

学 位 論 文 題 名

肝多包虫症に対する温熱化学療法の効果

学位論文内容の要旨

I 緒 言

肝多包虫株は肝臓に多房性の嚢胞性病変を形成する疾患であり、その発育は緩慢であるが、悪性腫瘍のような病態を示す。現在、本症に対する確実な有効的治療薬はなく、外科的に病巣を完全に切除する以外に治療法はない。最近、薬物として Benzimidazole 系統の薬剤である Albendazole, Mebendazole 等が臨床的に有効であったという報告が散見されるが、有効血中濃度、副作用等の問題があり、進行多包虫巣の縮小あるいは増殖の停止をきたす有効な治療法はいまだ確立されていない。一方、本寄生虫は低温には比較的抵抗性を示すが、高温には抵抗性が低いとされており、局所加温が包虫巣の増殖を抑制するならば、切除不能肝多包虫症剤に対する臨床効果が期待される。そこで今回、著者は実験的に多包虫巣に対する温熱療法と薬剤の効果および両者の併用効果について検討した。

II 研究方法

1. 実験材料

1) 多包虫株：北海道道立衛生研究所で継代維持しているコットンラット (*Sigmoid hispidus*) 腹腔内のアラスカ株を用いた。

2) 実験動物：スナネズミ (*Meriones Unguiculatas*) 8 週齢体重 60 g ~ 65 g の雌を用いた。

2. 方 法

実験モデルとして移植部位により肝内移植群 (第 1 群) と臀部皮下移植群 (第 2 群) を作成した。

1) 1 群 (肝内移植群)：原頭節約 800 個 (0.2ml) をスナネズミの肝実質に高木の方法で接種した。2 カ月後に形成された多包虫巣をモデルとした (N=12)。対照として非感染の正常肝を用いた (N=3)。感染後 2 カ月のスナネズミをエーテル麻酔下で再度開腹し、包虫巣を露出し、これを低出力レーザー (Nd-YAG, 2~3 W) で加温した。加温にはセラミック製の接触型広拡散マイクロロッドを用い、その先端部分を刺入した。この刺入点から 3 mm の包虫巣部分に

サーモセンサーを同様に刺入し、この部位が45～46℃となるように on/off コンピューターで抑制しながら加温した。正常肝も同様に加温した。また、レーザー光線を包虫巢表面に照射する外照射加温も行った。测温は、中心より 5 mm, 8 mm, 12mm, 15mmの点で加温開始後 5分, 10分, 15分後に行い、包虫巢および正常肝内の温度分布を調べた。レーザーによる20分間加温後の組織学的変化を、包虫巢では、直接、1, 3, 7日目 (N=各3), 正常肝では7日目 (N=3) にスナネズミを犠牲死させて検討した。

2) 2群 (腎部皮下移植群): スナネズミ腎部皮下に原頭節約4,000個を接種し、2カ月後の皮下包虫巢をモデルとした。温熱および薬物療法により以下の4群に分けた。I a; 温熱単独群: 1週6回を4週間, 計24回 (N=5)。I b; 温熱単独群: 1週3回4週間, 計12回 (N=5)。II; 薬物療法群: Albendazole 30mg/kg/日, 1週5日を4週間, 計20日間 (N=5)。III; 併用群: 温熱療法 (I a), 薬物療法 (II) の併用 (N=5)。IV; 対照 (N=5)。

(1) 加温方法: 無麻酔下でスナネズミを金属メッシュで被覆固定し、腎部皮下包虫巢を43℃の恒温槽の温水に20分間浸した。薬剤併用群では薬剤投与後ただちに温熱療法を施行し、包虫巢内の温度を連続的に测温した。

(2) 薬剤および投与方法: 薬剤には Albendazole の純末 (スミス・クライン藤沢) を用いた。この純末を界面活性剤である0.05%, Tween 80で懸濁し, 30mg/kg/日の量を経口ゾンデ針で胃内へ注入した。

(3) 検索項目: 治療開始日より1週毎に包虫巢の長径と短径を測定し、包虫巢の重量を算出した。治療最終日に全例犠牲死させ、包虫巢を摘出し、その重量を測定するとともに、顕微鏡的に HE 染色組織像を検討した。

III 結 果

1. 1群 (肝内移植群)

開腹3分後の包虫巢、正常肝の温度は各々、23～24℃, 33～35℃であり、血流の乏しい包虫巢は室温に近い温度を示した。加温5分後、中心より5mmの点では包虫巢、正常肝ともに41℃に達し、以後加温中はほぼ同じ温度で経過した。8mm, 12mm, 15mmの各点では、正常肝の方が温度はやや高く、包虫巢の熱伝導はやや不良であった。また、レーザー光線を直接照射した群では加温中病巣の温度は室温とほぼ同じ23～24℃で経過し、それ以上に加温されなかった。

加温による包虫巢の病理組織学的変化は、断面でロッド挿入点を中心とした赤白調のほぼ円形の変色部分を認め、周囲包虫巢と区別される明らかな境界線を描いていた。強拡大では、中心側

で蛋白変性、血液凝固などの高熱による変化は認められないが、小嚢胞内の原頭節構成細胞はほぼ一様に変性・壊死を起こしており、その細胞核は淡く不明瞭となっていた。また、一層の胚層細胞は膨化し、核の消失が認められた。

一方、境界線外側では原頭節の構造は良く保たれ、胚層細胞の膨化を認めなかった。上記変色部分の中心部（ロッド刺入部）から境界線までの距離（d）は直後 5.7 ± 0.9 mm、1日目 5.7 ± 0.5 mm、3日目 6.3 ± 0.5 mm、7日目 6.7 ± 1.2 mmであった。包虫巢の熱拡散状態から考えてみると、この変色領域は少なくとも中心部より5mm以内、すなわち 41°C 以上の加温部分に相当した。一方、正常肝組織は、中心より半径3mmのやや狭い範囲が白色調に変化し、強拡大では肝細胞核の濃縮や胞体の膨化が認められた。この範囲は、 $45\sim 46^{\circ}\text{C}$ 以上の加温部分に相当する部分であった。また、レーザー光線のみ照射した包虫巢には組織学的に原頭節、胚層の変性を認めなかった。

2. 2群（臀部皮下移植群）

包虫巢温度は加温開始後5分で 43°C に達し、以後加温中の温度は一定であった。加温終了後温度は速やかに低下した。各治療群の相対平均包虫巢重量は各測定時において変化がなかったが、対照群と比較すると、いずれの治療群も各測定時において包虫巢の増殖は明らかに抑制された（ $p < 0.05$, $p 0.01$ ）。しかし、治療群各間には明らかな差を認めなかった。

また、治療最終日に犠牲死させて得られた包虫巢の重量は温熱群（24回） 2.6 ± 1.4 g、温熱群（12回） 2.3 ± 0.8 g、薬物療法群 2.7 ± 0.6 g、併用群 2.4 ± 0.9 g、対照群 4.3 ± 1.0 gであり、治療群は対照群に比べ、明らかに低値であった（ $p < 0.05$ ）。これを包虫巢重量／体重比でみると、併用群のみが対照群に比べ、有意に低値であった（ $p < 0.05$ ）。組織学的には各治療群における小嚢胞数と嚢胞内原頭節数は対照群に比べ減少しており、特に温熱群、併用群に著明であった。さらに薬物療法群では原頭節、胚層の変性・壊死を部分的に認めたが、正常な原頭節、胚層も残存していた。一方、温熱群、併用群では原頭節、胚層ともに一様に変性・崩壊しており、宿主側の反応と考えられるリンパ球の浸潤が強くみられた。

IV 総括ならびに結論

①移植肝多包虫巢にレーザー温熱療法を施行した結果、 41°C 、15分間の加温で原頭節・胚層は変性・崩壊した。②正常肝細胞は $45\sim 46^{\circ}\text{C}$ 、15分間の加温で変性・壊死を起こした。③移植臀部皮下多包虫巢に対し、恒温槽を用いた 43°C 、15分間の温熱療法を施行した結果、計24回、12回のいずれかの群においても包虫巢の増殖は有意抑止された。

以上より肝多包虫症に対する温熱療法の可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 内 野 純 一

副 査 教 授 小 野 江 和 則

副 査 教 授 安 田 慶 秀

肝多包虫症は完全摘除以外治療はないが、発見時病巣が高度に進展しているため、切除不能となる症例が少なくない。切除不能症例には薬物療法が試みられているが、未だ確立された治療法はない。そこで申請者は実験的に多包虫巣に温熱療法を施行し、薬剤との併用効果について検討した。

実験材料である多包虫株は北海道道立衛生研究所でコットンラットの腹腔内に継代維持しているアラスカ株を用いた。また、実験動物はスナネズミの雌を用いた。実験モデルとして移植部位により肝内移植群（第1群）と臀部皮下移植群（第2群）を作成した。

第1群では原頭節約800個（0.2ml）をスナネズミの肝実質に接種し、2カ月後に形成された多包虫巣をモデルとした。この包虫巣に接触型広拡散マイクロロッドを刺入し、on/off コンピューターで抑制しながら低出力レーザー（Nd-YAG, 2～3 W）で加温した。正常肝も同様に加温した。また、レーザー光線を包虫巣表面に照射する外照射加温も行った。测温は、マイクロロッド刺入部より、5 mm, 8 mm, 12mm, 15mmの点で加温開始後5分、10分、15分後に行い、包虫巣および正常肝内温度分布を調べた。組織学的変化については、包虫巣では、直後、1、4、7日目、正常肝では7日目に犠牲死させて検討した。

その結果、包虫巣、正常肝の温度は加温5分、5 mmの点で両者ともすでに41℃に達しており、以後加温中はほぼ同じ温度で経過した。8 mm, 12mm, 15mmの各点では、正常肝の方が温度はやや高く、包虫巣の熱伝導はやや不良であった。また、レーザー光線を直接照射した群では加温中病巣の温度は室温とほぼ同じ23～24℃で経過し、それ以上に加温されなかった。組織学的には、割面でロット挿入点を中心とした赤白調のほぼ円形の変色部分を認め、周囲包虫巣と区別される明らかな境界線を描いており、強拡大では変色部分の原頭節、胚層はほぼ一様に変性、壊死を起こしていた。この変色部分の中心部（ロッド刺入部）から境界線までの距離は少なくとも5 mmであり、包虫巣の熱拡散状態からすると41℃以上の加温部分に相当すると考えられた。一方、正常肝では、中心より半径3 mmのやや狭い範囲内が白色調に変化し、強拡大で肝細胞の変性が認められた。この範囲は、45～46℃以上の加温部分に相当する部分であった。また、レーザー光線のみ照射した

包虫巢には組織学的に原頭節，胚層の変性を認めた。

第2群は，スナネズミ臀部皮下に原頭節約4,000個を接種し，2カ月後の皮下包虫巢をモデルとした。温熱および薬物療法により以下の4群に分けた。Ia；温熱単独群：1週6回を4週間，計24回（N=5）。Ib；温熱単独群：1週3回を4週間，計12回（N=5）。II；薬物療法群：Albendazole 30mm/kg/日，1週5日間を4週間，計20日間（N=5）。III；併用群：温熱療法（Ia），薬物療法（II）の併用（N=5）。IV；対照（N=5）。加温方法は無麻酔下でスナネズミを金属メッシュで被覆固定し，臀部皮下包虫巢を43℃の恒温槽の温水に20分間浸した。併用群では薬剤投与後ただちに温熱療法を施行した。薬剤にはAlbendazoleの純末を用い，界面活性剤である0.05%，Tween 80で懸濁し，30mm/kg/日の量を経口ゾンデ針で胃内へ注入した。治療開始日より1週毎に包虫巢の長径と短径を測定し，包虫巢の重量を算出した。治療最終日に全例犠牲死させ，包虫巢を摘出し，その重量を測定するとともに，組織学的にも検討した。

包虫巢温度は加温開始後5分で43℃に達し，以後加温中温度は一定であった。加温終了後温度は速やかに低下した。各治療群の相対平均包虫巢重量は各測定時において変化しなかったが，対照群と比較すると，いずれの治療群も各測定時において包虫巢の増殖は明らかに抑制された（ $p < 0.05$ ， $p < 0.01$ ）。しかし，治療群各間には明らかな差を認めなかった。治療最終日に犠牲死させて得られた包虫巢の重量も治療群は対照群に比べ，明らかに低値であった（ $p < 0.05$ ）。組織学的には各治療群における小嚢胞数と嚢胞内原頭節数は対照群に比べ減少しており，特に温熱群，併用群に著明であった。薬物療法群では正常な原頭節，胚層の残存も認められたが，温熱群，併用群では原頭節，胚層ともに一様に変性・崩壊しており，宿主側の反応と考えられるリンパ球の浸潤が強くみられた。

審査に当たって小野江教授より宿主側の免疫反応について，安田教授よりLASERを用いた理由，宮崎教授よりアルベンダゾールの血中濃度についてなど質疑があったが，申請者は概ね妥当な解答を行った。

多包虫症に対する温熱療法単独あるいは薬物療法との併用の有効性について検討した報告はなく，本研究は切除不能肝多包虫症に対する温熱療法の可能性を示した点で意義があり，学位授与に値するものとする。