

学位の種類	博 士	氏 名	石川裕司
学 位 論 文 題 目			
<p>Serological monitoring of progression of alveolar echinococcosis with multi-organ involvement using recombinant Em18</p> <p>(組換えEm18を用いた多臓器併発多包虫症の進行に対する血清学的経過観察)</p>			
共 著 者 名			
<p>迫 康仁、伊藤 園予、大竹 孝明、高後 裕、松野 丈夫、大崎 能伸、三代川 斉之、中尾 稔、中谷 和宏、伊藤 亮</p>			
公 表			
<p>Journal of Clinical Microbiology, Oct. 2009, p3191～3196</p>			
研 究 目 的			
<p>多包虫症は浸潤性に拡大し転移もする致命的寄生虫疾患であり、完全切除で治癒するが、化学療法による根治は難しい。診断には、画像診断とRecEm18-ELISA法による血清診断が併用される。血清診断が化学療法における効果判定の指標になれば、臨床上有用と考えられる。我々は多臓器併発多包虫症の2症例に対しalbendazole (ABZ)による長期化学療法を行い、RecEm18に対するIgG (特にIgG4) ELISA値が多包虫症活動性のリアルタイムな指標となることを明らかにした。</p>			
材 料 ・ 方 法			
<p>組換えEm18抗原に対する抗体応答は、ELISA法 (RecEm18-ELISA) を用いて観察した。被検血清は600倍 (症例1)あるいは200倍 (症例2)希釈したものを、抗体検出プローブにはペルオキシダーゼ (HRP) 標識プロテインG、HRP標識抗ヒトIgG (Fab) 抗体あるいはHRP標識抗ヒトIgG4抗体を用いた。また、発色基質にはABTSを使用した。血清は以下に説明する2人の患者より経時的に得られたものを使用した。</p>			

成 績

臨床経過観察

症例1：39歳女性、道東在住。1987年9月頃、右臀部に鈍痛出現し腫瘍を触知するようになった。この腫瘍は1988年4月に切開排膿されてから膿漏が遷延し、腸骨の慢性化膿性骨髓炎と診断されたが、難治なため1989年8月に旭川医大病院へ精査入院となった。前医からの生検標本・画像診断・腹腔鏡検査の結果、多臓器（右腸骨・肝・肺）併発多包虫症と診断された。1989年10月からABZの連日投与が開始され、6週後に頑固な膿漏は消退した。1989年12月、右腸骨病変の腐骨廓清術と骨移植術が行われた。経過良好のため1993年3月から1年間ABZ投与が中止されたが、腸骨病変が再燃したため再手術とABZ投与が再開された。多包虫が腰椎へ浸潤したため1999年10月に3度目の手術が行われ、ABZの増量も試みられたが、骨病変は徐々に進行した。2005年1月に血痰出現と肺病変再燃の画像所見を認めたが、ABZ増量により治まった。肝多包虫症は完全寛解状態である。

症例2：41歳女性、道央在住。1991年7月頃から左側上胸部に疼痛出現し、8月14日旭川医大病院で胸鎖関節炎・肩関節周囲炎と診断された。その後、左胸鎖関節部に腫瘍が出現、増大と深部の壊死に伴い痛みは消退した。1993年2月の解放生検・画像診断などにより多臓器（肝・肺・鎖骨）併発多包虫症と診断された。左鎖骨多包虫病変は根治切除され、1993年4月からABZ投与が開始された。1年後、画像診断で肝病変の著しい退縮所見が認められたため、ABZ投与が中止された。1996年1月のCT検査で肺病変の再燃が疑われた時点で、血清診断は弱陽性であった。1996年3月からABZ投与が再開された後、画像診断で肺・肝病変に再燃所見は認めない。

血清学的経過観察

症例1：RecEm18-ELISA値は腸骨病変の手術後も陽性で病状の進行につれて上昇し、骨病変再燃に対する3度目の手術後、高値になった。組み換えプロテインG・抗ヒトIgG (Fab)・抗ヒトIgG4を用いたRecEm18-ELISAは臨床経過のモニターとして信頼性に優れ、IgG4が最も高感度であると推察された。症例2：術後4年以内に、RecEm18-ELISA値の劇的な低下が確認された。IgG応答は2000年まで陽性と思われたが、IgG4応答は既に陰性化し画像診断と臨床像は治癒を支持する所見であった。

考 案

症例1では、ABZは肝病変に著効し、肺病変にも有効で再燃時にも増量で抑制できたが、骨病変には奏功しにくかった。症例2では、骨病変は切除根治し肝・肺病変もABZにより治癒が期待される。ABZは肝・肺病変には有効であるが、骨病変は長期投与でも治療困難なことが分かった。1980年頃、根治切除不能症例の10年以内死亡率は90%とされており、提示2症例は非常に長期生存したといえる。診断法としてWHOは画像診断に血清診断の併用を推奨しており、各種ELISAの比較解析によるとRecEm18-ELISAが際だって強い動的变化を示すことが明らかになった。RecEm18の感度は他の血清診断法より優れており、再発に伴うリアルタイムな上昇は最も注目すべき臨床像である。RecEm18-ELISA法の感度は約95%と高いが、更に完治後の陰性化はきわめて有用である。多包虫症の進行をモニターするために特に強く推奨されるRecEm18-ELISAによるIgG4の検出は、血清サンプルの光学濃度値が波長405 nmで平均値±3SD以上のとき陽性とされている。我々の研究では、IgG4応答はIgG (Fab)応答よりわずかに早く陰性化した。大きな差はないと考える。RecEm18を用いた簡便な迅速免疫クロマトグラフィー検査 (ICT) キットが開発され、Adtec Inc. (Usashi, Oita, Japan) から市販されている。定量的なICTは開発中である (Y. Sako et al., unpublished data)。ABZは多包虫症に対する第一選択薬であるが、中止後耐性発現の報告もあり連続投与が必要と考えられる。本研究で実証されたように、RecEm18による血清診断は多包虫症の活動性を示す良好な指標であり、根治手術で

治癒した症例では陰性化する。一方、明らかな殺滅効果のないABZで治療したときの血清診断陰性化は必ずしも治癒と判定できない。ABZ投与終了の判断基準は難しく、多包虫殺滅効果を持つ薬剤が必要である。

結 論

1. 多臓器併発多包虫症例に対し手術療法とABZによる長期化学療法を併用し、RecEm18-ELISAによる経時的血清診断と臨床所見の経過を比較検討した。
2. ABZによる長期化学療法は肝・肺多包虫症に対しては有効であるが、骨病変には奏功しにくいことが分かった。
3. RecEm18-ELISAによる血清診断結果は、明らかに多包虫症の臨床経過とリアルタイムに相関して変動し、病巣の活動性を定量的に検知する指標として非常に有用である。ABZ化学療法症例における血清診断の陰性化は必ずしも治癒の所見とはいえ、慎重な経過観察が必要である。
4. RecEm18-ELISAによる血清診断は、小病変の発見に役立つことが期待される。これが積極的にスクリーニングに適用され患者が早期発見されるようになれば、臨床的有用性は更に増すと考えられる。




引用文献

1. Fujimoto Y, Ito A, Ishikawa Y, Inoue M, Suzuki Y, Ohhira M, Ohtake T, Kohgo Y. Usefulness of recombinant Em18-ELISA to evaluate efficacy of treatment in patients with alveolar echinococcosis. *Journal of Gastroenterology* 40, 426-431, 2005
2. Ito A, Xiao N, Liance M, Sato MO, Sako Y, Mamuti W, Ishikawa Y, Nakao M, Yamasaki H, Nakaya K, Bardonnnet K, Bresson-Hadni S, Vuitton DA. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with affinity-purified Em18 and ELSIA with recombinant Em18 for differential diagnosis of alveolar echinococcosis: results of a blind test. *Journal of Clinical Microbiology* 40, 4161-4165, 2002
3. Sako, Y., K. Fukuda, Y. Kobayashi, and A. Ito. Development of a rapid immunochromatographic test for the diagnosis of alveolar echinococcosis. *J. Clin. Microbiol.* 47: 252-254, 2009

参考文献

1. Mamuti W, Sako Y, Nakao M, Xiao N, Nakaya K, Ishikawa Y, Yamasaki H, Lightowers MW, Ito A (2006). Recent advances in characterization of *Echinococcus* antigen B. *Parasitol Int* 55: s57-s62
2. Ito A, Nakao M, Sako Y, Nakaya K, Yamasaki H, Ishikawa Y. (2005). Research review on human echinococcosis in Japan. *Asian Parasitology* vol. 2. Taeniasis/Cysticercosis and Echinococcosis in Asia. FAP, Tokyo, 155-161
3. Ito A, Yamasaki H, Nakao M, Sako Y, Nakaya K, Mamuti W, Xiao N, Sato MO, Ishikawa Y. (2003) Review: Echinococcosis and cysticercosis in Asia: evaluation of the modern technology for epidemiological study. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 34 (Suppl 2), 103-107.
4. Ito A, Wandra T, Subahar R, Hamid A, Yamasaki H, Sako Y, Mamuti W, Okamoto M, Nakaya K, Nakao M, Ishikawa Y, Suroso T, Craig PS, Margono SS (2002) Recent advances in basic and applied science for the control of taeniasis/cysticercosis in Asia. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 33 (Suppl 3) 79-82.
5. Ito A, Kanazawa T, Nakao M, Sako Y, Ishikawa Y, Nakaya K (2001) Comparison of the antigenicity of protoscolexes and microvesicles of *Echinococcus multilocularis* prepared from rats. *Journal of Helminthology* 75, 355-358.

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏 名	石 川 裕 司
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; margin-bottom: 10px;"> 審査委員長 伊藤 喜久  </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; margin-bottom: 10px;"> 審査委員 西川 祐司  </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> 審査委員  </div>			
<p>学 位 論 文 題 目</p> <p>Serological monitoring of progression of alveolar echinococcosis with multi-organ involvement using recombinant Em18. (組換え Em18 を用いた多臓器併発多包虫症の進行に対する血清学的経過観察)</p>			
<p>多包虫症はしばしば悪性腫瘍の転移にもたとえられるように致死性疾患であり、肝臓をフォーカスとして進行性に肺、骨などに拡大し多臓器病変を形成する。本論文は多包虫症の2症例について recombinant 抗原 Em 18 を用いて酵素免疫測定法により20年以上に渡り詳細に臨床経過をフォローした報告である。</p> <p>Em18 を用いる酵素免疫測定法は本学寄生虫学教室で開発されたもので、高感度、特異性に優れた測定法である。多包虫症の病態をよく反映すると評価されている。</p> <p>recombinant 抗原 Em 18 を用い、病態、病勢を大きく異にする2症例の患者血清を経時的に採取し protein G, および抗 IgG (Fab)、抗 IgG4, 抗 IgG1 抗体力価を測定した。Albendazole (ABZ)による化学療法、手術治療などとの関連から経時的に測定追跡した。この結果、抗体力価はいずれも化学療法、手術を機に症状の改善と並行して低下を、再発にともない上昇を示し、画像診断と比べ比較的短期間で早期の段階からの病勢の経過観察に有効であること、IgG 抗体応答の主体は IgG1 ではなく IgG4 応答であることが示された。</p>			

申請論文は J. Clin. Microbiol. 47:3191-3196, 2009 に原著論文として発表されている。症例報告の形態をとっているが、以下の点で通常の症例報告とは性格を異にしていると判断される。(1) いずれの症例も申請者が初めて見出し確定診断したものであり、その後長期間にわたり一貫して申請者自らが中心となり採取、測定、評価検討を行っていること、(2) 1例は ABZ が多包虫症に有効であることを申請者自身が証明した国内初の症例であること、(3) 以前、生存期間が約3年とされていた多包虫症が、外科治療、ABZ 治療の併用により、長期生存可能な疾患であることを実証していること、(4) Em18 に対する抗体力価測定を駆使して、20年以上にわたる臨床研究と基礎科学とを結び付けていること、(5) IgG 応答の主体が IgG4 であることを確認したことである。申請者に対して、各審査委員から論文内容、関連領域について試問がなされ、これに対して適切な回答が寄せられた。

本審査委員会では慎重な意見交換を行い本学規定も鑑み、本論文は申請者のこれまでの臨床研究の総括とみなすことが可能で、社会人研究生枠の研究として、学位を授与するに価値を有すると結論した。