

学位授与番号：乙3064号

氏名：星野真人

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成25年6月12日

学位論文名：

アカラシア食道筋層の免疫組織学的評価

主論文名：

Immunohistochemical study of the muscularis externa of the esophagus in achalasia patients. (アカラシア食道筋層の免疫組織学的評価)

学位審査委員長：田尻久雄教授

学位審査委員：池上雅博教授、井口保之教授

## 論文要旨

論文提出者名	星野 真人	指導教授名	矢永 勝彦
<p><b>主論文題名</b> Hoshino M, Omura N, Yano F, Tsuboi K, Kashiwagi H, Yanaga K. Immunohistochemical study of the muscularis externa of the esophagus in achalasia patients.(アカラシア食道筋層の免疫組織学的評価) Dis Esophagus. 2012 Feb 6. [Epub ahead of print]</p> <p><b>要約</b></p> <p>〔背景〕 アカラシアは慢性神経叢の炎症性破壊がその本態と考えられている。神経叢炎症の原因としてウイルス説、免疫異常説等が提唱されているが、いまだ不明である。本研究の目的はアカラシアに対して外科治療を行った症例の食道筋層を用い免疫化学染色を行い、その病態を解明することである。</p> <p>〔方法〕 外科治療を行ったアカラシア 62 例（アカラシア群）と食道癌にて食道切除術を受けた 10 例（コントロール群）の非癌部食道筋層を用い、S-100, CD43, c-kit (CD117), n-NOS, VIP, Ubiquitin の免疫組織学染色を行い両グループを比較検討した。</p> <p>〔結果〕 S-100, n-NOS, VIP, Ubiquitin 染色ではアカラシア群において、コントロール群と比較し統計学的に有意に減少していた（順に <math>P&lt;0.001</math>, <math>P=0.001</math>, <math>P&lt;0.001</math>, <math>P=0.001</math>）。一方、CD43 及び c-kit 染色では統計学的有意差を認めなかった（順に <math>P=0.586</math>, <math>P=0.209</math>）。</p> <p>〔考察〕 アカラシアにおいて n-NOS、VIP の減少を認め NANC 作動性神経の障害が疑われた。特に Interstitial Cells of Cajal (ICC) に対する作用の障害が考えられた。加えて、アカラシア発症の原因として Ubiquitin の関与が疑われた。</p>			

## 論文審査の結果の要旨

星野真人氏の学位申請論文は、“Immunohistochemical study of the muscularis externa of the esophagus in achalasia patients”（アカラシア食道筋層の免疫組織学的評価）です。以下に、主論文の要旨と論文審査会の審査結果をご報告いたします。

アカラシアは慢性神経叢の炎症性破壊がその本態と考えられています。組織学的には食道筋層内の Auerbach 神経叢の消失・変性を認めることが報告されています。神経叢炎症の原因としてウイルス説、免疫異常説、遺伝、消化管ホルモンなどの関与が提唱されていますが、いまだ不明です。本学外科学教室では 1994 年に第 1 例目の腹腔鏡下 Heller-Dor 手術を施行して以来、これまでに 400 例以上の治療を行っており、本邦における high volume center の一つであります。本研究の目的はアカラシアに対して外科治療を行った症例と胸部食道癌の診断で外科治療がなされた症例の食道筋層を用いて免疫組織学的染色を行い、その病態を解明することです。

外科治療を行ったアカラシア 62 例（アカラシア群）と食道癌にて食道切除術を受けた 10 例（コントロール群）の非癌部食道筋層を用い、S-100, CD43, c-kit (CD117), n-NOS, VIP, Ubiquitin の免疫組織学的染色を行い、両グループの比較検討しました。免疫組織学的染色は Enzyme-Labeled Streptavidin Biotin System (LSAB 法)にて行いました。染色程度は 4 段階に分類し、以下のように定義しました。すなわち、Grade1: normal condition or minor reduction, Grade2: patchy distribution of positive cells, easily found in high-power fields, that is, marked reduction, Grade3: single positive structure that is severe condition, Grade4: very rare or no reaction at all that is complete loss として、各プレパラートを評価しました。

アカラシア群ではコントロール群と比較して神経節細胞が有意に減少していました ( $P<0.001$ )。アカラシア群では grade 1 は 1 例のみで、grade 3, 4 の症例が 50%以上を占めていました。コントロール群では grade3, 4 の症例はなく、神経節細胞が保たれていましたが、アカラシア群ではほとんど確認できませんでした。CD43 染色は 2 群間に有意差を認めませんでした ( $P=0.586$ )。アカラシア群では grade3, 4 が 80%以上を占め、コントロール群も grade3, 4 が 70%でした。両群ともほとんど染色されませんでした。

c-kit は、アカラシア群では Grade 1 が約 40%である一方、grade3, 4 が約 30%を占めました。一方、コントロール群では 70%の症例が grade 1 でしたが、2 群間に有意差を認めませんでした ( $P=0.209$ )。n-NOS は、アカラシア群では grade 2, 3 が 95%以上を占めました。コントロール群では 60%であり、すべて grade 2 でした。アカラシア群で有意に n-NOS 陽性細胞が減少していました ( $P=0.001$ )。VIP はアカラシア群では grade 3, 4 が 95%以上を占めました。コントロール群では grade 3, 4 を認めませんでした。アカラシア群で有意に VIP 陽性細胞が減少していました ( $P<0.001$ )。Ubiquitin はアカラシア群では grade 3, 4 が約 40%を占めたものの、コントロール群では grade 3, 4 は認めませんでした。アカラシア群で有意に ubiquitin 陽性細胞が減少していました ( $P=0.001$ )。

以上のことより、アカラシアにおいて神経節細胞の減少を認め、既知の報告と一致していました。また、n-NOS, VIP の減少を認め、NANC 作動性神経の障害が疑われました。さらにアカラシア発症の原因として Ubiquitin の関与が示唆されました。

本論文に対する審査会は、平成 25 年 6 月 10 日（月）に池上雅博教授、井口保之教授のご臨席のもと開催され、両教授より貴重なご意見、示唆をいただきました。席上、1) アカラシアの病因論について現在までの知見、ならびに本研究を通じて新たに得られた病因・病態について、2) 免疫組織学的染色における評価方法の客観性、3) n-NOS と VIP はどの細胞に染色されているのか、4) 迷走神経の調節と NANC neuron の調節に関連性はあるのか、5) アカラシアに対する治療として腹腔鏡下 Heller-Dor 手術と POEM（内視鏡的筋層切開術：Per-Oral Endoscopic Myotomy）との比較などの質問がありましたが、これらについて星野真人氏は適切な回答と意見を述べました。

アカラシアに対して 60 症例を超える病態解明に迫った免疫組織学的検討は世界初の報告であり、臨床的意義がきわめて高いものと考えられます。その後、審査会は慎重審議の結果、本論文を学位申請論文として十分に評価あるものと認めた次第です。