNA 抽出を行っている。FFPE 検体からの薄切作業に時間を要しているため未だ検体数が少ないが、いずれも解析に十分な濃度および純度の DNA が得られている。引き続き組織回収・DNA 抽出を継続していく予定である。

4) 遺伝子解析

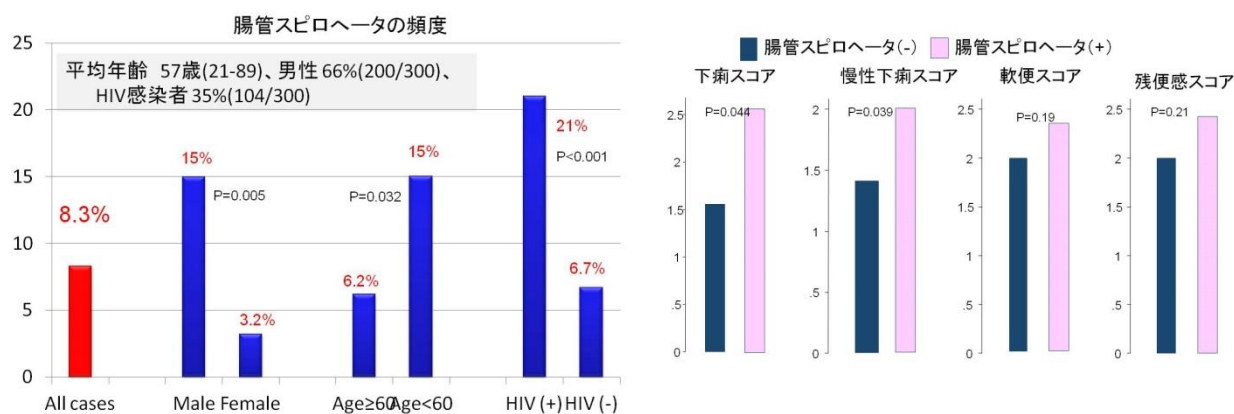
使用するパネルは 96 サンプル/パネルで解析可能な仕様となっている。DNA 抽出が 96 サンプル分終了した時点で 1 回目の解析を行う予定であるが、未だ行えておらず、今年度の早めの段階で実施を検討している。

課題番号 : 26指 120
 研究課題名 : 未知の部分が多い腸管スピロヘータ症の臨床像の解明
 主任研究者名 : 日ノ下 文彦
 分担研究者名 : 永田 尚義
 キーワード : 腸管スピロヘータ、過敏性腸症候群、治療、メトロニダゾール
 研究成果 :

【背景】 腸管スピロヘータ症は、*Brachyspira aalborgi* と *Brachyspira pilosicoli* による人畜共通感染症である。本疾患は、大腸粘膜表層に感染するため下痢、腹痛、腹部違和感などの症状を引き起こすことが多く、原因不明の慢性下痢症の鑑別の一つに挙げられる重要な疾患である。適切な除菌を行えばこれら症状が著明に改善する例が報告されており、臨床医は知っておかなければならない消化管感染症の一つである。本研究では、未だ未知の部分が多い腸管スピロヘータの臨床像を明らかにするものである。具体的には、1. 発生頻度、リスク因子、2. 大腸症状との関連、3. 菌種による臨床像の違い、4. 治療、再発、を明らかにする。

【方法】 (計画1) 過去4年間の内視鏡データベースから組織採取を含む大腸内視鏡検査受診者のうち、詳細な患者背景(薬剤、生活習慣、HIV感染の有無など)と大腸症状スコアを聴取可能であった600例のデータを後ろ向きに見直し、腸管スピロヘータと臨床像との関連を検討するものである。(計画2)は、腸管スピロヘータの前向きコホート研究である。治療効果、再発を明らかにするもので、メトロニダゾールの内服1500mg×10日間の治療後の症状改善、病理での病原体消失、その後の再発を検討するものである。

【結果】 (計画1) 生検検体から、腸管スピロヘータ診断のため、特殊染色(*T. pallidum*抗体)を600例に行った。そのうち、480例の病理読影診断を行った。腸管スピロヘータの頻度、HIV感染の有無による違い、腸管スピロヘータと関連する消化管症状を昨年度と同様に解析を行った。平均年齢57歳、HIV感染者を約3割含む対象者の腸管スピロヘータの頻度は8.3%であった。男性、60歳以下、HIV感染者で有意に腸管水路ヘータの頻度は高い結果であった(図左)。腸管スピロヘータの有無での症状の比較では、腸管スピロヘータ患者が下痢症状スコアが有意に高い結果であった(図右)。



(計画2) 2年間で約33例の新規症例が登録された。33例中30例でメトロニダゾール内服治療がおこなわれた。メトロニダゾール治療前後で大腸内視鏡を行い、組織病理像が確認できた17例のうち17例(100%)で大腸粘膜のスピロヘータが消失した。33例中、下痢、軟便などの慢性下痢症状を呈していたものは20例に認めたが、メトロニダゾールの治療で20例中17例(85%)で症状の改善または消失を認めた。メトロニダゾール1500mg×10日間の治療で副作用を認めたものはいなかった。観察期間が短い、再発を認めたものはいない。

【結果のまとめ】 予定症例数の80%の解析が終了し、生検検体組織480例から腸管スピロヘータ症は8%に認めた。腸管スピロヘータのリスクは、若年、男性、HIV感染者であった。大腸症状のなかでも下痢症状が腸管スピロヘータの症状に特徴と分かった。腸管スピロヘータ症の治療に関してはこれまで知見が極めて乏しかったが、本研究によりメトロニダゾールでの有用性を初めて検証できた。

課題番号 : 26指 120

研究課題名 : 発がん性ヒトパピローマウイルスと消化管腫瘍

主任研究者名 : 日ノ下 文彦

分担研究者名 : 渡辺 一弘

キーワード : ヒトパピローマウイルス、HPV16/18、肛門管コンジローマ、肛門管癌、性行為感染症

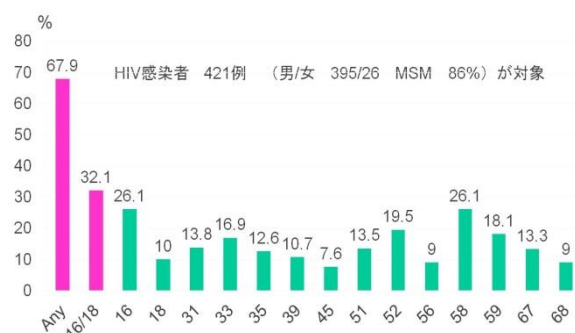
研究成果 :

[背景] ヒトパピローマウイルス (以下 HPV) はヒトに感染する DNA ウイルスで、ゲノムのタイプから特定の HPV 型は癌発生に関与しており、発癌性 HPV と呼ばれる。欧米の報告では、発癌性 HPV は咽頭癌や肛門管癌の発生に密接に関与していることが明らかとなっている。また、発癌性 HPV は性行為により感染すると考えられ、HPV 関連癌のハイリスクグループは HIV 感染者であることが分かっている。しかし、わが国における発癌性 HPV の頻度は不明であり、感染から発癌の病態はよく分かっていない。

[目的] 本研究では発癌性 HPV 感染のハイリスクである HIV 感染者を対象に、以下の目的を明らかにする。1) 消化管の発癌性 HPV の感染率を明らかにする。とくに感染曝露が高く、HPV 関連癌の好発部位である咽頭および肛門管の感染率を検討する。さらに、感染リスクを明らかにする。2) 前癌病変における、発癌性 HPV の感染率、癌抑制遺伝子 (p53 と pRb) 発現率を明らかにする。

[方法] 本年度は、計画 1 を重点的に行った。咽頭および肛門管の粘膜を専用のブラシを用いてぬぐい、PCR 法にて発癌性 HPV の 14 個の遺伝子型判定を行い、消化管粘膜における発癌性 HPV 感染率を検討する。さらに、発癌性 HPV 感染のリスク因子を解明するものである。(計画 2) は、内視鏡的に採取された咽頭 intraepithelial neoplasia、肛門 condyloma における発癌性 HPV 感染および遺伝子変異発現を調べるものであるが、症例数不足と組織量が足りないことが判明したため行っていない。

[結果] (計画 1) 肛門における発癌性 HPV 感染率は 67.9% と分かった (図左)。そのうち、2 価ワクチンのターゲットである HPV16 または 18 陽性の患者はそれぞれ 26%、11% であった (図左)。16 型、18 型のいずれかを認めたものは 32% であった。咽頭粘膜は 51 例で同意が得られ、発癌性 HPV 感染は 1 例 (1.9%) と分かった。一方、肛門における発がん性 HPV 感染のリスク因子は、多変量解析にて若年、男性間性交渉者 (MSM)、CD4<100、性行為感染症の既往 (または存在) 2 つ以上 が発癌性 HPV 感染のリスクとわかった (図右)。



Variables	Crude OR (95% CI)	P value	Adjusted OR (95% CI)	P value
Age (years)	0.97 (0.95-0.98)	<0.001	0.98 (0.96-0.99)	0.024
Male sex	10.35 (3.81-28.12)	<0.001	1.23 (0.33-4.66)	0.759
Alcohol consumption, none	1 (reference)			
Light (1-50 g/week)	0.92 (0.55-1.54)			
Moderate (>30 g/week)	0.79 (0.49-1.29)	0.645		
Smoking index [†] , never smoker	1 (reference)			
1-500	1.74 (1.03-2.91)			
>500	1.06 (0.66-1.72)	0.086		
Hypertension	0.65 (0.36-1.16)	0.146		
Diabetes mellitus	0.57 (0.26-1.25)	0.159		
Dyslipidemia	0.71 (0.32-1.57)	0.399		
Chronic kidney disease	0.94 (0.23-3.83)	0.934		
Chronic liver disease	0.94 (0.58-1.53)	0.800		
Corticosteroid use	2.60 (0.87-7.72)	0.086		
Route of HIV infection, MSM	12.60 (6.40-24.79)	<0.001	5.85 (2.33-14.71)	<0.001
CD4 < 100 (cells/μL)	3.38 (1.72-6.64)	<0.001	2.24 (1.00-5.01)	0.049
HIV VL > 50,000 (copies/mL)	2.31 (1.26-4.22)	0.007	1.21 (0.50-2.96)	0.675
Administration of HAART	0.55 (0.33-0.91)	0.021	1.21 (0.59-2.49)	0.609
Number of STIs ≥ 2	4.65 (3.00-7.21)	<0.001	2.81 (1.72-4.61)	<0.001

[初年度の結果のまとめと考察] HIV 感染者の肛門管における発癌性 HPV 感染率は 68% と極めて高率であると分かった。今後、肛門管癌リスクを考慮したスクリーニング体制の確立が日本でも必要である。とくに、発癌性 HPV 感染のリスクである男性間性交渉者、免疫機能低下者、性行為感染の既往が多い者は肛門管癌ハイリスクグループとして慎重かつ重点的なスクリーニングが推奨されると考える。一方、2 価ワクチンが有効とされる HPV は HIV 感染者の 1/3 に認められ、ワクチンによる肛門管癌発生抑制効果が期待されることが示唆された。一方、咽頭粘膜の発癌性 HPV は感染率が極めて低いことも分かった。

課題番号 : 26指120
研究課題名 : 細胞診検体での免疫染色およびin situ hybridization - さらなる臨床応用を目指した研究
主任研究者名 : 日ノ下文彦
分担研究者名 : 飯塚利彦

キーワード : 肺腺癌, EGFR

研究成果 :

EGFR 遺伝子変異の有無が既に判明している肺腺癌 28 例の FFPE 標本およびスタンプ標本を抗変異 EGFR 抗体を用いて染色した。抗体は抗 Ex19 deletion EGFR 抗体として D6B6 を用い、抗 L858R EGFR 抗体として 43B2 を用いた。結果は D6B6 は FFPE 標本では感度 33%、特異度 96%であり、スタンプ標本では感度 33%、特異度 100%であった。43B2 は FFPE 標本では感度 45%、特異度 100%であり、スタンプ標本では感度 70%、特異度 47%であった。以上の結果は実際の臨床検査として用いるには感度、特異度共に問題があり、染色条件等についてのさらなる検討が必要であると考えられた。