

Ⅱ．慢性膵炎

2) 各個研究プロジェクト

慢性膵炎における血中可溶性 fractalkine 測定の有用性の検討

研究報告者 伊藤鉄英 九州大学大学院病態制御内科学 講師

共同研究者

安田幹彦, 河邊 顕, 大野隆真, 松尾 享, 中村太一, 加来豊馬, 五十嵐久人, 高柳涼一
(九州大学大学院病態制御内科学)

【研究要旨】

慢性膵炎は進行性の慢性疾患であり、持続・反復する膵炎により徐々に膵内外分泌障害をきたす疾患である。さらに慢性膵炎は、長期的には膵癌のリスクファクターの一つでもある。現在のところ慢性膵炎の早期発見に有効な検査法は存在せず、多くが進行した状態で発見されているのが現状である。慢性膵炎の膵機能検査、形態学的検査における異常所見は、かなり進行した慢性膵炎においてのみ認められる上に、病像と必ずしも一致しない。したがって早期の慢性膵炎像も反映するような生物学的、機能的マーカーが望まれている。近年、新たなケモカインである fractalkine が炎症早期に関与することが報告されているが、慢性膵炎において検討はなされていない。そこで本研究では慢性膵炎患者の血中 soluble fractalkine (S-FRA) 値に注目し、早期慢性膵炎の診断マーカーとしての有用性を検討した。慢性膵炎112症例、健常者116症例の計228症例を対象に、血中の S-FRA, MCP-1, TGF- β を測定した。さらに、慢性膵炎症例を5段階の重症度に分類し、重症度および重症度分類における各種パラメーター(膵外分泌能、画像上の進行度、飲酒量)と S-FRA の関連を解析した。さらに非アルコール性慢性膵炎症例群を設定し、重症度分類の各種パラメーターと S-FRA の関連を追加解析した。S-FRA は慢性膵炎群において有意な上昇を認め、比較的慢性膵炎の早期と思われる症例で有意な上昇を認めた。また、TGF- β 1 はより進行した慢性膵炎で上昇を認めた。この結果は DBTC 慢性膵炎モデルラットを用いた実験でも確認され、DBTC 投与後14日目の膵線維化が進行し始める時期と一致して S-FRA の上昇を認めた。さらに膵星細胞の実験から、膵線維化における fractalkine (CX3CL1)-CX3CR1 系を介した膵星細胞と免疫担当細胞の相互作用が示唆された。S-FRA は早期の慢性膵炎を反映する血清中の診断マーカーとなり得る可能性が示唆された。今後、血清 S-FRA 測定の有用性さらに詳細に検証する必要があると思われる。

A. 研究目的

慢性膵炎は非可逆性の慢性炎症疾患で、進行すると膵外分泌不全、糖尿病を発症するだけでなく、膵癌の危険因子である¹⁻³⁾。そのため、早期に発見して治療を行い、膵炎の進展を予防する必要がある。しかし、早期慢性膵炎の診断は現在のところ非常に困難である。膵機能検査および形態学的検査での異常は、かなり進行した慢性膵炎においてのみ認められ、さらに慢性膵炎の病態と必ずしも一致しない⁴⁻⁸⁾。したがって、早期の慢性膵炎像を反映するような簡便な生物学的、機能的マーカーが望まれている⁹⁾。我々は新たなケモカインである soluble fractalkine (S-FRA) が発症初期より慢性膵炎

の発症進展に関連があることを見出しており、特に、血中 S-FRA 測定が早期慢性膵炎診断のマーカーとして有用であると推察される¹⁰⁾。本研究では慢性膵炎患者の血清中 S-FRA 測定を行い、慢性炎症への関与が報告されている MCP-1, TGF- β 値と比較し、血中 S-FRA 測定の早期慢性膵炎の診断マーカーとしての有用性を検討する。さらに DBTC 慢性膵炎モデルラットおよび膵星細胞における fractalkine 発現、機能を検討し、膵線維化過程における fractalkine の関与を明らかにする。

B. 研究方法

1. ヒト慢性膵炎患者における血清 S-FRA 測

定

1) 慢性膵炎患者血清中の S-FRA 濃度の測定対象は、慢性膵炎診断基準(2001年日本膵臓学会)により、当科にて慢性膵炎の確定診断を得た慢性膵炎112症例(男性63例/女性49例, 25~81歳, 平均56.8歳), 健常者116症例(男性69例/女性47例, 26~93歳, 平均56.5歳)の計228症例である。患者の同意を得て採取した患者および健常者の血清を用いて、血清中 S-FRA, TGF- β 1, MCP-1 の各濃度を ELISA 法により測定した。慢性膵炎群と健常者群間の比較には、Mann-Whitney U test を用いて検討した。統計学的に危険度 $p < 0.05^*$ を有意とした。

2) 慢性膵炎の重症度と血清 S-FRA の関連の検討

慢性膵炎症例を、早川らの慢性膵炎重症度 stage 分類^{11~13)}に基づき、5段階に重症度分類を行った(表 1, 2)。慢性膵炎患者112症例のうち、重症度分類が可能であった109症例について、慢性膵炎の各重症度と S-FRA との関連、および重症度分類における各種パラメーター(膵外分泌能、画像上の進行度、飲酒量)と S-FRA の関連を解析した。各群間の比較には、Mann-Whitney U test, 相関関係の検定には Pearson's correlation analysis を用いた。統計学的に危険度 $p < 0.05^*$ を有意とした。

(倫理面への配慮)

本研究は主任研究者の所属する九州大学医学研究院等倫理委員会で承認を受けた後(平成19年1月29日), 「疫学研究に関する倫理指針」(平成14年6月17日文科科学省・厚生労働省平成14年7月1日施行)に従い施行し, 個人情報保護に努めた。

2. DBTC 慢性膵炎モデルに膵線維化進展における fractalkine の関与を検討

1) DBTC ラット慢性膵炎の作成

既報に基づき^{14~17)}DBTC ラット慢性膵炎モデルを作成した。Dimethyl sulfoxide : Ethanol : Glycerol を2 : 1 : 2の割合で混合した溶媒に Dibutyltin Dichloride (DBTC)を溶解させ、雄性 Lewis ラットの右内頸静脈より7 mg/kg 投与する。7日目より膵に線維化が認められるようになり、14日目以降膵の線維化

表 1 慢性膵炎重症度分類

- A. 膵外分泌機能低下 (score, 0-4)
 - 0, Normal
 - 1, Slightly abnormal
 - 2, Slightly decreased
 - 3, Moderately decreased
 - 4, Severely decreased
- B. 膵管像の異常 (ERCP; score, 0-4)
 - 0, Normal
 - 1, Slightly abnormal
 - 2, Mild pancreatitis
 - 3, Moderate pancreatitis
 - 4, Severe pancreatitis
- C. 耐糖能の低下 (score, 0-4)
 - 0, Normal glucose tolerance
 - 1, Slightly impaired glucose tolerance
 - 2, Mild diabetes mellitus
 - 3, Moderate diabetes mellitus
 - 4, Severe diabetes mellitus
- D. 疼痛 (evaluated in the previous 1 year, score 0-4)
 - 0, No or only slight pain
 - 1, Mild pain
 - 2, Moderate pain
 - 3, Severe
 - 4, Most severe
- E. アルコール常飲の程度 (score, 0-2)
 - 0, Less than 180 ml sake, a not every day
 - 1, Less than 540 ml sake, almost every day
 - 2, More than 540 ml sake, almost every day
- F. 膵炎に関連すると推定される合併症 (score, 0-2)
 - 0, No complications such as pseudocyst and stenosis of the biliary tract
 - 1, Complications that require no treatment
 - 2, Complications that require treatment

Total score	Severity of chronic pancreatitis
0-3	Mild
4-7	Moderate
8<	Severe

表 2 慢性膵炎患者の重症度スコア

Score	0	1	2	3	4	Total
画像進行度	0	47	33	17	12	109
膵外分泌能	31	66	12	0	0	109
耐糖能	63	18	13	4	11	109
疼痛	65	35	7	2	0	109
飲酒量	57	30	22	N/A	N/A	109
合併症	90	17	2	N/A	N/A	109
重症度 stage	Mild(0-3)		Moderate(4-7)		Severe(8>)	
(total score)	36		49		24 109	

N/A: not applied

は著明となる。炎症細胞浸潤は1~3日目までは好中球優位の浸潤を認めるが、7日目には単球が最も浸潤してくるモデルである。

2) DBTC 慢性膵炎モデルラットの膵組織における膜結合型 fractalkine (membrane FRA; M-FRA) および血清中の可溶性 fractalkine (S-FRA) 濃度の検討

DBTC 投与後 7 日目, 14 日目および 28 日目の DBTC 慢性膵炎モデルラットから, それぞれ膵組織と血清を採取した. 採取した膵組織を用いてホモジネート液を作成し, 血清とともに ELISA 法により膵組織中 M-FRA と血清中 S-FRA を測定した.

3. 膵星細胞における fractalkine 発現の検討

1) 膵星細胞 (Pancreatic stellate cell; PSC) の単離・培養

既報に基づき^{15,17)}, 雄性 Lewis ラットより膵臓を摘出して, Optiprep を用いた濃度勾配法にて PSC の単離・培養を行った.

2) 膵星細胞からの mRNA 抽出および RT-PCR 法を用いた *fractalkine* mRNA の発現の検討

LPS 刺激による *fractalkine* mRNA 発現の変化を以下の 2 法を用いて検討した.

① LPS 刺激用量依存性の検討: PSC 1×10^3 個/well を 24 時間培養し, さらに 24 時間無血清培養後, LPS 0 ng/ml, 1 ng/ml, 10 ng/ml, 100 ng/ml 入り培地にて 24 時間培養した後, 膵星細胞を回収した.

② LPS 刺激時間依存性の検討: PSC 1×10^3 個/well を 24 時間培養し, さらに 24 時間無血清培養後, LPS 100 ng/ml 入り培地にて, 0 時間, 3 時間, 6 時間, 12 時間, 24 時間培養した後に, 膵星細胞を回収した.

上記 2 法にて回収した PSC より, mRNA を抽出し, RT-PCR 法を用いて *fractalkine* mRNA の発現を検討した.

4) 膵星細胞から LPS 刺激下に産生, 分泌された S-FRA の検討

PSC 1×10^3 個/well を 24 時間培養し, さらに 24 時間無血清培養後, LPS 100 ng/ml 入り培地にて, 0 時間, 8 時間, 16 時間, 24 時間, 48 時間, 72 時間培養した. 各時間培養後に, 膵星細胞およびその上清を回収した. 回収した培養上清中の S-FRA 濃度を ELISA 法にて測定した.

C. 研究結果

1. 慢性膵炎患者における S-FRA 値の検討

1) 慢性膵炎患者血清中の S-FRA 濃度の測定
慢性膵炎患者の血清において, S-FRA と TGF- β 1 が有意に上昇していた (図 1).

2) 慢性膵炎の重症度と血清 S-FRA の関連の検討

慢性膵炎患者 112 症例のうち, 重症度分類が可能であった症例は 109 例であった. この 109 例について重症度を検討すると, 重症度 Mild 群 36 人, Moderate 群 49 人, Severe 群 24 人であった. 各群において血清中 S-FRA, TGF- β 1, MCP-1 濃度を ELISA 法により測定した結果, S-FRA は慢性膵炎の早期と進行期の二峯性に上昇を認めた. また, TGF- β 1 はより進行した慢性膵炎で上昇を認めた (図 2).

次に重症度分類における各種パラメーター, つまり画像上の進行度, 膵外分泌能, 飲酒量と S-FRA の関連を解析した. まず画像進行度別で, S-FRA は軽症群, 重症群において有意に上昇していた. また, TGF- β 1 は重症度の高い群において有意に上昇していた (図 3). 膵外分泌能別では, S-FRA は軽症群においてのみ有意に上昇していたが, TGF- β 1 は重症度の高い群において有意に上昇していた (図 4). 一方, 飲酒量別においては, S-FRA と TGF- β 1 はともに飲酒量の多い群において有意に上昇していた (図 5).

3) 非アルコール性慢性膵炎症例における血清 S-FRA と TGF- β 1 の検討

さらに飲酒量の影響を受けない非アルコール性慢性膵炎症例に焦点を絞り検討した. S-FRA は非アルコール性慢性膵炎症例において, 軽症群, 画像進行度の軽い群において有意に上昇していた (図 6). また, TGF- β 1 は, 中等度の重症度群において有意な上昇を示した. 画像進行度, 膵外分泌能別における検討においても中等度の群で上昇する傾向にあった (図 7).

2. DBTC 慢性膵炎モデルラットの膵線維化進展における fractalkine の関与

DBTC 慢性膵炎モデルラットの膵組織中 M-FRA および血清中 S-FRA は, DBTC 投与後 7 日目, 14 日目, 28 日目において, 正常ラット

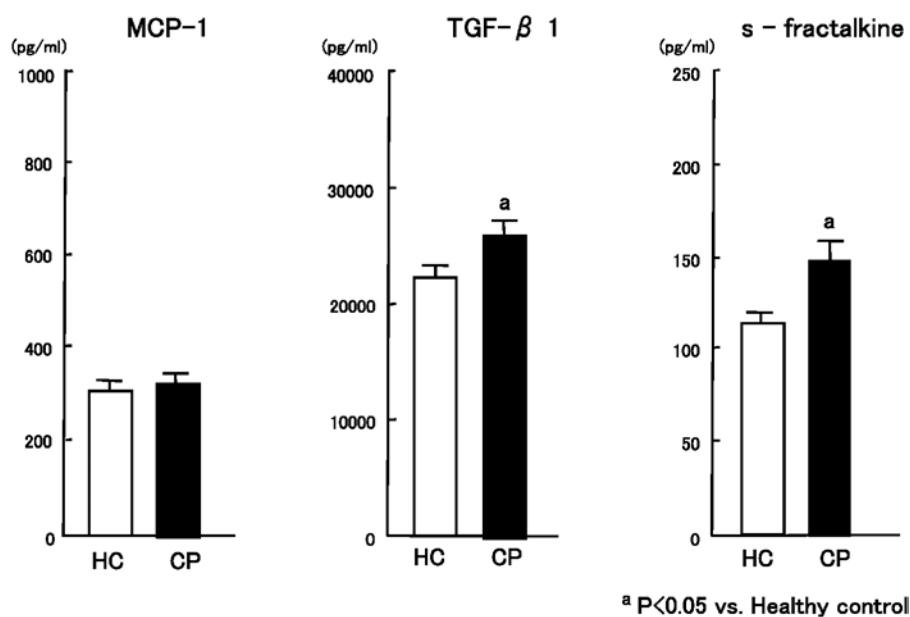


図1 慢性膵炎患者における血清 s-fractalkine, TGF-β1, MCP-1 濃度

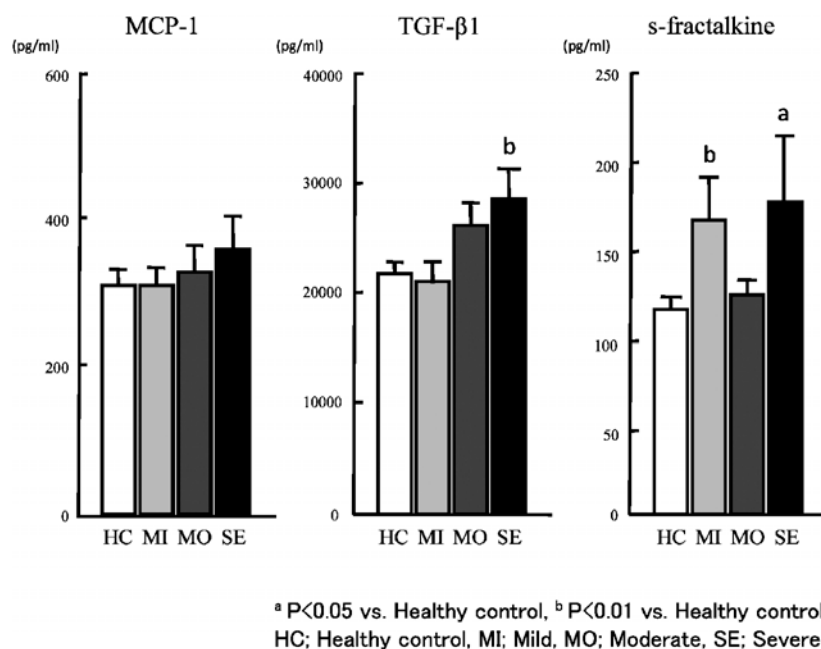


図2 慢性膵炎重症度別の血清 s-fractalkine, TGF-β1, MCP-1 濃度

群よりも高い傾向にあった。特に、膵組織中 M-FRA, 血清中 S-FRA はともに DBTC 投与後14日目をピークにして、正常群と比較して有意な上昇を認めた(図8, 9)。

3. 活性化膵星細胞における *fractalkine* mRNA 発現の検討

活性化膵星細胞を LPS で刺激すると、LPS の用量依存的に *fractalkine* mRNA の発現が有意に増加した。さらに、*fractalkine* mRNA の発現は LPS 刺激後12時間をピークに時間依存的に有意に増加した(図10)。

また、LPS 刺激下に活性化膵星細胞から培養上清中へ産生、分泌された S-FRA 濃度は、LPS 刺激48時間をピークに有意に増加した(図11)。

D. 考察

慢性膵炎患者の年間受療者数は約4万5千人と推定されており、そのうち約25%が進行して消化吸収障害およびインスリンを必要とする糖尿病を合併し、それらに伴う栄養障害および免疫異常は QOL を著しく損なわせる¹¹⁾。慢

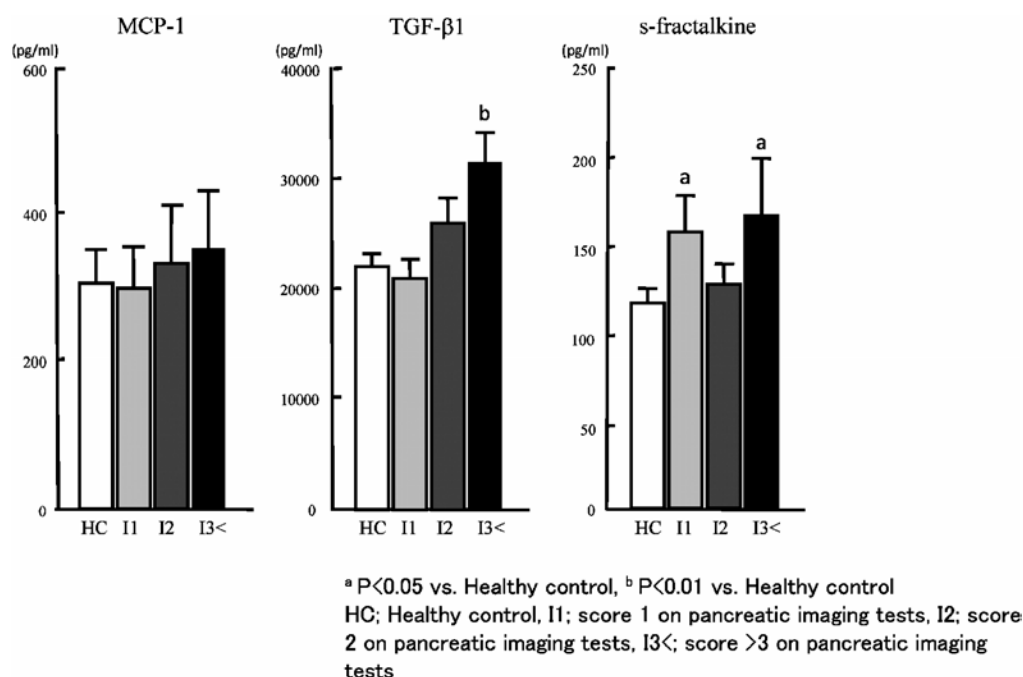


図3 慢性膵炎画像進行度別の血清 s-fractalkine, TGF-β1, MCP-1 濃度

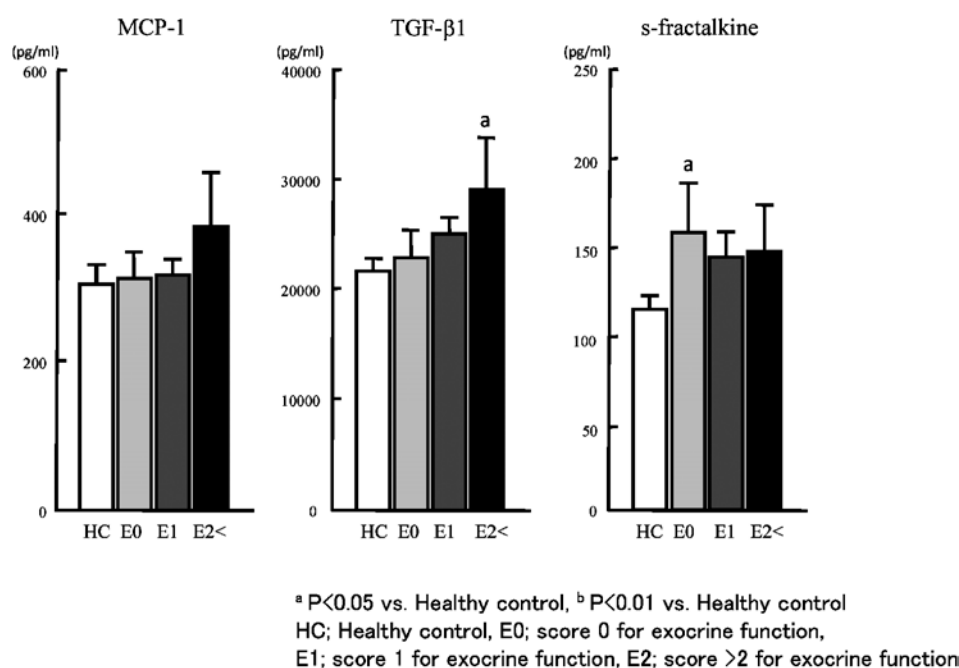
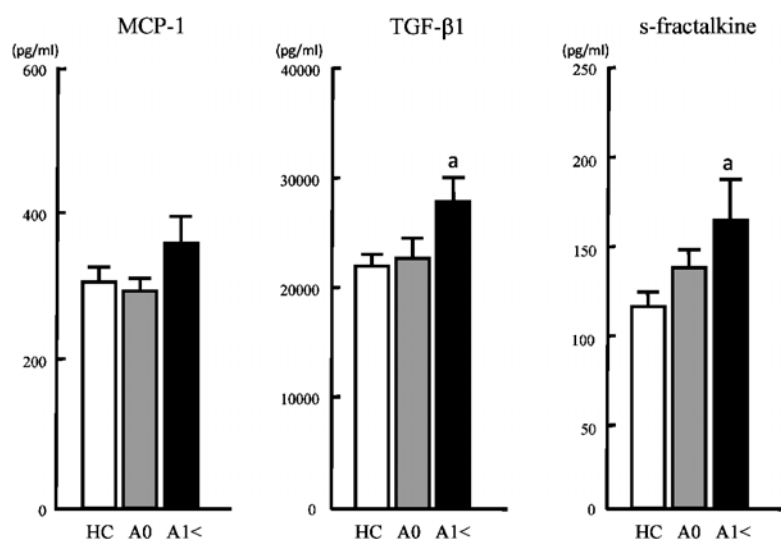


図4 慢性膵炎膵外分泌能別の血清 s-fractalkine, TGF-β1, MCP-1 濃度

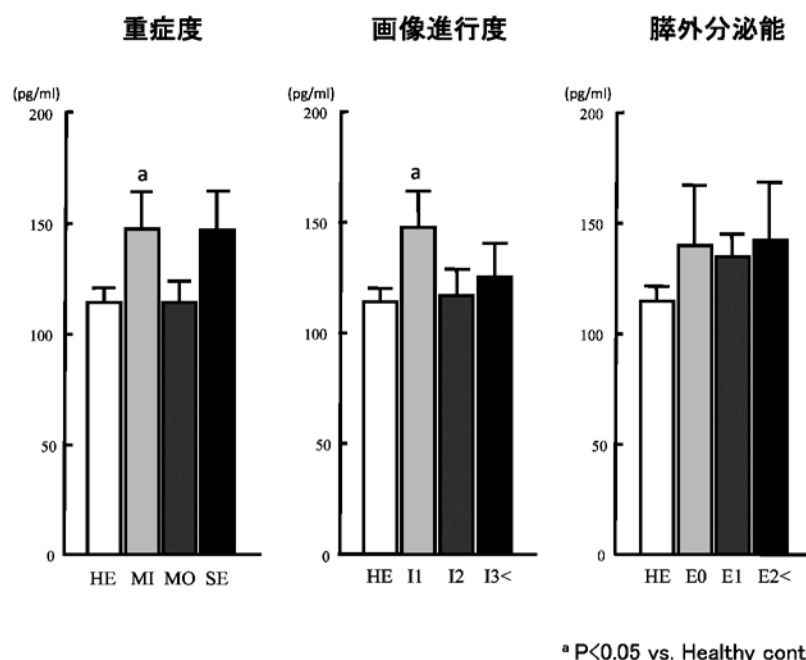
性膵炎の死因では、約44%が悪性疾患で死亡しており、さらにその約25%は予後不良の膵癌で亡くなっている¹¹⁾。そのため、慢性膵炎を早期に発見して早期に治療することが重要と考えられる。しかし、実際には早期の慢性膵炎の診断は困難な現況であり、一般診療の場においてはなかなか診断が得られず消化吸収障害、糖尿病または膵癌が発症して初めて診断されることが多く、有用で簡便な慢性膵炎早期診断のマーカーが望まれている。FRAは、最近発見

されたユニークなケモカインで¹⁸⁾、ケモカインと細胞接着の2つの活性を併せ持ち、各種臓器の上皮細胞、内皮細胞などからの発現が認められている(表2)^{19~24)}。膜結合型の membrane FRA (M-FRA)は、細胞外領域が metalloprotease により shedding され、分泌型の S-FRA となり、S-FRAは、CX3CR1を有する Monocyte などに対する細胞遊走活性を示すことが分かっている(図3)。慢性炎症のある局所臓器(肝、肺、腎など)において、FRAの



^a P<0.05 vs. Healthy control, ^b P<0.01 vs. Healthy control
 HC; Healthy control, A0; score 0 for score of alcohol intake,
 A1<; score >1 for score of alcohol intake

図5 慢性肝炎飲酒量別の血清中 s-fractalkine, TGF-β1, MCP-1 濃度



^a P<0.05 vs. Healthy control

図6 非アルコール性慢性肝炎の s-fractalkine 濃度

関与が最近注目されており、さらにさまざまな慢性炎症疾患において血中 S-FRA が上昇するといった報告もされている(表3)^{25~32)}。腩の炎症疾患における血中 S-FRA の動態に関する報告は今のところなく、慢性腩炎への関与が期待される。本研究では腩疾患患者の血清中の S-FRA を、腩線維化進展に関与する TGF-β1 とともに測定した。その結果、S-FRA は慢性腩炎の早期と進行期で二峯性の上昇を認め、TGF-β1 はより進行した慢性腩炎で上昇を認

めた。さらに重症度分類のパラメーターである画像進行度、腩外分泌能、飲酒量の各項目においても同様の傾向が認められた。つまり、S-FRA は慢性腩炎の早期群において高い傾向が示された。

今回我々が用いた DBTC 慢性腩炎モデルラットは、当研究室にて確立した慢性腩炎疾患モデルラットである^{14~17)}。DBTC 投与7日目より腩に線維化が認められるようになり、14日目以降より腩の線維化は著明となる。また、炎

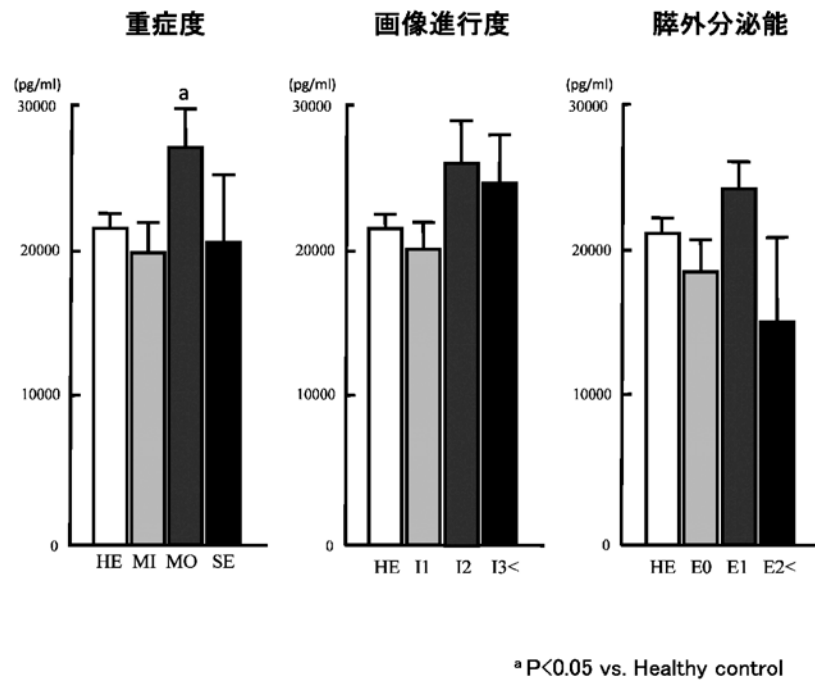


図 7 非アルコール性慢性膵炎の TGF- β 1 濃度

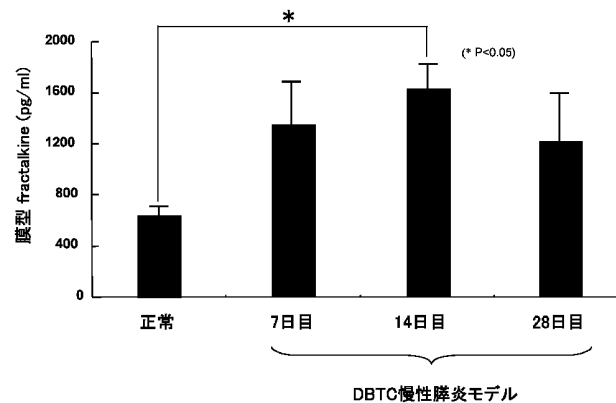


図 8 DBTC 慢性膵炎モデルラットの膵組織中膜型 fractalkine 濃度

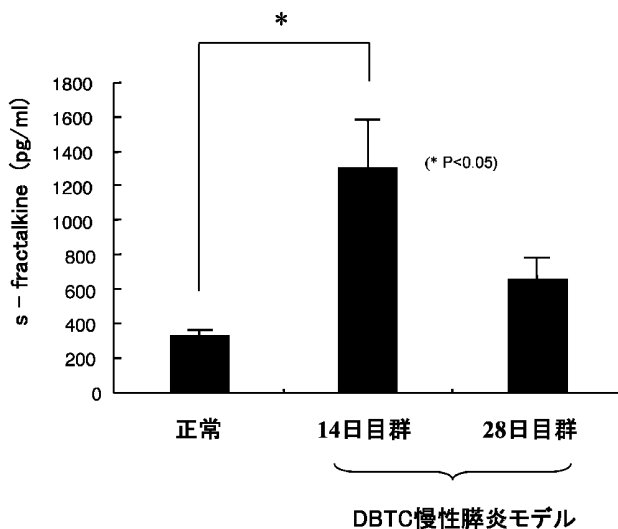


図 9 DBTC 慢性膵炎モデルラットの血清中 s-fractalkine 濃度

症細胞浸潤は1～3日までは好中球優位の浸潤を認めるが、7日目には単球が最も浸潤してくる。このモデルラットの病態の進行は、ヒトの慢性膵炎の病態進展をよく反映しており、慢性膵炎の線維化進展機序の研究に有用と考えている。DBTC 慢性膵炎モデルラットにおける膵組織中 M-FRA および血清中 S-FRA はともに DBTC 投与後14日目をピークに正常群と比較して有意な上昇を認めた。DBTC 投与後14日目という時期は、膵の線維化の進展が著明となる時期一致しており、ヒトの慢性膵炎においては線維化の早期に相当する時期と考えられた。以上より動物実験においても、S-FRA は慢性膵炎の早期に発現の上昇を認め、線維化の進展に関与することが示唆された。

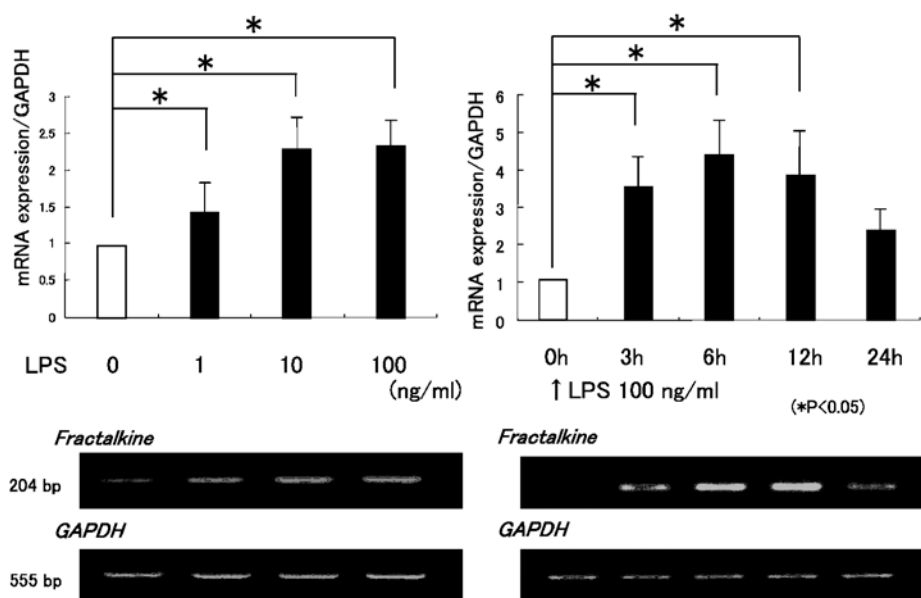


図 10 活性化腭星細胞における fractalkine mRNA の発現

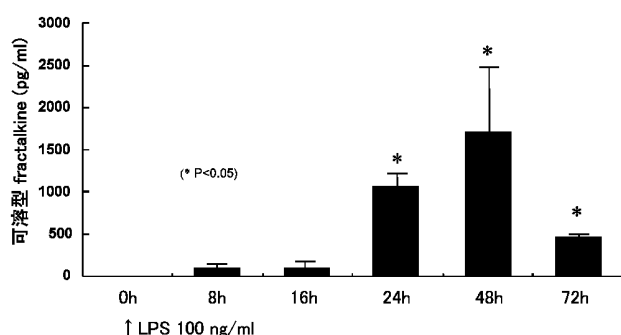


図 11 活性化腭星細胞の培養上清中の s-fractalkine 濃度

また、腭の線維化の中心的な役割を果たしているPSCにおいて、LPS刺激下に*fractalkine* mRNAとS-FRAの産生、分泌が増加することが示された。このことは、腭の慢性炎症により、PSC側に発現した*fractalkine* (CX3CL1)と免疫担当細胞側に発現した*fractalkine* (CX3CL1)のレセプターであるCX3CR1との相互作用が、慢性腭炎の線維化の進展において関与している可能性が考えられた。さらに、PSCからのS-FRAの産生、分泌の増加は単球をはじめとした線維化進展に関与している免疫担当細胞のリクルートおよび活性化を刺激している可能性も考えられた。

以上の結果から、S-FRAは早期の慢性腭炎を反映する血清中の診断マーカーとなり得る可能性が示唆された。今後、血清S-FRA測定の有用性さらに詳細に検証する必要があると思われる。

E. 結語

血中S-FRA測定は早期慢性腭炎の血清中に反映される診断マーカーとなり得る可能性が示唆された。

F. 参考文献

- Clain JE, Pearson RK. Diagnosis of chronic pancreatitis: is a gold standard necessary? Surg Clin North Am 1999; 79: 829-845.
- Sarles H. Pancreatitis. Symposium of Marseille, 1963. Basel: Karger, 1965.
- Sarner M. Pancreatitis definitions and classification. In: Go VLW, Di Magno EP, Gardner JD, Lebenthal E, Reber HA, Scheele GA, editors. The pancreas: pathobiology and disease. 2nd ed. New York: Raven; 1993. p. 575-580.
- Chari ST, Singer MV. The problem of classification and staging of chronic pancreatitis. Proposals based on current knowledge of its natural history. Scand J Gastroenterol 1994; 29: 949-960.
- Nakano S, Horigauchi Y, Takeda T, Suzuki T, Nakajima S. Comparative diagnostic value of endoscopic pancreatography and pancreatic function tests. Scand J Gastroenterol 1974; 9: 383-390.
- Heij HA, Obertop H, van Blankenstein M, Nix GA, Westbroek DL. Comparison of endoscopic

- retrograde pancreatography with functional and histologic changes in chronic pancreatitis. *Acta Radiol* 1987; 28: 289–293.
7. Malfertheiner P, Buchler M. Correlation of imaging and function in chronic pancreatitis. *Radiol Clin North Am* 1989; 27: 51–64.
 8. Lankisch PG, Seidensticker F, Otto J, Lubbers H, Mahlke R, Stockmann F, et al. Secretin-pancreozymin test (SPT) and endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP): both are necessary for diagnosing or excluding chronic pancreatitis. *Pancreas* 1996; 12: 149–152.
 9. Dimagno EP, Layer P. Human exocrine pancreatic enzyme secretion. In: Go VLW, Di Magno EP, Gardner JD, Lebenthal E, Reber HA, Scheele GA, editors. *The pancreas: pathobiology and disease*. 2nd ed. New York: Raven; 1993. p. 275–300.
 10. Ito T. Can measurement of chemokines become useful biological and functional markers of early-stage chronic pancreatitis? *J Gastroenterol* 2007; 42 Suppl 17: 72–77.
 11. Otsuki M. Chronic pancreatitis in Japan: epidemiology, prognosis, diagnostic criteria, and future problems. *J Gastroenterol* 2003; 38: 315–326.
 12. Hayakawa T, Kondo T, Shibata T, Noda A, Suzuki T, Nakano S. Relationship between pancreatic exocrine function and histological changes in chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 1170–1174.
 13. Hayakawa T, Kitagawa M, Naruse S, Ishigyro H, Mizuno N, Nakajima M. Staging of chronic pancreatitis (in Japanese). *Suizou (J Jpn Pancreas Soc)* 2001; 16: 381–385.
 14. Inoue M, Ino Y, Gibo J, Ito T, Hisano T, Arita Y, Nawata H. The role of monocyte chemoattractant protein-1 in experimental chronic pancreatitis model induced by dibutyltin dichloride in rats. *Pancreas* 2002; 25: e64–e70.
 15. Gibo J, Ito T, Kawabe K, Hisano T, Inoue M, Fujimori N, Oono T, Arita Y, Nawata H. Camostat mesilate attenuates pancreatic fibrosis via inhibition of monocytes and pancreatic stellate cells activity. *Lab Invest* 2005; 85: 75–89.
 16. Zhao HF, Ito T, Gibo J, Kawabe K, Oono T, Kaku T, Arita Y, Zhao QW, Usui M, Egashira K, Nawata H. Anti-monocyte chemoattractant protein 1 gene therapy attenuates experimental chronic pancreatitis induced by dibutyltin dichloride in rats. *Gut* 2005; 54: 1759–1767.
 17. Kaku T, Oono T, Zhao H, Gibo J, Kawabe K, Ito T, Takayanagi R. IS-741 attenuates local migration of monocytes and subsequent pancreatic fibrosis in experimental chronic pancreatitis induced by dibutyltin dichloride in rats. *Pancreas* 2007; 34: 299–309.
 18. Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, Wang W, Soo K, Rossi D, et al. A new class of chemokine with a CX3C motif. *Nature* 1997; 385: 640–644.
 19. Chapman GA, Moores K, Harrison D, Campbell CA, Stewart BR, Strijbos PJ. Fractalkine cleavage from neuronal membranes represents an acute event in the inflammatory response to excitotoxic brain damage. *J. Neurosci* 2000; 20: RC87: 1–5.
 20. Imai T, Hieshima K, Haskell C, Baba M, Nagira M, Nishimura M, et al. Identification and molecular characterization of fractalkine receptor CX3CR1, which mediates both leukocyte migration and adhesion. *Cell* 1997; 91: 521–530.
 21. Combadiere C, Salzwedel K, Smith ED, Tiffany HL, Berger EA, Murphy PM. Identification of CX3CR1: a chemotactic receptor for the human CX3C chemokine fractalkine and a fusion coreceptor for HIV-1. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 23799–23804.
 22. Ludwig A, Berkhout T, Moores K, Groot P, Chapman G. Fractalkine is expressed by smooth muscle cells in response to IFN- γ and TNF- α and is modulated by metalloproteinase activity. *J Immunol* 2002; 15; 168: 604–612.
 23. Fong AM, Robinson LA, Steeber DA, Tedder TF, Yoshie O, Imai T, et al. Fractalkine and CX3CR1 mediate a novel mechanism of leuko-

- cyte capture, firm adhesion, and activation under physiologic flow. *J Exp Med* 1998; 188: 1413–1419.
24. Haskell CA, Cleary MD, Charo IF. Unique role of the chemokine domain of fractalkine in cell capture. *J Biol Chem* 2000; 275: 34183–34189.
 25. Volin MV, Woods JM, Amin MA, Connors MA, Harlow LA, Koch AE. Fractalkine: a novel angiogenic chemokine in rheumatoid arthritis. *Am J Pathol* 2001; 159: 1521–1530.
 26. Ito Y, Kawachi H, Morioka Y, Nakatsue T, Koike H, Ikezumi Y, et al. Fractalkine expression and the recruitment of CX3CR1+ cells in the prolonged mesangial proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 2002; 61: 2044–2057.
 27. Rimaniol AC, Till SJ, Garcia G, Capel F, Godot V, Balabanian K, et al. The CX3C chemokine fractalkine in allergic asthma and rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 1139–1146.
 28. Isse K, Harada K, Zen Y, Kamihira T, Shimoda S, Harada M, et al. Fractalkine and CX3CR1 are involved in the recruitment of intraepithelial lymphocytes of intrahepatic bile ducts. *Hepatology* 2005; 41: 506–516.
 29. Brand S, Hofbauer K, Dambacher J, Schnitzler F, Staudinger T, Pfennig S, et al. Increased expression of the chemokine fractalkine in Crohn's disease and association of the fractalkine receptor T280M polymorphism with a fibrostenosing disease Phenotype. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 99–106.
 30. Hulshof S, van Haastert ES, Kuipers HF, van den Elsen PJ, De Groot CJ, van der Valk P, et al. CX3CL1 and CX3CR1 expression in human brain tissue: noninflammatory control versus multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003; 62: 899–907.
 31. Echigo T, Hasegawa M, Shimada Y, Takehara K, Sato S. Expression of fractalkine and its receptor, CX3CR1, in atopic dermatitis: possible contribution to skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 940–948.
 32. Umehara H, Bloom ET, Okazaki T, Nagano Y, Yoshie O, Imai T. Fractalkine in vascular biology: from basic research to clinical disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 34–40.
- G. 研究発表**
1. 論文発表
 - 1) Yasuda M, Ito T, Oono T, Kawabe K, Kaku T, Igarashi H, Nakamura T, Takayanagi T. Fractalkine and TGF- β 1 levels reflect the severity of chronic pancreatitis in humans. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6488–6495.
 2. 学会発表
 - 1) 安田幹彦, 伊藤鉄英, 大野隆真, 河邊顕, 五十嵐久人, 宜保淳也, 有田好之, 加来豊馬, 中村太一, 高柳涼一: 脾疾患患者における血清中ケモカイン, サイトカインの検討 第94回日本消化器病学会総会 2008年5月8～10日(福岡).
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)**
1. 特許取得 該当なし
 2. 実用新案登録 該当なし
 3. その他 該当なし

膵星細胞の細胞外基質より受ける影響

研究報告者 木原 康之 産業医科大学消化器・代謝内科 講師

共同研究者

浅海 洋, 田口雅史, 原田 大 (産業医科大学消化器・代謝内科)

【研究要旨】

慢性膵炎の膵組織は膵実質の脱落、間質への細胞外マトリックス(ECM)の沈着、線維化が特徴的である。慢性膵炎においては、ECMのコンポーネントが変化し、正常膵組織に多く見られるⅣ型コラーゲンではなく、Ⅰ型コラーゲンが主体となり、膵星細胞(pancreatic stellate cell; PSC)を取り囲むECMの変化がPSCに影響を与えることも予想される。今回、ECMコートディッシュにラットPSCを接着、培養し、ECMの差異におけるPSCへの影響を検討した。Ⅳ型コラーゲン培養PSCに比べ、Ⅰ型コラーゲン培養PSCでは、ECM合成、サイトカイン合成が増強するのみならず、サイトカイン受容体の発現も増強した。Ⅰ型コラーゲンは、接着したPSCを刺激し、ECM産生、サイトカイン産生を促し、線維化を進めるのみならず、PSCをより活性化させる可能性が示唆された。

A. 研究目的

慢性膵炎は膵実質の脱落と線維化を特徴とする慢性進行性の疾患であるが、病因や進展機序について不明な部分が多く根本的な治療法もない難治性膵疾患である。1998年に膵線維化の中心的役割を果たす膵星細胞(pancreatic stellate cell; PSC)が分離・同定されてから^{1,2)}、PSCを用いたin vitroの研究を中心に膵線維化進展の機序が解明されつつある。

慢性膵炎では線維化の進展に伴い、膵組織内の細胞外基質(extracellular matrix)の構成が変化し、正常膵ではⅣ型コラーゲンやラミニンが主体であるのに対し、慢性膵炎膵組織においては、Ⅰ型コラーゲンやⅢ型コラーゲンが中心となる³⁾。PSCがECMを合成・分泌することにより膵線維化が進展し、膵組織のECMコンポーネントも変化するが、PSC周囲のECMの変化により接着細胞であるPSCがどのような影響を受けるかについては未だ検討されていない。そこで、今回我々はECMの差異がPSCに与える影響について検討した。

B. 研究方法

Wistar系雄性ラット(200～250 g)より膵臓を摘出し、既報に準じて¹⁾ PSCを分離・培養

し、2～3系代目を実験に供した。10%牛胎児血清(fetus bovine serum; FBS)加Dulbecco's modified eagle medium (DMEM)で24時間培養後、0.1% FBS加DMEMに培地を変更し、さらに24時間培養した。その後、Ⅰ型コラーゲン、Ⅳ型コラーゲン、フィブロネクチンをコートしたディッシュにPSCを撒き、以下の項目について検討を行った。①インテグリン受容体発現をRT-PCRおよび免疫染色にて、②PSCのECMに対する接着能をadhesion assayにて、③コラーゲン分泌能をSirius red dye assayにて、④ECM・サイトカイン関連遺伝子として、Ⅰ型プロコラーゲン、フィブロネクチン、transforming growth factor (TGF)- β 1、TGF- β Ⅱ型受容体、PDGF α 及び β 受容体のmRNA発現を定量的RT-PCRにて、⑤Focal adhesion kinase (FAK)活性をWestern blot法にて検討した。

(倫理面への配慮)

本実験は、本学の動物実験および飼育倫理委員会の承認を得、動物愛護の配慮のもとに行った。

C. 研究結果

RT-PCR及び免疫染色にて、遺伝子・蛋白

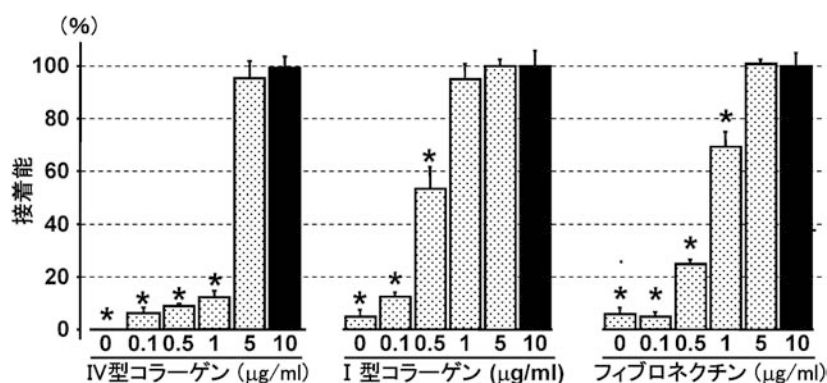


図1 ECMに対するPSCの接着能

各濃度のⅣ型コラーゲン、Ⅰ型コラーゲン、フィブロネクチンをコートしたペトリディッシュに対するPSCの接着能を、adhesion assayにて検討した(それぞれ10 µg/mlを100%として算出)．平均値±標準偏差，n=6，* P <0.01 vs. 10 µg/ml

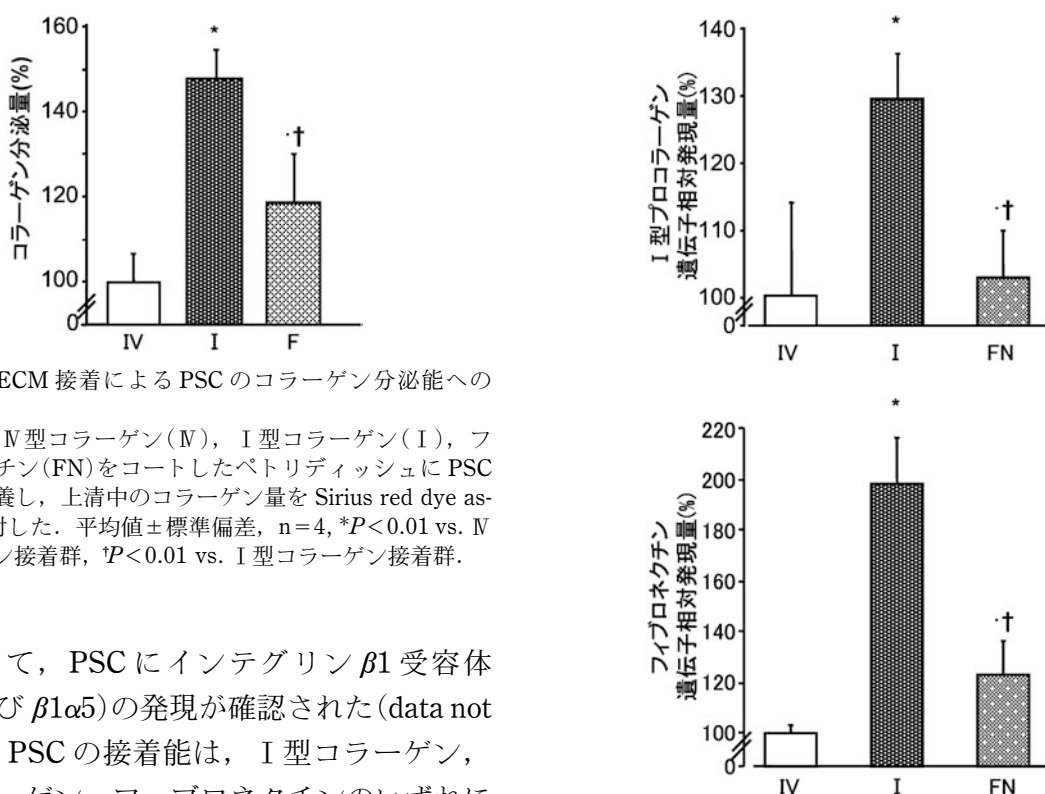


図2 各種ECM接着によるPSCのコラーゲン分泌能への影響

10 µg/mlのⅣ型コラーゲン(Ⅳ)，Ⅰ型コラーゲン(Ⅰ)，フィブロネクチン(FN)をコートしたペトリディッシュにPSCを48時間培養し，上清中のコラーゲン量をSirius red dye assayにて検討した．平均値±標準偏差，n=4，* P <0.01 vs. Ⅳ型コラーゲン接着群，† P <0.01 vs. Ⅰ型コラーゲン接着群．

レベルにて，PSCにインテグリン β 1受容体(β 1 α 1及び β 1 α 5)の発現が確認された(data not shown)．PSCの接着能は，Ⅰ型コラーゲン，Ⅳ型コラーゲン，フィブロネクチンのいずれにおいても，ディッシュにコートするECMの濃度に依存し，5～10 µg/mlで接着能は平衡に達した(図1)．

Ⅰ型コラーゲンコートディッシュ(10 µg/ml)にて培養したPSCでは，Ⅳ型コラーゲン及び，フィブロネクチンと比較して，上清中のコラーゲン量が増加し，Ⅰ型プロコラーゲン及びフィブロネクチンの遺伝子発現が増強した(図2，3)．一方，TGF- β 1，TGF- β Ⅱ型受容体，PDGF α 及び β 受容体の遺伝子発現は，Ⅰ型コラーゲンコートディッシュ培養PSCのみならず，フィブロネクチンコートディッシュ培養PSCにおいてもⅣ型コラーゲンコートデ

図3 各種ECM接着によるPSCのECM関連遺伝子発現への影響

10 µg/mlのⅣ型コラーゲン(Ⅳ)，Ⅰ型コラーゲン(Ⅰ)，フィブロネクチン(FN)をコートしたペトリディッシュにPSCを24時間培養し，定量的RT-PCR法にて，Ⅰ型プロコラーゲンおよびフィブロネクチンの遺伝子発現量を検討した．平均値±標準偏差，n=4，* P <0.01 vs. Ⅳ型コラーゲン接着群，† P <0.01 vs. Ⅰ型コラーゲン接着群．

ィッシュ培養PSCと比較して有意に増強された(図4)．

インテグリン受容体刺激において重要なシグナルとして知られるFAKは，Ⅰ型コラーゲン接着1時間後に有意にリン酸化された(図5A)．PSCの各ECMへの接着におけるリン酸化

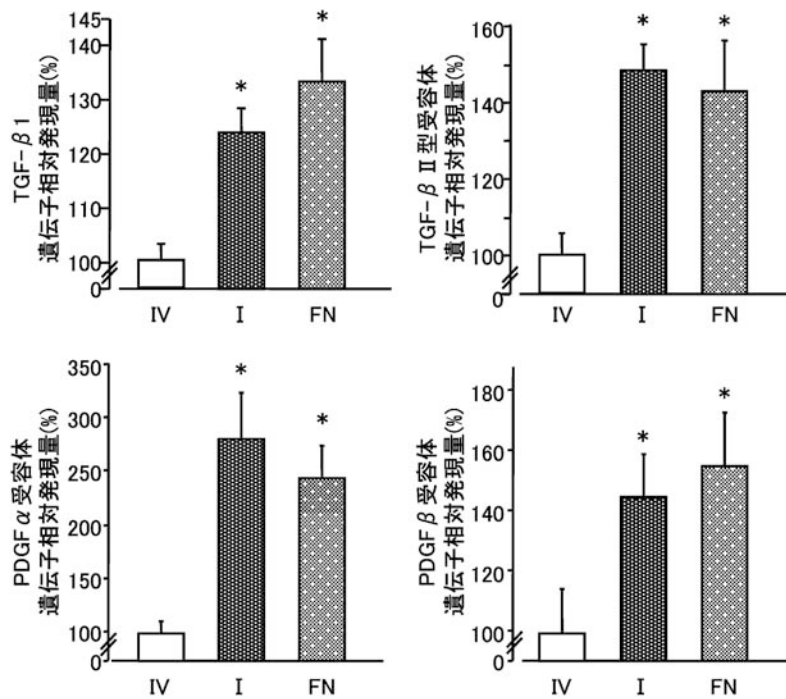


図4 各種ECM接着によるPSCのサイトカイン・サイトカイン受容体関連遺伝子発現への影響

10 μ g/mlのⅣ型コラーゲン(Ⅳ), Ⅰ型コラーゲン(Ⅰ), フィブロネクチン(FN)をコートしたペトリディッシュにPSCを24時間培養し, 定量的RT-PCR法にてTGF- β 1, TGF- β II型受容体, PDGF α 及び β 受容体の遺伝子発現量を検討した. 平均値 \pm 標準偏差, n=4, * P <0.01 vs. Ⅳ型コラーゲン接着群.

FAKの発現はsuspensionと比較して, Ⅰ型コラーゲン, Ⅳ型コラーゲン, フィブロネクチンのいずれも接着1時間後には有意に増強したが, Ⅰ型コラーゲンあるいはフィブロネクチン接着において, Ⅳ型コラーゲン接着と比較して有意に増強された(図5B).

D. 考察

PSCはECMとの接着において最も重要な受容体のひとつであるインテグリン β 1受容体ファミリーを有していた. 本研究と同様に, 近年PSCにインテグリン β 1受容体ファミリーの発現を認めると報告されている⁴⁾. またFAKのリン酸化も認められたことから, これを介してECMに接着すると考えられた. コラーゲン分泌量及びECM関連遺伝子(Ⅰ型プロコラーゲン, フィブロネクチン)発現は, PSCの接着するECMによって有意に差が認められ, Ⅰ型コラーゲン>フィブロネクチン>Ⅳ型コラーゲンであった. 一方, サイトカイン関連遺伝子(TGF- β 1, TGF- β II型受容体, PDGF α 及び β 受容体)は, Ⅰ型コラーゲン \equiv フィブロネクチン>Ⅳ型コラーゲンの順であり,

FAKの活性化もこれに似ていた. 今回, Ⅰ型コラーゲンはPSCのECM合成, サイトカイン・受容体合成の両者, フィブロネクチンはサイトカイン・受容体の合成をそれぞれ促進する可能性が示唆された.

PSCと遺伝子相同性の高い肝星細胞においては, フィブロネクチンと競合して β 1 α 5インテグリン受容体に結合するArg-Gly-Asp(RGD)配列のペプチドが, 四塩化炭素慢性肝障害モデルにおける肝線維化を抑制したという報告もあり⁵⁾, 肝線維化においても, PSCのⅠ型コラーゲンやフィブロネクチンへの接着を阻害することで, PSCの活性化を抑制するなど肝線維化に対する治療に繋がる可能性がある.

なお, PSCのそれぞれのECMへの接着によるECM合成における差異はFAK活性化の結果とも異なっており, インテグリン受容体におけるもうひとつの重要なシグナルであるintegrin linked kinase (ILK)への影響などを含めた今後のさらなる検討が必要である.

E. 結論

慢性肝炎の線維化肝において認められる

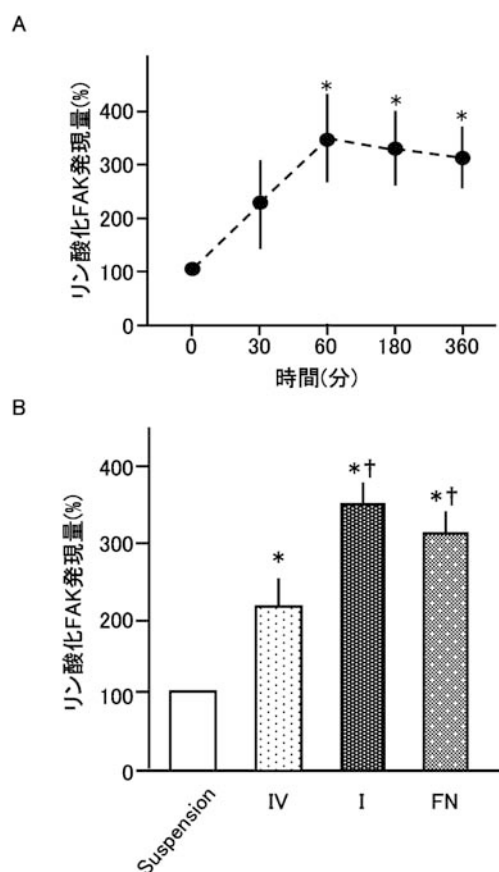


図5 PSCのECM接着によるFAK活性化へ与える影響
 A) 10 μ g/mlのI型コラーゲンをコートしたペトリディッシュにPSCを接着させ、0分、30分、60分、180分、360分培養後のFAKのリン酸化をWestern blot法にて検討した。
 B) 10 μ g/mlのIV型コラーゲン(IV)、I型コラーゲン(I)、フィブロネクチン(FN)をそれぞれコートしたペトリディッシュにPSCを接着させ60分培養後のFAKのリン酸化をWestern blot法にて検討した。平均値 \pm 標準偏差, n=4, * P < 0.05 vs. 0分(suspension), † P < 0.05 vs. IV型コラーゲン接着群。

ECMによって、PSCがより活性化され、膵線維化を進展する可能性がある。

F. 参考文献

1. Apte MV, Haber PS, Applegate TJ, Norton ID, McCaughan GW, Korsten MA, Pirola RC, Wilson JS. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut* 1998; 43: 128-133.
2. Bachem M, Schneider E, Grob H, Weidenbach H, Schmid RM, Menke A, et al. Identification, culture and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology* 1998; 115: 421-432.
3. Kennedy RH, Bockman DE, Uscanga L, Choux R, Grimaud JA, Sarles H. Pancreatic extracellu-

lar matrix alterations in chronic pancreatitis. *Pancreas* 1987; 2: 61-72.

4. Masamune A, Kikuta K, Watanabe T, Satoh K, Hirota M, Hamada S, Shimosegawa T. Fibrinogen induces cytokine and collagen production in pancreatic stellate cells. *Gut* 2008; Epub ahead of print.
5. Kotoh K, Nakamuta M, Kohjima M, Fukushima M, Morizono S, Kobayashi N, Enjoji M, Nawata H. Arg-Gly-Asp (RGD) peptide ameliorates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis via inhibition of collagen production and acceleration of collagenase activity. *Int J Mol Med* 2004; 14: 1049-1053.

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表

Asaumi H, Watanabe S, Taguchi M, Kihara M and Otsuki M. The stimulatory effects of various extracellular matrix on rat pancreatic stellate cells. Joint meeting of the European Pancreatic Club and the International Association of Pancreatology. Lodz, POLAND. 2008年6月25~28日

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許所得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

膵機能低下と NAFLD および NASH の発生機序に関する研究

研究報告者 伊佐地秀司 三重大学大学院肝胆膵・移植外科学 教授

共同研究者

加藤宏之，堯天一亨，小西康信，安積良紀，岸和田昌之，水野修吾，白井正信，
櫻井洋至，田端正己（三重大学大学院肝胆膵・移植外科学）

【研究要旨】

目的：我々は未だ明らかにされていない膵切除後の膵機能低下と非アルコール性脂肪肝 (NAFLD) および非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) 発生との因果関係を解明する目的で、膵頭十二指腸後の症例を対象とした臨床研究を行った。

対象：2007年4月から2008年10月までに、当科にて施行した PD 症例34例（膵癌27例，IPMN13例，胆管癌7例，その他7例）を対象とした。なお、術前から NAFLD を呈していた症例は1例もなかった。

方法：術後 CT 値が 40 HU 以下となった症例を手術に関連した NAFLD (術後 NAFLD) と定義した。周術期の既知の様々な独立因子から NAFLD の危険因子を同定，これをもとに Postoperative NAFLD scoring system を考案し，その有用性を検討した。

結果：Postoperative NAFLD は35.3% (12/34) で発症し，うち2例は肝生検にて NASH と診断された。術前後における CT 値は術前 62.4 ± 8.02 ，術後 43.9 ± 20.7 と有意に低下していた ($p < 0.001$)。危険因子としては単変量解析で1.膵管上皮由来病変か否か，2.膵切除量，3.術後栄養状態，4.術後下痢の有無，5.術後血糖コントロールが危険因子として挙げられた。この結果をもとに Postoperative NAFLD scoring system ($2 \times 5 = 10$) を策定し術後 CT 値減少率 (%) との関係を見ると有意な相関関係を示し ($r = 0.8497$ $p < 0.001$)，Score が6点以上では92% (11/12) で NAFLD が発生した。

結語：NAFLD は PD 術後比較的高率に発生し，NASH へと移行する症例も認められた。また NAFLD の発生予測には我々が考案した scoring system が有用であった。

A. 研究目的

我々は膵広範切除後に，術後早期から晩期にわたって30%前後の割合で脂肪肝が発生することを明らかにしている^{1,2)}。しかし，これまで脂肪肝の発生機序が不明な上に確固たる治療法がないために，この臨床上重要な課題は放置されてきた。また最近，我々は膵頭十二指腸切除後1ヶ月目に肝生検にて NASH と診断し得た1例を経験した (図 1ab)。

そこで膵機能低下と NAFLD および NASH 発生との因果関係を解明する目的で，まず臨床的に膵切除後，特に膵頭十二指腸切除後の症例を対象とした研究を開始したので，その中間結果を報告する。

B. 研究方法

対象：2007年4月から2008年10月までに当科にて施行した膵頭十二指腸切除症例34例 (平均年齢67.15歳，男：女 = 25：9，膵癌16例，IPMN9例，胆管癌3例，その他9例) を対象とした。

方法：術前後の CT 値を比較し，術後 CT 値が 40 HU 以下となった症例を手術に関連した NAFLD (術後 NAFLD) と定義した。術前因子 (年齢，性別，術前 BMI，術前糖尿病の有無，術前貧血の有無，術前肝機能障害の有無，原疾患)，術中因子 (幽門輪温存の有無，門脈合切の有無，膵頭神経叢温存の有無，膵線維化の有無，膵切除量)，術後因子 (術後栄養状態，術後感染の有無，術後血糖コントロール，術後 ALB 値，術後 Hb 値) から術後 NAFLD の危険

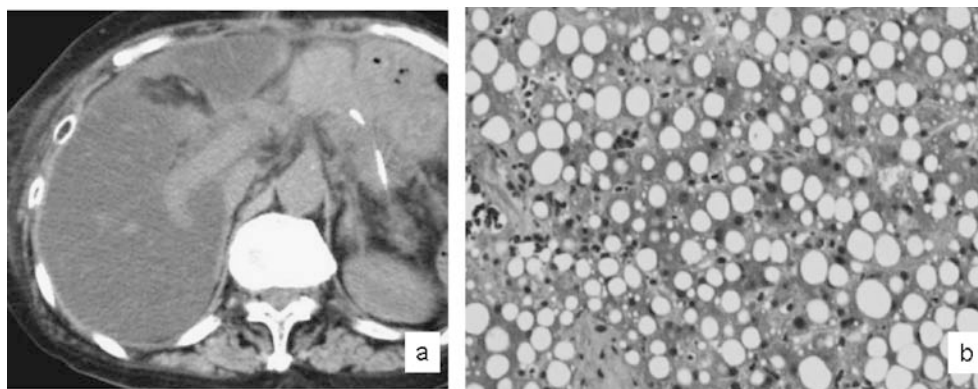


図1 a: IPMN に対して幽門輪温存膵頭十二指腸切除を施行したところ術後32日目 CT にて高度脂肪肝(4 HU)を指摘された.
b: 肝機能異常(AST: 432 IU/l ALT: 306 IU/l)を認めたため肝生検を施行したところ Brunt 分類 stage2 の MASH と診断された.

因子を同定した. これらをもとに術後 NAFLD の発生を予測することを目的として Postoperative NAFLD scoring system を策定し, score と CT 値減少率(%): (術前 CT 値 - 術後 CT 値)/術前 CT 値 \times 100との相関関係を検討した. 2 群間の検定には t 検定もしくは X^2 検定, 関連 2 群間の相関関係は相関係数の検定を用い $p < 0.05$ で有意差ありと判定した.

C. 研究結果

術後 NAFLD の発生率は 35.3% (12/34) と比較的高率であった. 極度に CT 値が減少した症例もしくは肝機能異常 (AST ≥ 100 IU/l, ALT ≥ 100 IU/l) を認めた 4 症例に肝生検が施行されており 2 例で brunt 分類 stage2 の NASH と診断された.

また術前後における CT 値の平均を比較すると, 術前は 62.4 ± 8.02 HU であったのに対し, 術後は 43.9 ± 20.7 HU と有意に低下していた ($p < 0.001$) (図 2).

CT 値減少率の平均は $31.3 \pm 34.2\%$ であり CT 値減少率 40% 以上の症例と術後 NAFLD の症例 (術後 CT 値 40 HU 以下) は完全に一致していた. 危険因子としては単変量解析で 1. 膵管上皮由来病変か否か, 2. 膵切除量, 3. 術後栄養状態, 4. 術後下痢の有無, 5. 術後血糖コントロールの 5 項目が挙げられた (Table 1).

さらに, これらの 5 項目から Postoperative NAFLD scoring system ($2 \times 5 = 10$) を策定してみた (図 3). まず膵管上皮由来病変か否かについては浸潤性膵管癌, 膵管内乳頭状腫瘍

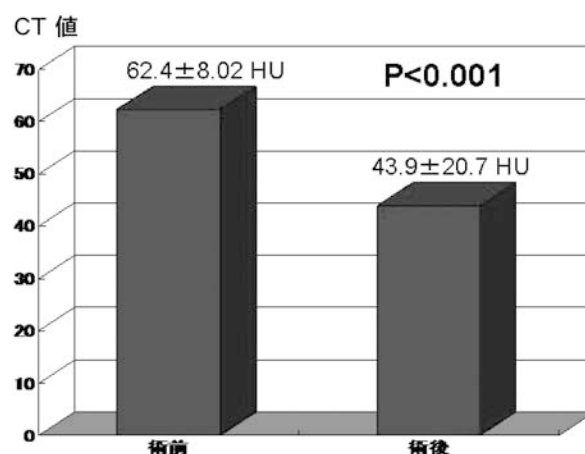


図2 術前後における CT 値を比較すると, 術前は 62.4 ± 8.02 HU であったのに対し, 術後は 43.9 ± 20.7 HU と有意に低下していた

Table 1 術後 NAFLD の危険因子 (χ^2 検定)

NAFLD 危険因子	ODD 比	P 値
原疾患膵管由来 or not	7.2	0.0489
膵切除量	19	0.0013
術後栄養状態	42	0.0004
術後下痢	31.2	0.0003
術後血糖コントロール	13.2	0.0225

(IPMN) を 2 点とし, 胆管癌などの非膵管上皮由来の症例は 0 点とした. 次に膵切除量に関しては門脈上で膵切除した場合 (切除率 $< 25\%$) を 0 点, SMA 直上で膵切除した場合 (切除率 $25 \sim 50\%$) を 1 点, SMA より左側で膵切除した場合 (切除率 $\geq 50\%$) を 2 点と設定した. 術後栄養状態に関しては, 当科では通常術後 10 日目で静脈栄養フリーとなるが, なんらかの摂食障害 (胃排泄遅延, 術後食欲不振) が原因で静脈栄養を継続または再開しなければならな

	0	1	2
原疾患	それ以外	*	膵管由来
膵切除量 (膵切除線)	25%以下 門脈上	25~50% SMA上	50%以上 SMA左側or DP併施
術後栄養状態	良好	やや不良*	周術期を越えて不良
術後下痢	無し	有り**	周術期を越えて継続
術後血糖 コントロール	良好	やや不良***	周術期を越えてインスリンが必要

図3 Postoperative NAFLD scoring system

*術後30日以内に摂食障害、胃排泄遅延などが原因で予期せぬ静脈栄養を必要とした症例

**術後30日以内に下痢が原因で治療が必要であった症例

***術後8~30日間インスリンによる管理が必要であった症例(0~7日は routine でインスリン使用)

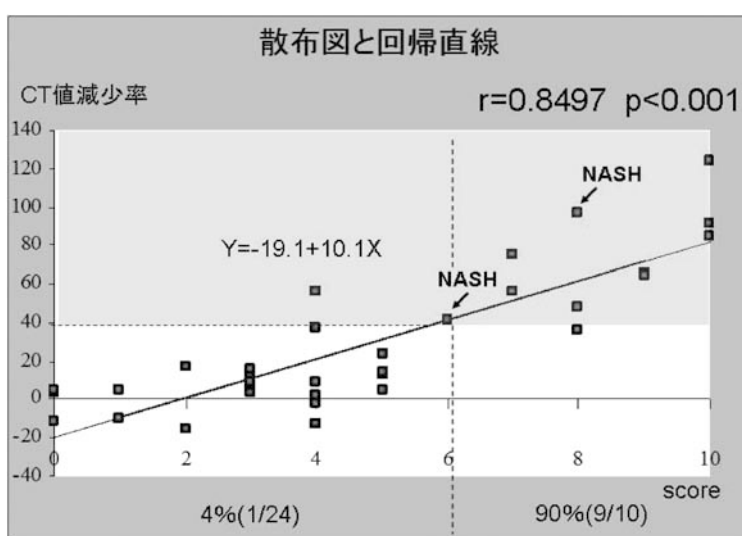


図4 Postoperative NAFLD scoring system (2×5点)とCT値減少率の関係

CT値減少率(%) = (術前CT値 - 術後CT値 / 術前CT値) × 100

CT値減少率: 40% ≡ 術後CT値: 40 HU

い症例を1点、術後30日を越えても摂食障害が継続して静脈栄養が必要な症例を2点とした。術後下痢に関しては、下痢が発生しなかった症例(治療の必要がなかった症例)は0点、術後30日以内に下痢に対する治療が必要であった症例は1点、術後30日を越えても下痢のコントロールが不良であった症例は2点とした。術後血糖コントロールに関しては当科では術後7日以内は全症例でインスリンによる血糖コントロールを施行しているがコントロールが良好な症例は7日目以降、インスリンフリーとしている。したがって術後7日間のみインスリンコントロールを施行した症例は0点、7日目以降もインスリンコントロールが必要であった症例は1点、30日を越えてもイン

スリンコントロールが必要であった症例は2点とした。

Postoperative NAFLD scoreの平均値は 4.85 ± 3.04 で術後CT値減少率(%)との関係を見ると有意な正の相関関係を示していた($r = 0.8497$ $p < 0.001$) (図4)。さらにScoreのcut off値を6点とすると6点以上では92%(11/12)で術後NAFLDが発生し、6点以下では術後NAFLDの発生は4.5%(1/22)にとどまった(図4)。

D. 考察

戦後の日本の食生活の変化にともない、糖尿病や高脂血症などの生活習慣病が急増しているが、脂肪肝の増加も報告されている³⁾。

一方、非アルコール性脂肪肝炎(nonalcohol-

ic steatohepatitis: NASH)は1980年に Ludwig らが提唱した概念で、非飲酒者にもかかわらず、アルコール性肝炎に類似した病理所見を認め、進行性に肝硬変から肝不全に至ることもあるとされている^{4,5)}。また欧米では肝障害を有する非飲酒の脂肪肝症例に対して、侵襲的検査である肝生検を敢えて施行せずに NAFLD (nonalcoholic fatty liver disease) という臨床診断を下すことがあり、日本でもその疾患概念は定着しつつある。

このように NAFLD 及び NASH の疾患概念は近年、注目を集めているが、膵機能低下と NAFLD および NASH の発生機序に関する報告及び研究はほとんどなされていないのが現状である。我々は以前より膵広範切除後に、膵内外分泌機能が低下することが原因で術後早期から晩期にわたって30%前後の割合で脂肪肝が発生することを明らかにしており^{1,2)}、Tanaka らは近年、膵外分泌機能不全が原因で発症した NASH の1例を報告している⁶⁾。

しかし、膵切除後膵機能低下に伴う NAFLD および NASH の発生機序は未だ不明であり、一度発症すると確立された治療法もないのが現状である。また NAFLD の中でも進行性の NASH を発症した場合は極めて嚴重な follow up が必要であると考えられる。したがって膵切除後 NAFLD 及び NASH の危険因子を同定し発症を予測することが必要不可欠であると考え我々は当研究を開始した。

今回の研究で術後 NAFLD の危険因子として1.膵管上皮由来病変か否か、2.膵切除量、3.術後栄養状態、4.術後下痢の有無、5.術後血糖コントロールの5項目が挙げられた。まず原疾患に関しては膵管癌もしくは IPMN が主な膵管上皮由来病変であるが、何れも主病変が膵管を閉塞させることにより慢性膵炎を引き起こし、これが引き金となって膵内外分泌能を低下させることが NAFLD 発生の一因となると我々は考えている。さらにこれらの疾患は膵管に沿って病変が進展する性格を持つことから、広範膵切除つまり膵切除量の増加につながるものと考えられた。術後栄養状態に関しては膵切除後、特に膵頭十二指腸切除後は複雑な消

化管再建が加わり、胃排泄遅延などが発症する可能性も他の消化管手術に比べて高いことが知られている。したがって術後摂食障害が遷延し、低栄養状態、低蛋白血症が継続するとクワシオルコルと同様の dietary steatohepatitis を発症するものと考えられる。術後下痢に関しては術後抗生剤投与に伴う偽膜性腸炎、膵周囲神経叢郭清に伴う神経性下痢が主な要因であり、これらが持続すると腸粘膜の萎縮が起こり bacterial translocation が誘発される。これに伴い系門脈的にエンドトキシンが肝に流入し Kupper 細胞が活性化され、脂肪の取り込みの増大につながるものと我々は考えている。また術後血糖に関しても耐糖能異常から尿中の亜鉛濃度が上昇しこれに伴う亜鉛欠乏が原因で腸粘膜の萎縮を来たすことが一因ではないかと考えている⁷⁾。これらの危険因子が複雑に重なり合うことで膵切除、特に膵頭十二指腸切除が他の消化管手術に比して高率に術後 NAFLD を発生させていることが本研究から推測される。

これらの危険因子を総合的に評価し術後 NAFLD の発生を予測もしくは予防する目的で我々は Postoperative NAFLD scoring system を考案した。Score と CT 値減少率の関係をみると、これらは極めて強い正の相関関係を示すことが分かった。さらに score の cut off 値を6点とすると感度91.7%、特異度95.5%、正診率94.1%であり術後 NAFLD 発生を予測するに当たって極めて有用な score であることが確認された。

これらの結果から膵癌もしくは IPMN に対して大量膵切除(SMA 左側で膵切離)を行い、術後低栄養、下痢、血糖コントロール不良が続くような症例では術後高率に NAFLD もしくは NASH を発生する可能性があるため、積極的な膵内外分泌補充療法が必要であると我々は考えている。術後 NAFLD の治療に関しては確立された strategy はないものの、術後早期よりインスリン補充療法を行うことで脂肪肝の発生率を低下させるという報告⁸⁾や経腸栄養を経静脈栄養と併施して栄養管理を行ったほうが脂肪肝の発生を抑制できたという報告⁹⁾も認めるため、このような栄養管理は積極的に行うべ

きである．さらに我々は膵広範切除には膵内外分泌機能の低下により亜鉛欠乏状態となり，これがまた膵内外分泌能の低下を増強させるという悪循環を構成することを明らかにしており，術後早期より経口的に亜鉛補充を行って膵機能の改善に努めるべきであると考えている^{7,10)}．

E. 結論

膵切除後，特に膵頭十二指腸切除後にNAFLDは比較的高率に発生しNASHへと移行する症例も認めた．また我々が考案したPostoperative NAFLD scoring systemは術後NAFLD発生予測に有用でありscoreが6点以上の症例では積極的な膵内外分泌補充療法と亜鉛を含む微量元素の補充，経静脈栄養に加えて経腸栄養の併施が重要であると考えられた．

F. 参考文献

1. 水本龍二，世古口務，伊佐地秀司．膵切除後の代謝と病態．肝臓・膵臓・胆道の外科—研究と臨床—1994; 1: 496-500.
2. 水本龍二，岩崎 誠．脂肪肝の臨床—外科的侵襲における脂肪肝．肝胆膵 1982; 5: 607-613.
3. 矢島義昭，大槻昌夫，鈴木勃志，他：脂肪肝の疫学（超音波集団検診の調査から）．日消誌 1986; 83: 2139-2144.
4. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc 1980; 55: 434-438.
5. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. Gastroenterology 1999; 116: 1413-1419.
6. Tanaka N et al. Pancreatic exocrine insufficiency: a rare cause of nonalcoholic steatohepatitis. Am J Gastroenterol. 2008; 103: 245-246.
7. 木田英也．膵広範切除後の亜鉛代謝の研究．膵臓 1991; 6: 15-27.
8. 水本龍二，喜多豊志．膵切除後糖尿病．外科治療 1986; 55: 843-850.
9. 東口高志，喜多豊志，水本龍二．術前術後の栄養管理—われわれのプログラム—．膵頭十二指

腸切除術．消化器外科 1988; 11: 475-482.

10. 中村菊洋．膵管閉塞線維化膵における亜鉛代謝と膵内外分泌機能の研究．膵臓 1991; 6: 1-13.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 伊佐地秀司【急性膵炎の診療 update 外科的治療】ネクロセクトミー．医薬の門 2008; 48: 1 p56-61.

2. 学会発表

- 1) 伊佐地秀司，忘れられないこの研究・この症例・この手術 急性膵炎重症におけるbacterial translocationの意義と対策 第39回日本膵臓学会大会 横浜 2008年7月30日～31日

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

呼気による膵外分泌機能検査—胃運動を考慮して—

研究報告者 中村光男 弘前大学医学部保健学科 病因病態検査学 教授

共同研究者

松本敦史（弘前大学医学部 内分泌・代謝内科，青森市民病院第一内科）

野木正之（弘前大学医学部 保健学科）

柿崎綾女，佐藤江里，松橋有紀，田中 光，柳町 幸，丹藤雄介，小川吉司

（弘前大学医学部 内分泌・代謝内科）

【研究要旨】

Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanine¹⁾を用いた呼気膵外分泌機能検査法は，膵外分泌機能不全を診断するための検査法であり，Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanine¹⁾ 300 mg 溶液を経口摂取させた後に経時的に呼気を測定し $\Delta^{13}\text{CO}_2$ ピーク値をもとに評価する。

膵外分泌機能不全患者では，Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanine 服用後，健常者に比べ $\Delta^{13}\text{CO}_2$ (‰)のピーク値は低く，またピークに達するまでの時間は遷延する傾向にあった。

現在は健常者の $\Delta^{13}\text{CO}_2$ (‰)ピーク値の Mean-1.5SD (41.2‰)をカットオフ値としてそれ以下を陽性，即ち膵外分泌機能不全と診断しており，感度・特異度とも良好な結果を得ている²⁾。

一方，これまでに糖尿病例の一部(60例中4例，6.7%)で，偽陽性($\Delta^{13}\text{CO}_2$ ピーク値の低下)を認めた²⁾。

そこで我々は，偽陽性を示す原因として，糖尿病の合併症の1つである胃排出機能低下(糖尿病性胃麻痺)による影響を考え，胃排出機能と本検査法との関連を検討した。

A. 研究目的

慢性膵炎など各種膵疾患を診断する上で，膵外分泌機能の評価は欠かせないものである。膵外分泌機能不全診断のための試験としては，72時間蓄便後に便中脂肪量を測定するバランススタディや6時間蓄尿によるPFD（pancreatic function diognostant）試験³⁾があるが，蓄便は不快・煩雑なものであり，PFD試験は加齢に伴う腎機能低下や残尿のために正確な評価ができない場合がある。

そこで我々は，Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanineを用いた呼気検査による膵外分泌機能不全診断法について検討を重ねてきた。

一方で，本検査法を実用化するためには，偽陽性を呈する疾患・要因についての検討が必要である。

今回我々は，糖尿病例の一部で偽陽性を示す事に注目した。糖尿病患者では自律神経障害の合併による胃運動機能障害，即ち糖尿病性胃麻

痺がしばしば認められる⁴⁾。そこで胃運動機能障害の影響を調べるために，2型糖尿病例および健常例に対し，¹³C-acetateを用いた呼気胃排出機能検査法を行った。

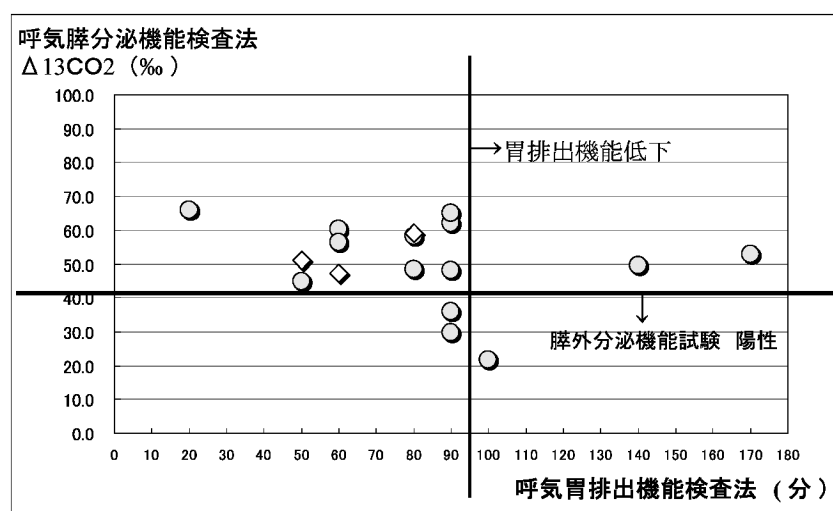
B. 研究方法(倫理面への配慮)

既に呼気膵外分泌機能検査法を施行した17例(膵疾患や胃切除の既往のない2型糖尿病患者14例(偽陽性3例を含む)，健常者3例)に¹³C-acetateによる胃排出能検査法を施行した。

1. 気膵外分泌機能検査法

まず早朝空腹時，被験者の呼気を専用の呼気採取バッグに採取した後に，Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanine 300 mgを溶解した100 ml溶液を被験者に経口投与させ，さらに水200 mlを経口投与させた。その後10分毎に90分後まで被験者の呼気を採取し検査終了とした。

呼気検体は赤外分光分析装置 UBiT-IR 300



◇：健常例 ○：糖尿病例

Figure 1 呼気膵外分泌機能検査法および呼気胃排出機能検査法

(大塚製薬)を用いて測定し、呼気中¹³CO₂の¹²CO₂に対する割合(¹³CO₂存在比)が、前値と比較しどの程度変化しているか〔Δ¹³CO₂(%)〕を経時的に求め、Δ¹³CO₂ピーク値をもとに診断した。(Δ¹³CO₂ピーク値が健常者のMean-1.5SD(41.2%)より低値の場合を陽性(膵外分泌機能不全)とした²⁾。)

2. 呼気胃排出機能検査法

早朝空腹時、被験者の呼気を専用の呼気採取バッグに採取した後に、被験者に¹³C-acetate 100 mgを混合したOKUNOS-A 300 ml(300 kcal)を服用させ、10分間隔で180分後まで呼気を採取した。Δ¹³CO₂のピーク出現時間(Tmax)を胃排出機能の指標とし、健常者のMean±1.5SD(26.8~96.0分)を正常範囲として評価した⁵⁾。

(倫理面への配慮)

青森市民病院にて、通院患者及び入院患者を対象に本検査法を施行した。本検査法を実施するにあたり、青森市民病院倫理調査委員会に倫理審査申請を行い、本検査法を行う許可を得た。

研究者が被験者に十分な説明を行い、同意が得られた場合、被験者は同意書に署名し、これを研究者が保管した。

また呼気¹³CO₂分析・測定検査は弘前大学保健学科の研究室で行った。検査後は呼気採取バッグを医療廃棄物として廃棄し、検体の保管は

一切行わなかった。またデータの取り扱いについては個人が特定されないように配慮し、当該研究以外には用いず、機密下に保持した。結果の公表に関しても、プライバシーの保護を最優先した。

C. 研究結果

健常者3例では、呼気膵外分泌機能検査法での偽陽性例は無く、呼気胃排出機能検査法でも正常であった。一方、Δ¹³CO₂ピーク値の低下した3例を含む2型糖尿病14例を対象に行った¹³C-acetateを用いた呼気胃排出機能検査法において、偽陽性を示した3例のTmaxは、いずれも90分以上であり、胃排出機能は、正常下限または低下を認めた(Figure 1)。

D. 考察

本検査法で用いられるBenzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanineは、経口投与された後、胃では消化も吸収もされずに十二指腸に排出され、十二指腸内で膵消化酵素carboxypeptidaseによりBenzoyl-L-Tyrosine及び[1-¹³C]Alanineに加水分解される。その後、分解された[1-¹³C]Alanineが小腸粘膜から吸収され、その一部は、主に肝臓で代謝され、肝細胞内のTCA回路でエネルギー産生に利用され、最終的に¹³CO₂として、肺胞気(呼気)中に排出される。

そのため膵外分泌機能が保たれていれば、分

解された[1-¹³C]Alanineは速やかに小腸粘膜から吸収され $\Delta^{13}\text{CO}_2$ がピークを形成する。

しかし膵外分泌機能が正常であっても、肝臓の代謝機能が低下している場合や、胃排出機能が低下した場合には、それらの影響により $\Delta^{13}\text{CO}_2$ ピーク値が低下する可能性があり、膵外分泌不全と鑑別できない場合がある。

そこで今回、糖尿病例において胃排出機能の側面から検討した。

糖尿病例において、呼気膵外分泌機能検査法で $\Delta^{13}\text{CO}_2$ ピーク値が低値を示したのは、血糖コントロールの悪い例(HbA1c高値)とは限らず、HbA1c(血糖コントロール)は呼気膵外分泌機能検査法に影響を及ぼさないことを既に報告した⁷⁾。

一方、糖尿病の合併症として網膜症、腎症、神経障害が挙げられ、神経障害は末梢神経障害と自律神経障害に分類される。自律神経の障害により、糖尿病性の胃排出機能低下(糖尿病性胃麻痺)が出現する。糖尿病性胃麻痺を有する患者では、胃排出機能の低下により摂取した食物が胃からスムーズに排出されないため、血糖が短時間では上昇せず、血糖コントロールは不安定になる⁶⁾。胃排出機能測定法として¹³C-acetateによる呼気検査法の他にアセトアミノフェン法、ラジオアイソトープ法がある⁸⁾が、簡便かつ反復できる安全な呼気検査法を用いた。

今回の調査では、呼気膵外分泌機能検査法で偽陽性を示した糖尿病例3例とも胃排出機能は正常下限、または低下しており、偽陽性を呈する原因の1つとして糖尿病性胃運動障害(胃麻痺)が考えられた。

E. 結論

膵疾患や胃切除の既往のない一次性糖尿病例では、糖尿病の合併症に伴う胃排出機能低下(糖尿病性胃麻痺)が一つの成因となり、 $\Delta^{13}\text{CO}_2$ ピーク値は低値を示す事があると考えられた。

Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanineを用いた呼気膵外分泌機能検査法は、膵外分泌機能不全診断のための優れた簡便な検査法であるが、糖尿病例では胃排出機能低下により、偽陽性を

呈することがあるため注意を要する。また偽陽性が疑われる場合には、呼気胃排出機能検査法を用いることで、原因を除外できる可能性がある。

F. 参考文献

- 1) 石井敬基, 河野匡, 伊藤あすか, 他: ¹³C-ジベプチド (Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanine) 呼気テストによる簡易膵外分泌機能検査法. 消化器科, 39: 174-177, 2004.
- 2) 松本敦史, 柳町 幸, 中村光男, 他: Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanine による膵性消化吸収不良診断呼気検査法の臨床応用の可能性. 消化と吸収 30(2); 31-34, 2007.
- 3) Imamura K, Nakamura T, Miyazawa T, et al: Oral administration of chymotrypsin labil peptide for a new test of exocrine pancreatic function (PFT) in comparison with pancreozymin-secretin test. Am J. gastroenterol. 69: 572-578, 1978.
- 4) 中村光男, 笠井富貴夫, 武部和夫: 糖尿病にみられる胃運動異常. MB Gastro 1; 71-76, 1991.
- 5) 渡辺 拓, 中村光男, 梶 麻子, 他: ¹³C-acetate 呼気胃排出機能検査による糖尿病性腎不全患者の胃運動についての検討. ¹³C医学, 10; 12-13, 2000.
- 6) 中村光男, 笠井富貴夫, 武部和夫: 糖尿病にみられる胃運動異常. MB Gastro 1; 71-76, 1991.
- 7) 松本敦史, 野木正之, 中村光男, 他: ¹³C-dipeptide による膵性消化吸収不良診断のための呼気検査法. 消化と吸収 29(1); 6-10, 2006.
- 8) 野木正之, 松本敦史, 中村光男, 他: ¹³C 呼気試験の実際—生命科学の解明に向けて—, 内科部門からの機能評価—胃の排出機能—. 平野修助編, 8-17, ¹³C医学応用研究会, 東京, 2007.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 松本敦史, 柳町 幸, 中村光男. Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanine による膵性消化吸収不良診断呼気検査法の臨床応用の可能性: 消化と吸収, 2008, 30-32, 31-34.

- 2) 松本敦史, 丹藤雄介, 柳町 幸, 野木正之, 柿崎綾女, 佐藤江里, 松橋有紀, 田中光, 小川吉司, 中村光男. 呼吸試験による膵外分泌機能不全診断法—疑陽性を来す疾患についての検討—: 安定同位体と生体ガス, 2008, 1, 50-55.
 - 3) 松本敦史, 野木正之, 鈴木理恵, 柿崎綾女, 佐藤江里, 松橋有紀, 田中 光, 柳町 幸, 丹藤雄介, 小川吉司, 須田俊宏, 中村光男. Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanine を用いた膵外分泌呼吸検査法の信頼性: ¹³C 医学, 2008, 18, 26-27.
 - 4) 松本敦史, 野木正之, 柿崎綾女, 佐藤江里, 松橋有紀, 田中 光, 柳町 幸, 丹藤雄介, 小川吉司, 増田光男, 中村光男. 呼吸試験による膵外分泌機能検査法の可能性: 胆膵の生理機能, 2008, 24-1, 33-36.
2. 学会発表
- 1) 松本敦史, 今 昭人, 野木正之, 柿崎綾女, 佐藤江里, 松橋有紀, 田中 光, 柳町 幸, 丹藤雄介, 小川吉司, 増田光男, 中村光男『高齢者における膵消化酵素製剤投与前後での栄養指標の比較』第33回 老年消化器病研究会 主題演題(高齢者の栄養管理及び NST の諸問題), ロイヤルパークホテル(東京), 平成20年 5 月30日
 - 2) 松本敦史, 野木正之, 田村綾女, 佐藤江里, 松橋有紀, 田中 光, 柳町 幸, 丹藤雄介, 小川吉司, 増田光男, 中村光男『呼吸試験による膵外分泌機能検査法-肝硬変患者に関する検討-』第25回日本胆膵生理機能研究会, ばるるプラザ京都, 平成20年 6 月21日
 - 3) Atsufumi Matsumoto, Yusuke Tando, Miyuki Yanagimachi, Eri Sato, Yoshiji Ogawa, Teruo Nakamura『The evaluation of exocrine pancreatic insufficiency by the breath test using Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanine in pancreatic diabetes』EPC/IAP Joint Meeting 2008, Lodz, Poland, JUNE 28, 2008.
 - 4) 松本敦史, 高島早百合, 今 昭人, 野木正之, 柿崎綾女, 佐藤江里, 田中 光, 柳町 幸, 丹藤雄介, 小川吉司, 増田光男, 中村光男『Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanine を用いた呼吸膵外分泌機能検査法と脂肪および窒素の便中排泄量との関連』第50回日本平滑筋学会 シンポジウム(¹³C 化合物を用いた消化器機能評価法), 弘前ホテルニューキャッスル, 平成20年 7 月 3 日
 - 5) 松本敦史, 今 昭人, 野木正之, 田中光, 柳町 幸, 丹藤雄介, 増田光男, 中村光男『高齢者の膵疾患患者における膵消化酵素補充療法』, 東京・都市センターホテル, 平成20年 7 月19日
 - 6) 松本敦史, 柳町 幸, 丹藤雄介, 野木正之, 柿崎綾女, 佐藤江里, 松橋有紀, 田中光, 小川吉司, 中村光男『膵性糖尿病における膵外分泌機能評価』第39回日本膵臓学会大会 ワークショップ(膵性糖尿病), パシフィコ横浜, 平成20年 7 月31日
 - 7) 松本敦史, 柳町 幸, 丹藤雄介, 野木正之, 柿崎綾女, 佐藤江里, 松橋有紀, 田中光, 小川吉司, 中村光男『呼吸膵外分泌機能検査法において疑陽性をきたす原因』第39回日本膵臓学会大会, パシフィコ横浜, 平成20年 7 月31日
 - 8) 松本敦史, 柳町 幸, 中村光男『Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanine による呼吸膵外分泌機能検査法と PFD 試験との比較』シンポジウム(呼吸をめぐるコンセンサスと将来の展望), 第39回日本消化吸収学会総会, 平成20年10月 4 日
 - 9) 松本敦史, 高島早百合, 柳町 幸, 丹藤雄介, 栗原真澄, 野木正之, 今 昭人, 田中 光, 佐藤江里, 松橋有紀, 須田俊宏, 中村光男『呼吸による膵外分泌不全診断—胃運動の影響—』第24回 ¹³C 医学応用研究会・第11回日本呼吸病態生化学研究会 合同学術大会, 平成20年10月25日
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許所得 該当なし
 2. 実用新案登録 該当なし
 3. その他 該当なし

特発性慢性膵炎疑診例に含まれる Oddi 括約筋機能不全 SOD の検出

研究報告者 朴沢重成 慶應義塾大学病院消化器内科 専任講師

共同研究者

宮田直輝, 山岸由幸, 樋口 肇, 中野 雅, 相馬宏光, 佐伯恵太, 日比紀文
(慶應義塾大学病院消化器内科)

【研究要旨】

日常診療において、上腹部痛(背部痛)及び血中膵酵素上昇を認めるが膵画像所見に乏しい症例に少なからず遭遇することがある。このような症例は、慢性膵炎疑診例として扱われることが多く、原因が明らかでない場合には有効な治療が施されないまま経年に亘って疼痛に苦しむ場合がある。一方、Oddi 括約筋機能不全 SOD が、特発性再発性膵炎の原因および ERCP 後膵炎の危険因子として報告されている。SOD は、内視鏡的乳頭括約筋切除術 EST によってその治療効果が期待される病態である。Milwaukee 分類による膵型 SOD の type II (膵性疼痛と膵酵素上昇・膵管拡張・膵液停滞のうち 1 つまたは 2 つ)には特発性慢性膵炎疑診例と判断されている例、すなわち EST によって臨床症状の寛解が得られる症例が含まれている可能性がある。したがって、慢性膵炎疑診例から EST 適応症例(膵型 SOD の type II)を検出することは臨床上大変重要である。

A. 研究目的

本研究の目的は、特発性慢性膵炎疑診例の中に潜在的に存在する SOD を検出することである。

B. 研究方法

当科において、2005年5月から2008年11月の3年間に ERCP を施行された症例のうち、特発性慢性膵炎疑診例に対しマノメトリーを施行することによって、SOD の有無を検討した。総胆管及び主膵管の両者にスターメディカル社製のⅡチャンネル胆管用内圧カテーテルを各々に挿入し Oddi 括約筋部の内圧を測定した。膵型 SOD の type I 及び type II と判断した場合に EST (小切開)を施行し臨床所見の改善効果を検討した。Type III と判断した場合には自然脱落型膵管ステントの留置のみを行った。

C. 研究結果

特発性慢性膵炎疑診のうち SOD と診断された(4/11, 36.3%)のは全て女性で中年が多く(平均58.7歳)、いずれも type II の膵型 SOD と診断され EST (EST-C, EST-P)を行なっ

た。全例 EST 施行後臨床データ、疼痛ともに長期間改善を維持している(観察期間 2.2 ± 0.8 年)。

また症例数が少なく経過観察期間が短いものの、特発性慢性膵炎疑診症例の中には type II の膵管型 SOD が存在し、EST 治療は劇的な効果を示した。

D. 考察

Tarnasky²⁾らは104例の説明のつきがたい上腹部痛を有する患者を対象とし、SOM, ERCP, EUS, ERCP 下の secretin 試験を施行し、SOD が慢性膵炎の病因に関与しているか検討したところ、65%(68/104)に SOD を認め、22%(23/104)に慢性膵炎を認めた。また、慢性膵炎の87%(20/23)に SOD を認め、SOD は慢性膵炎の有意な危険因子(Odds ratio: 4.6, $p = 0.01$)であると報告している。しかし、このデータは原因不明の上腹部痛を有する104症例のうち、48例(46%)が慢性膵炎と診断できない SOD 症例であったことを示している。今回我々は特発性再発性膵炎疑診例に対し SOM を行ったところ34%(4/11)に SOD を認め、いず

れも type II の SOD であった。対象母集団が異なるものの、40%と高頻度の近似した結果を両者は示しており、(FDを含む)原因不明の腹痛では SOM の測定が大変重要であることを示している。

Tarnasky²⁾らの報告と同様に、慢性膵炎症例を対象として、内視鏡的乳頭括約筋圧測定および膵管内圧測定の検討がなされた報告では慢性膵炎群において、膵管内圧が対照に比し高値であったとの報告が多数ある^{3~6)}。しかしながら、現時点では、SOD が慢性膵炎の病因であることを明かに示す知見は得られていない¹⁾。

Guelrud らは膵型 type II SOD (画像上膵管の拡張を認めないが膵管内圧上昇を認める症例)に対し、胆管括約筋切開、胆管括約筋切開と膵管口拡張、両括約筋の2度切開、両括約筋1度切開による治療を比較したところ、それぞれ28%、54%、77%、86%に症状の改善を認めた。また胆管のみの切開に比し両括約筋切開術は明らかに良好な結果が得られた($P < 0.0005$)。我々も全例に対し両括約筋切開術(EST-P と EST-C)を行ったが、ほぼ全例で症状の改善を認めた。

その後の経過(観察期間 2.2 ± 0.8 年)は良好で採血上明らかな膵酵素の上昇も認められなかった。ただし4例中1例は両括約筋切開術後も軽度上腹部症状を時折訴えることがあり、膵管側括約筋の切開が不十分であった可能性、機能的ディスペプシア(FD)の併存の可能性を考えている。今後は症例の蓄積を行うとともに、切開程度の比較、FDの併存症例におけるEST適応の是非などを慎重に判断する必要があると考えられた。

E. 結論

特発性慢性膵炎疑診例の中には type II の膵型 SOD が多く混在し、EST が臨床症状改善効果をもたらす可能性がある。Type II の SOD の治療方針を決定する際、マノメトリーによる測定は有用であると考えられるが、今後症例数の蓄積が必要である。

F. 参考文献

1. McLoughlin MT, Mitchell RM Sphincter of Oddi dysfunction and pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2007 Dec 21; 13(47): 6333-43. Review.
2. Tarnasky PR, Hoffman B, Aabakken L, Knapple WL, Coyle W, Pineau B, Cunningham JT, Cotton PB, Hawes RH. Sphincter of Oddi dysfunction is associated with chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 1125-1129.
3. Okazaki K, Yamamoto Y, Ito K. Endoscopic measurement of papillary sphincter zone and pancreatic main ductal pressure in patients with chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1986; 91: 409-418.
4. Vestergaard H, Kruse A, Rokkjaer M, Frobert O, Thommesen P, Funch-Jensen P. Endoscopic manometry of the sphincter of Oddi and the pancreatic and biliary ducts in patients with chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 188-192.
5. Laugier R. Dynamic endoscopic manometry of the response to secretin in patients with chronic pancreatitis. *Endoscopy* 1994; 26: 222-227.
6. 西野隆義, 小山祐康, 【乳頭括約筋機能から治療を見直す】乳頭括約筋機能異常は慢性膵炎の原因となるか, 胆と膵(0388-9408)29巻9号 Page 839-843(2008.09).
7. Guelrud M, Plaz J, Mendoza S, Beker B, Rojas O, Rossiter G. Endoscopic treatment in type II pancreatic sphincter dysfunction. *Gastrointest Endosc* 1995; 41: 398.
8. Hogan WJ, Geenen JE. Biliary dyskinesia. *Endoscopy* 1988; 20 Suppl 1: 179-183.
9. Geenen JE, Hogan WJ, Dodds WJ, Toouli J, Venu RP. The efficacy of endoscopic sphincterotomy after cholecystectomy in patients with sphincter-of-Oddi dysfunction. *N Engl J Med* 1989; 320: 82-87.
10. Jeffrey D, Linder, Joshua C. Klapow, Sheri D. Linder, R. N, Incomplete response to endoscopic shincterotomy in patients with sphincter of oddi dysfunction:evidence for a chronic pain dis-

order. *The American Journal of Gastroenterology* 2003 Vol. 98, No. 8.

11. Botoman VA, Kozarek RA, Novell LA, Patterson DJ, Ball TJ, Wechter DG, Neal LA. Long-term outcome after endoscopic sphincterotomy in patients with biliary colic and suspected sphincter of Oddi dysfunction. *Gastrointest Endosc* 1994; 40: 165-170.
12. Khusro Q, Lehman GA. Delayed biliary drainage: help or hype? *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 962-963.
13. Hogan WJ, Geenen JE, Dodds WJ. Dysmotility disturbances of the biliary tract: classification, diagnosis, and treatment. *Semin Liver Dis* 1987; 7: 302-310.
14. Geenen JE, Hogan WJ, Dodds WJ, Stewart ET, Arndorfer RC. Intraluminal pressure recording from the human sphincter of Oddi. *Gastroenterology* 1980; 78: 317-324.
15. Soffer EE, Johlin FC. Intestinal dysmotility in patients with sphincter of Oddi dysfunction. A reason for failed response to sphincterotomy. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 1942-1946.
16. Elton E, Howell DA, Parsons WG, Qaseem T, Hanson BL. Endoscopic pancreatic sphincterotomy: indications, outcome, and a safe stentless technique. *Gastrointest Endosc* 1998; 47: 240-249.
17. 川本雅彦, 田邊麗子, 家永 淳, 貞刈良彦, 高畑俊一, 田中雅夫, 【乳頭括約筋機能から治療を見直す】十二指腸乳頭括約筋機能異常の診断と治療, 胆と膵(0388-9408)29巻9号 Page 823-827(2008.09).

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hozawa S, Nakamura T, Nakano M, Adachi M, Tanaka H, Takahashi Y, Tetsuya M, Miyata N, Soma H, Hibi T. Induction of matrix metalloproteinase-1 gene transcription by tumour necrosis factor alpha via the p50/p50 homodimer of nuclear factor-kappa B in activated human hepatic

stellate cells. *Liver Int.* 2008 Dec; 28(10): 1418-1425.

- 2) Saeki K, Hozawa S, Miyata N, Nishizawa T, Soma H, Iwao Y, Kameyama K, Hibi T. IgG4-negative autoimmune pancreatitis with sclerosing cholangitis and colitis: possible association with primary sclerosing cholangitis? *Intern Med.* 2008; 47(10): 943-948. Epub 2008 May 15.

2. 学会発表 該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

早期慢性膵炎症例の EUS による経過観察

研究報告者 入澤篤志 公立大学法人福島県立医科大学医学部内科学第二講座 准教授

共同研究者

佐藤 愛，渋川悟朗，今村秀道，佐藤匡記，池田恒彦，鈴木 玲，大平弘正
（公立大学法人福島県立医科大学医学部 内科学第二講座）

引地拓人，小原勝敏（公立大学法人福島県立医科大学附属病院 内視鏡診療部）

【研究要旨】

早期慢性膵炎は新しい概念として提唱されているが，この病態がいわゆる慢性膵炎確診例に進行するかどうかは明らかではない．今回，早期慢性膵炎と考えられた症例を EUS で経過観察しその所見数変化を検討した．上腹部痛の患者で初回 EUS 施行時に EUS 診断基準 2 項目以上が認められ，その後 3 回以上の EUS を施行した飲酒歴のある 7 例を対象とした．対象患者に対しては，症状に応じてメシル酸カモスタットが投与され，全例で禁酒禁煙が指導された．平均観察期間は 37 カ月であった．結果として，EUS 所見数は 3 例で増加，3 例で不変，1 例で減少していた．増加 3 例中 2 例では禁酒は徹底されたがカモスタットは内服しておらず，1 例ではカモスタットは内服したが飲酒は継続していた．不変の 3 例では全例でカモスタットを内服し，うち 2 例で禁酒が徹底していた．減少の 1 例はカモスタットを内服し禁酒も徹底していた．今回の検討からは，早期慢性膵炎が自然経過において増悪する可能性，およびカモスタット内服と禁酒は膵実質変化を増悪させない（改善させる）可能性が示唆された．

A. 研究目的

慢性膵炎は，膵臓の内部に不規則な線維化，細胞浸潤，実質の脱落，肉芽組織などの慢性炎症が生じ，膵臓の外分泌・内分泌機能の低下を伴う病態である．これらの変化は非可逆性と考えられている¹⁾．慢性膵炎の予後は悪く，慢性膵炎の予後調査²⁾によれば，慢性膵炎患者の死亡率は一般人口の死亡率の約 2 倍とされ，1993 年の世界的な疫学調査³⁾では，膵癌の発生率は年齢・性別・国を調整した予想発症数の 26 倍にものぼることが明らかにされた．このようなことから，慢性膵炎を早期に診断し，適切な治療を行うことの重要性が認識されている．しかし，現行の診断基準に基づいた慢性膵炎診断はかなり進んだ状態を捉えているのが現状であり，慢性膵炎を早期から診断することは困難とされてきた．

近年，高解像度で至近距離から膵臓を観察できる超音波内視鏡（endoscopic ultrasound: EUS）の慢性膵炎診断における有用性が数多く

報告されている^{4~8)}．EUS は膵実質の微細な線維化を捉えることができるため，慢性膵炎をより早期から診断できる可能性が示唆されている．これらの報告をふまえて，当研究班から EUS 診断も含んだ早期慢性膵炎診断基準が提唱されたが，早期慢性膵炎と診断された症例が現行の慢性膵炎確診・準確診例に進行するか否かは明らかではなく，早期慢性膵炎の自然史や膵実質変化の治療による可逆性など不明な点も多い．我々は以前から，EUS で膵実質に微細な変化を認め早期の慢性膵炎が疑われた症例を prospective に経過観察してきた．今回は，早期慢性膵炎の自然史や治療反応性を明らかにすることを目的に，これまでに EUS で経過観察を行ってきた症例のうち提唱された早期慢性膵炎診断基準（案）に合致するものを抽出し，それらの経時的な EUS 所見変化を検討した．

表 1 早期慢性膵炎診断の EUS criteria
★項目のいずれかを含む 2 項目以上

膵実質所見	
★Hyperechoic foci	(点状高エコー)
★Hyperechoic strands	(線状高エコー)
★Lobular out gland margin	(辺縁不整)
★Lobularity	(実質分葉化)
Cyst	(嚢胞)
Atrophy	(萎縮)
Inhomogenous echo pattern	(不均一エコー)
膵管所見	
Ductal dilation	(膵管拡張)
Side branch dilation	(分枝膵管拡張)
Duct irregularity	(膵管不整)
Hyperechoic duct margins	(膵管辺縁高エコー)

B. 研究方法

1. 対象

2001年12月から2008年6月までの間で、初回EUS時に膵にEUS慢性膵炎診断基準(表1)に記された所見がみられ、その後複数回EUSによる経過観察を行った24症例のうち、今回提唱された早期慢性膵炎診断基準案(反復する上腹部痛発作、血中/尿中膵酵素値の異常、膵外分泌機能障害、1日80g以上の持続する飲酒歴、のうち2項目があり、早期慢性膵炎の画像所見(表1)を呈するもの)に合致する、3回以上のEUS観察を施行した7例を対象とした。男性6名・女性1名、平均年齢は53.7歳であった。全例が1日80g以上の飲酒をしていた。

2. 方法

EUSによる経過観察は半年から1年の間隔で行うことを基本とし、慢性膵炎のEUS診断基準(表1)に当てはまる所見をカウントし施行毎の所見数とした。所見数の増減をもって、慢性膵炎は増悪(所見数増)または改善(所見数減)したものと定義した。対象症例全例に、禁酒禁煙指導を行い、上腹部痛発作が持続する場合は必要に応じてメシル酸カモスタットの投与を行った。

3. 倫理面への配慮

本研究は通常診療の一環としてEUSを施行しその結果をまとめたものであり、倫理面の問題は無いと考える。EUSを施行する際には、各検査の必要性和偶発症については十分に説明

し、文書によるinformed consentを得て施行した。

C. 研究結果

EUSによる平均観察期間は37.1(12~95)か月、平均観察回数は4.6回であった。禁酒は5例で、禁煙は1例でなされていた(自己申告)。検査毎のEUSの所見数の変化を表2に示した。症例①から③の3症例では所見数は増加、④から⑥の3症例では不変、症例⑦の1症例で減少していた。増悪した3例中2例では禁酒はなされたがメシル酸カモスタットは内服していなかった。また、1例ではメシル酸カモスタットは内服したが飲酒は継続していた。変化のなかった3例は全例でメシル酸カモスタットを内服し、うち2例で禁酒を徹底していた。改善した1例はメシル酸カモスタットを内服し禁酒も徹底していた。

D. 考察

慢性膵炎は非可逆性の病態と考えられており、その予後は芳しくない。しかし、現行の診断基準を満たす以前の早期慢性膵炎は可逆性かも知れず、この段階から治療を施すことで予後を改善させる可能性がある。今回、より早期の段階からの医療介入の指針となり得る「早期慢性膵炎診断基準(案)」が当研究班から提唱され、今後の慢性膵炎診療の新たな展開が期待される。慢性膵炎の病期は、無症状期、早期、中期、晩期に分けられることは理解されているが、無症状期や早期においては臨床所見や検査所見は軽微であることも相まって、慢性膵炎早期像の病態や自然史は未だ明らかではない。

近年、EUSによる早期慢性膵炎診断が脚光を浴びている。EUSはきわめて至近距離から高解像度で膵実質を観察するため、他の診断法では観察できない微細な膵実質・膵管変化(線維化)を捉えることが可能である。EUS所見と病理所見の対比としては、hyperechoic foci(点状高エコー)はfocal fibrosisを、hyperechoic strands(索状高エコー)はbridging fibrosisを、lobularity(分葉状エコー)はinterlobular fibrosisを、そしてhyperechoic

表 2 EUS 所見数の変化

症例	年齢	性別	禁酒	禁煙	メシル酸 カモスタット	観察期間 (月)	EUS 所見数(個)						
							1	2	3	4	5	6	7 (回目)
①	52	M	+	-	-	37	2	5	2	4	4		
②	72	M	+	-	-	95	3	3	3	4	4	4	4
③	47	M	-	-	+	29	5	6	6				
④	45	M	+	-	+	12	4	3	4				
⑤	38	M	+	-	+	14	3	3	2	2	3		
⑥	49	F	-	-	+	12	5	5	5				
⑦	73	M	+	+	+	61	4	3	3	1	0	0	1

ductal margin (膵管壁の高エコー化) は periductal fibrosis を表しているものと考えられている⁹⁾.

慢性膵炎の早期像と考えられる EUS 所見 (EUS 診断基準のうち 2~3 項目陽性) を呈した症例の経過観察に関しては、これまでに 2 つの報告がある。Catalano ら¹⁰⁾ は、EUS で早期慢性膵炎 (mild chronic pancreatitis: CT 所見やセクレチン試験では慢性膵炎所見が陰性) と診断された 37 症例を 5 年間経過観察した結果を報告し、20 例で EUS 所見の増悪が観察されたとしている。さらに、このうちの 18 例では CT でも慢性膵炎を示唆する所見が出現し、16 例ではセクレチン試験で異常値を示したと報告している。対象症例背景は不明瞭ながらも、この報告は、EUS で捉えられた微細な膵実質・膵管変化は、まさに慢性膵炎の初期像である可能性が高いことを示している。一方、Hastier ら¹¹⁾ は、内視鏡的逆行性膵管造影検査 (Endoscopic retrograde pancreatography: ERP) では正常ながらも EUS で早期慢性膵炎と診断された患者に対して平均 22 ヶ月 (12 ヶ月から最長 38 ヶ月) の予後検討し、いずれの患者にも ERP で異常を呈するような進行は見られなかったと報告しており、EUS で観察している所見の妥当性に疑問を投げかけている。しかしこの報告では対象年齢が比較的高齢であり年齢による膵実質変化といったバイアスが存在すること、さらには経過観察期間が短いこともあり、早期慢性膵炎の自然史を評価するには十分なデータとは言えない。

今回提示した我々のデータでは、生活習慣の改善・非改善、または治療薬の投与など、対象症例の背景は一樣ではなく、早期慢性膵炎の自

然史について一概に述べることはできない。しかし、対象症例の生活習慣や治療薬などの因子を考慮すると、早期慢性膵炎が自然経過において進行する可能性や、医療の介入により改善する可能性が示唆される。特に、禁酒に関しては自己申告であるためその評価が難しいことが問題であるなか、メシル酸カモスタットを内服していた 5 例中 4 例では、禁酒の有無にかかわらず EUS 所見は不変もしくは改善していた。このことから同薬の内服は膵実質変化を少なくとも増悪させない可能性も考えられ、今後の早期慢性膵炎診療に重要な役割を果たすかもしれない。前述の 2 つの検討^{10,11)} はいずれも EUS 所見のみが早期慢性膵炎の定義となっており、年齢による膵実質変化や炎症としての線維化以外の変化も含んでいる可能性が高い。この点から、当研究班から提唱された、症状や背景を加味した早期慢性膵炎診断基準 (案) を用いた今回の検討の意義は高いものと考えられる。今後は症例数を増やししながらさらに長期間観察することで、その自然史や可逆性 (治療反応性) について明らかにできればと考えている。

E. 結論

早期慢性膵炎が自然経過において増悪する可能性が考えられた。また、メシル酸カモスタット内服と禁酒は、早期慢性膵炎における膵実質変化を増悪させない (改善させる) 可能性が示唆された。

F. 参考文献

1. 日本膵臓学会. 慢性膵炎臨牀診断基準 2001. 膵臓, 2001, 16, 560-561.
2. 厚生省特定疾患対策研究事業難治性膵疾患に関

- する調査研究班(班長：小川道雄)．慢性膵炎予後調査．平成10年度研究業績，1999，56-60．
3. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, Ammann RW, Lankisch PG, Andersen JR, Dimagno EP, Andren-Sandberg A, Domellof L. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Pancreatitis Study Group. N Engl J Med. 1993, 20, 1433-1437.
 4. Catalano MF, Geenen JE. Diagnosis of chronic pancreatitis by endoscopic ultrasonography. Endoscopy, 1998, 30 (Suppl 1), A111-A115.
 5. Sahai AV, Zimmerman M, Aabakken L, Tarnasky PR, Cunningham JT, van Velse A, Hawes RH, Hoffman BJ. Prospective assessment of the ability of endoscopic ultrasound to diagnose, exclude, or establish the severity of chronic pancreatitis found by endoscopic retrograde cholangiopancreatography. Gastrointest Endosc, 1998, 48, 18-25.
 6. Catalano MF, Lahoti S, Geenen JE, Hogan WJ. Prospective evaluation of endoscopic ultrasonography, endoscopic retrograde pancreatography, and secretin test in the diagnosis of chronic pancreatitis. Gastrointest Endosc, 1998, 48, 11-17.
 7. Irisawa A, Katakura K, Ohira H, Sato A, Bhutani MS, Hernandez LV, Koizumi M. Usefulness of endoscopic ultrasound to diagnose the severity of chronic pancreatitis. J Gastroenterol, 2007, 42 (Suppl 17), 90-94.
 8. Irisawa A, Mishra G, Hernandez LV, Bhutani MS. Quantitative analysis of endosonographic parenchymal echogenicity in patients with chronic pancreatitis. J Gastroenterol Hepatol, 2004, 19, 1199-1205.
 9. Raimondo M, Wallace MB. Diagnosis of early chronic pancreatitis by endoscopic ultrasound. Are we there yet? JOP. 2004, 5, 1-7.
 10. Catalano MF, Kaul V, Pezanoski J, Guda N, Geenen JE. Long-Term Outcome of Endosonographically Detected Minimum Criteria for Chronic Pancreatitis (MCCP) When Conventional Imaging and Functional Testing Are Normal. Gastrointest Endosc. 2007, 65: Page AB120.
 11. Hastier P, Buckley MJ, Francois E, Peten EP, Dumas R, Caroli-Bosc FX, Delmont JP. A prospective study of pancreatic disease in patients with alcoholic cirrhosis: comparative diagnostic value of ERCP and EUS and long-term significance of isolated parenchymal abnormalities. Gastrointest Endosc. 1999, 49: 705-709.
- ## G. 研究発表
1. 論文発表
 - ・ 雑誌
 - 1) 川 茂幸，藤永康成，入澤篤志，能登原憲司，羽鳥 隆，乾 和郎，船越顕博，須田耕一，高瀬 優，明石隆吉，新倉和則，神澤輝実，小泉 勝，広田昌彦，岡崎和一，大槻 眞．自己免疫性膵炎と膵癌の鑑別のポイント．膵臓，2008，23: 555-569.
 - 2) 今村秀道，入澤篤志，引地拓人，渋谷悟朗，高木忠之，若槻 尊，高橋裕太，佐藤 愛，佐藤匡記，池田恒彦，鈴木玲，小原勝敏，大平弘正．EUSガイド下膵仮性嚢胞ドレナージの偶発症と対処法．胆と膵，2008，29: 637-644.
 - 3) 入澤篤志，渋谷悟朗，引地拓人，高木忠之，若槻 尊，今村秀道，高橋裕太，佐藤 愛，佐藤匡記，池田恒彦，鈴木玲，小原勝敏，大平弘正．内視鏡的膵嚢胞ドレナージ術．臨床消化器内科，2008，23: 878-883.
 - ・ 書籍
 - 1) 入澤篤志．膵仮性嚢胞．伊佐山浩道編集，肝胆膵エキスパートマニュアル，東京，羊土社，2008，372-380.
 2. 学会発表
 - 1) 入澤篤志．膵仮性嚢胞に対するEUS下ドレナージ術．第81回日本超音波学会総会バーチャルライブデモンストラーション．神戸，2008年5月．
 - 2) 入澤篤志．膵仮性嚢胞ドレナージ虎の巻．第75回日本消化器内視鏡学会 サテ

- ライトセミナー．横浜，2008年5月．
- 3) 引地拓人，入澤篤志，小原勝敏．消化器疾患における Interventional EUS の位置づけ．第75回日本消化器内視鏡学会総会シンポジウム「Interventional EUS の進歩」，横浜，2008年5月．
 - 4) 鈴木玲，入澤篤志，引地拓人，渋谷悟朗，高木忠之，若槻 尊，今村秀道，高橋祐太，佐藤 愛，佐藤匡記，渡辺一男，小原勝敏，大平弘正．慢性膵炎(CP)を背景とした膵腫瘍性病変の診断における，超音波内視鏡下穿刺吸引生検(EUS-FNA)の有用性の検討．第75回日本消化器内視鏡学会総会，横浜，2008年5月．
 - 5) 渋谷悟朗，入澤篤志，引地拓人，高木忠之，若槻 尊，今村秀道，佐藤 愛，佐藤匡記，池田恒彦，鈴木 玲，小原勝敏，大平弘正．胆膵の interventional EUS 膵炎に合併した膵仮性嚢胞に対する EUS ガイド下経消化管的ドレナージの適応と問題点．第75回日本消化器内視鏡学会総会，横浜，2008年5月．
 - 6) 佐藤 愛，入澤篤志，大平弘正，引地拓人，渋谷悟朗，高木忠之，若槻 尊，今村秀道，高橋裕太，佐藤匡記，池田恒彦，鈴木 玲．自己免疫性膵炎に随伴した胆管病変の検討 病型とその出現時期について．第94回日本消化器病学会総会，福岡，2008年5月．
 - 7) 佐藤 愛，入澤篤志，引地拓人，渋谷悟朗，高木忠之，若槻 尊，今村秀道，高橋裕太，佐藤匡記，池田恒彦，鈴木玲，小原勝敏，大平弘正．早期慢性膵炎の診断における新しい EUS criteria の提唱．第39回日本膵臓学会大会，横浜，2008年7月．
 - 8) 渋谷悟朗，入澤篤志，引地拓人，高木忠之，若槻 尊，今村秀道，佐藤 愛，佐藤匡記，池田恒彦，鈴木 玲，小原勝敏，大平弘正．急性膵炎後の膵仮性嚢胞に対する内視鏡的嚢胞内洗浄ドレナージ術の有効性の検討．第39回日本膵臓学会大会，横浜，2008年7月．
 - 9) 今村秀道，入澤篤志，佐藤 愛，引地拓人，渋谷悟朗，高木忠之，若槻 尊，高橋裕太，佐藤匡記，池田恒彦，鈴木玲，小原勝敏，大平弘正．限局性の膵腫大を有する自己免疫性膵炎の検討．第39回日本膵臓学会大会，横浜，2008年7月．
 - 10) 佐藤 愛，入澤篤志，高木忠之，渋谷悟朗，若槻 尊，今村秀道，高橋裕太，佐藤匡記，引地拓人，小原勝敏，大平弘正．ステロイド導入時にパルス療法を施行した自己免疫性膵炎3例の検討．第39回日本膵臓学会大会，横浜，2008年7月．
 - 11) 佐藤 愛，入澤篤志，大平弘正．自己免疫性膵炎・胆管炎診療に果たす内視鏡の役割 自己免疫性膵炎における EUS-FNA の位置づけ．第76回日本消化器内視鏡学会総会 ワークショップ，東京，2008年10月．
 - 12) 池田恒彦，佐藤 愛，入澤篤志，引地拓人，渋谷悟朗，高木忠之，若槻 尊，今村秀道，高橋裕太，佐藤匡記，鈴木玲，小原勝敏，大平弘正．自己免疫性膵炎におけるステロイドパルス療法の有用性について．第50回日本消化器病学会大会，東京，2008年10月．
 - 13) 渋谷悟朗，入澤篤志，大平弘正．胆膵疾患に対する内視鏡的治療の新展開 急性膵炎後の膵仮性嚢胞に対する内視鏡的嚢胞内洗浄ドレナージ術の経験．第76回日本消化器内視鏡学会総会 ビデオシンポジウム，東京，2008年10月．
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得 該当なし
 2. 実用新案登録 該当なし
 3. その他 該当なし

慢性膵炎早期診断の検討 —超音波内視鏡を中心として非アルコール性若年者における—

研究報告者 宮川宏之 札幌厚生病院 第2消化器科 主任部長

共同研究者

岡村圭也, 長川達哉, 平山 敦, 松永隆裕, 志谷真啓, 乙黒雄平 (札幌厚生病院 第2消化器科)

【研究要旨】

早期診断を目的として、加齢の影響や早期でも軽症でないものが多いアルコール例慢性膵炎を除いた40歳以下の石灰化のない症例において膵の臨床像を検討した。対象の5例全例に上腹部痛部痛を認め、膵酵素上昇もみられた。耐糖能異常はなく膵外分泌機能異常はあってもPFD軽度異常のみであった。画像診断ではCT, ERCP, MRCPはこれらには有効ではなかった。EUSでは行った4例とも実質エコーの変化が見られ膵炎の組織変化をうかがわせた。今回の対象とした群では遺伝子異常の関与の頻度が高かった。

A. 研究目的

慢性膵炎の早期診断のために、石灰化の見られない確定所見に乏しい非アルコール性慢性膵炎例のEUSを中心とした臨床的特徴を明らかにする。

表 1

症例	age	sex	症 状	アルコール
症例 1	34	m	急性膵炎の既往	なし
症例 2	34	f	上腹部痛	機会飲酒
症例 3	6	m	上腹部痛	なし
症例 4	39	m	上腹部痛	なし
症例 5	27	m	上腹部痛	機会飲酒

B. 研究方法

症例は2年以内に上腹部痛などで外来を受診した画像診断にて石灰化が見られず、加齢の影響が少ないと考えられる40歳以下の非アルコール性慢性膵炎5例である。

(倫理面への配慮)

今回の検討はすでに同意を得て行った通常検査の検討が対象であり倫理面で問題はない。

表 2

症例	高アミラーゼ血症	耐糖能異常	PFD	家族歴
症例 1	+	—	異常	—
症例 2	+	—	正常	子：膵炎
症例 3	+	—	未検	母：膵炎
症例 4	+	—	正常	父：膵石
症例 5	+	—	正常	—

C. 研究結果

対象症例の内訳は表1のとおりである。

症例は5例で平均年齢は28歳であった。男性4例女性1例で症例2, 3は親子である。それぞれ初診時の直近には上腹部痛が見られた。また受診時ないし経過中にアミラーゼまたはリパーゼを主とする高膵酵素血症がみられた。耐糖能異常は全例で異常は見られなかった。外機能分泌能検査としてはPFDのみであるが1例が軽度の低下、他の測定できた3例は正常であった。飲酒は機会飲酒が2例であり他の3

例は飲酒の嗜好はなかった。慢性膵炎の家族歴は親子と症例4の3例に見られた。

症例提示

症例 1

34歳男性。主訴上腹部痛。

現病歴：以前軽症急性膵炎の既往あり最近も上腹部痛にて膵酵素上昇指摘受け精査希望にて来院。

既往症は上記以外なく、家族歴も特記すべきことなし。アルコールは機会飲酒のみ。生化学検査では脂肪肝によると思われるALTとrGTPの軽度上昇がみられた。HbA1c 5.4%, PFD

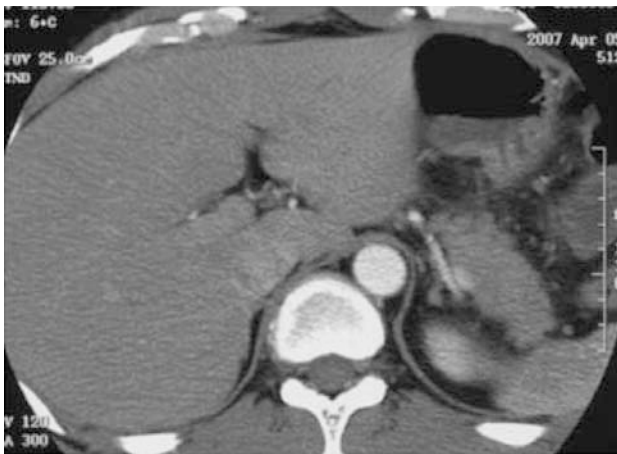


図 1a



図 1b



図 1c

は64.4%であった。

画像検査

CT (図 1abc)では異常は見られない。

ERCP (図 2)はほぼ2次分枝まで描出良好であるが、不整拡張は主膵管にも分枝にも見られない。

EUS (図 3ab)では辺縁凹凸，分葉状所見，線状高エコー，索状高エコーが見られ，現在検討されている慢性膵炎診断基準の改定案の早期慢



図 2

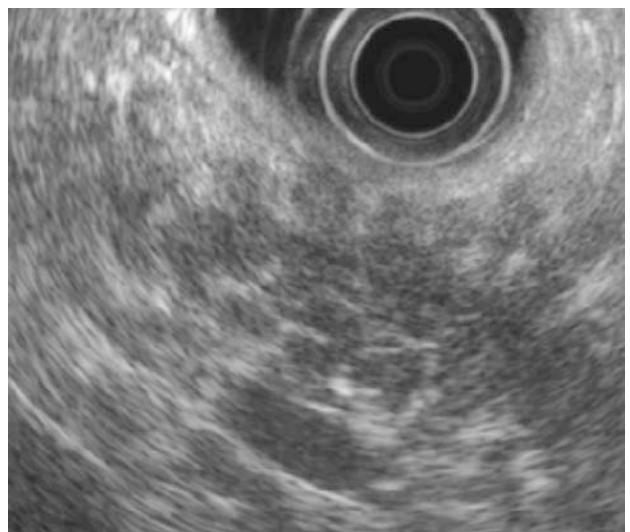


図 3a

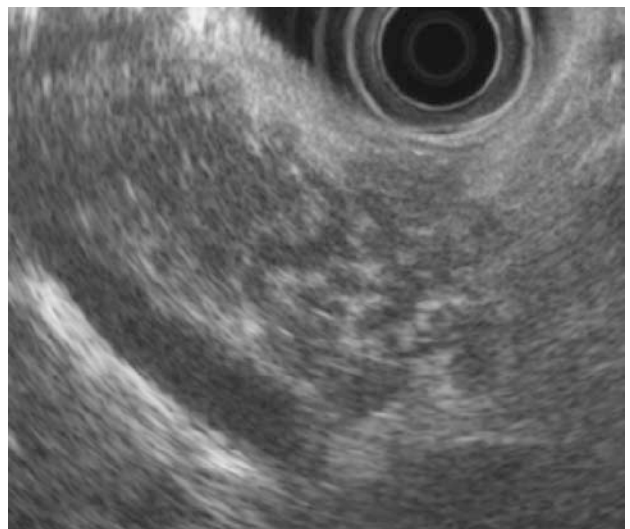


図 3b

性膵炎にあたる。

症例 4

39歳男性．主訴上腹部痛．

現病歴：34歳より軽症急性膵炎繰り返し最近

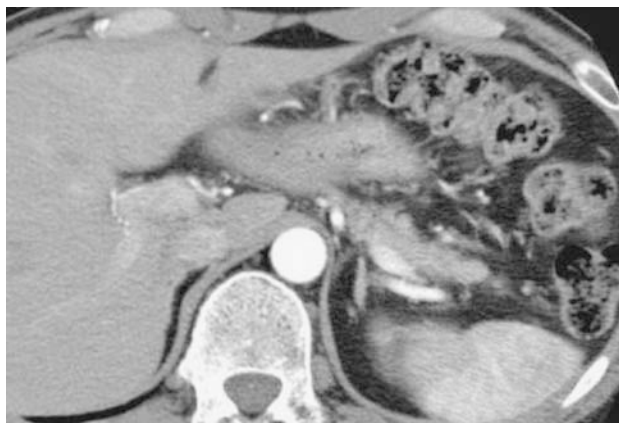


図 4a



図 4b



図 5



図 6

も上腹部痛にて膵酵素上昇指摘受け精査希望にて来院。

既往症は上記以外なく，家族歴は父膵石症．アルコール歴なし．生化学検査では lipase 55 mg/dl, elastase 500 ng/dl と軽度上昇し HbA1c 4.9%，PFD は78.1%と正常であった．

画像検査

CT（図 4ab）では膵実質の委縮がみられた．

ERCP（図 5）はサントリー二管と膵尾部主膵管に蛋白栓を認めたが，分枝に不整拡張はない．

EUS（図 6）では実質の委縮と辺縁の凹凸，分葉状所見が目立った．この例も慢性膵炎診断基準改定案の早期慢性膵炎となる．

D. 考察

今回早期慢性膵炎と考えられる例の臨床像を検討するために対象を石灰化が見られず，加齢変化の影響を受けないように高齢者を除外した慢性膵炎とした．さらに早期でも軽症でないものが多いアルコール例慢性膵炎を除いた非アルコール性の例とした．結果では40歳以下の5

例が対象となった．全例上腹部を中心とした痛みがあり，受診時以外にもたびたび膵酵素の上昇が見られた．内分泌機能として耐糖能異常は見られず，PFD は1例軽度低下を示した．これらの例は早期慢性膵炎と考えられる例で当然内外分泌機能異常はないか軽度と考えられる．画像検査では CT では2例がやや委縮を示したが PFD は正常例であった．委縮の2例において膵辺縁所見は慢性膵炎の正確診断所見とはやや言い難い変化であった．他は2例が正常で小児例では膵管拡張を示した．これらから CT では慢性膵炎の診断は難しいと考えられる．ERP は成人例で行われ正常が2例，蛋白栓の存在（慢性膵炎診断基準の正確診断所見）が1例，診断基準には当たらない主膵管や分枝の拡張のない軽度不整例1例であった．ERP の行った1例でしか慢性膵炎の診断はし得なかった．EUS を行った4例は実質に所見があり，慢性膵炎の変化を描出していたと思われる．

CT でやや委縮と見られた症例 2 と 4 はそれぞれ ERP で軽度不整と蛋白栓例であり、ともに EUS で点状高エコーや索状高エコー以外に分葉状や辺縁凹凸所見が目立った。これら 2 例は他の成人 2 例よりやや進んだ慢性膵炎の可能性があると考えられる。

今回の検討から早期慢性膵炎と考えられるものは CT では軽度委縮とみられる変化以外異常はなかった。膵管拡張例も小児例であり、他には異常なく、EUS 以外の画像では診断困難な症例が中心であった。アルコール性では受診時すでに進行しているものが少なからずあるとされることから、早期の膵 EUS 像を明らかにするためにアルコール性慢性膵炎を除外した。早期慢性膵炎に関しては当研究班のメンバーが中心となった診断基準改定委員会での新たな提案が今年提示されるが、成人 4 例はすべてそれに合致する例である。EUS における慢性膵炎の所見としては、点状高エコー、索状高エコー、分葉状エコー、辺縁凹凸など、研究者により 10 所見前後が報告されている¹⁻³⁾。今回の成人例の 4 例では EUS が明らかな異常を示した。いずれも肥満がなく高齢でもなく膵の脂肪沈着が少ない例であったため膵実質の点状高エコー、索状高エコーなどの微細変化の描出は非常に良好であった。

今回の 5 例中その後の検討で症例 2, 3 の親子はカチオニックトリプシノーゲン (PRSS1) 遺伝子の R122H 変異が陽性であり、症例 1 と 4 は SPINK1 遺伝子の N34S 変異が陽性であった。なお症例 5 は遺伝子は検索していない。特発性の若年者慢性膵炎には遺伝子異常が高頻度であることが指摘されており⁴⁾ 若年者の腹痛例において EUS により早期の膵実質像の変化をとらえることができれば遺伝子異常の拾い上げ診断にも役立つ可能性が考えられた。今後はアルコール性の早期慢性膵炎の実態の検討と非アルコール性との早期の画像の違いがあるか明らかにする必要があると考えられた。

(今回症例の遺伝子検索いただいた東北大学下瀬川先生、正宗先生に深謝いたします。)

F. 参考文献

- 1) Wallace MB, Hawcs RH, Durkalski V, Chak A, Mallerv S, Catalallo MF, et al. The reliability of EUS for the diagnosis of chronic pancreatitis; interobserve agreement among experienced endosonographers. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 294-299.
- 2) Sahai AV, Zimmerman M, Aabakken L, Tarnasky PR, Cunningham JT, van Velse A, Hawes RH, Hoffman BJ. Prospective assessment of the ability of endoscopic ultrasound to diagnose, exclude, or establish the severity of chronic pancreatitis found by endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Gastrointest Endosc* 1998; 48: 18-25.
- 3) Stefan Kahl, Bernhard Glasbrenner, Andreas Leodolter, Matthias Pross, Hans-Ulrich Schulz, Peter Malfertheiner. EUS in the diagnosis of early chronic pancreatitis a prospective follow-up study. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 507-511.
- 4) 正宗 淳, 糸 潔, 下瀬川徹. カチオニックトリプシノーゲンと膵分泌性トリプシンインヒビター. *肝胆膵* 2006; 53: 461-468.

G. 研究発表

- | | |
|---------|------|
| 1. 論文発表 | 該当なし |
| 2. 学会発表 | 該当なし |

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

- | | |
|-----------|------|
| 1. 特許所得 | 該当なし |
| 2. 実用新案登録 | 該当なし |
| 3. その他 | 該当なし |

「 ^{13}C 呼気テスト」による慢性膵炎，膵切除術後膵外分泌機能測定

研究報告者 江川新一 東北大学大学院消化器外科 准教授

共同研究者

乙供 茂（東北大学肝胆膵外科）

【研究要旨】

難治性膵疾患の診療において膵外分泌機能の評価をすることは極めて重要であるが，これまでの膵外分泌機能評価として用いられてきた PS テスト，糞便中の脂肪量測定，PFD 試験は，実施の煩雑さ，患者への身体的精神的負担，検査に必要なセクレチンが製造中止となったことから，十分に行われていないのが現状である．オリディオン社のプレス ID 呼気テストシステムは，非放射性の同位元素である ^{13}C を用いて呼気中の $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ の変化量をリアルタイムに測定記録することが可能で，患者の身体的・精神的な負担がすくない．膵疾患における効率的で信頼できる膵外分泌機能測定法を確立するために， ^{13}C -ジペプチド (Benzol-L-Tyrosyl-[1- ^{13}C]alanine：以下， ^{13}C -BTA) を用いたリアルタイム呼気テストの基礎的検討を行った．健常人に 300 mg の ^{13}C -BTA を経口投与し，プレス ID にて呼気中の ^{13}C を測定した．呼気中の ^{13}C は 30～60 分でピーク値に達し，すみやかに消失した．膵切除術後の膵機能評価，消化酵素剤の投与の増減，吸収バランスにもとづいた食事計画などの介入により栄養状態の評価と膵機能評価の相関の評価に有用である．

A. 研究目的

^{13}C を用いた難治性膵疾患の膵外分泌機能測定法を確立する．

B. 研究方法(倫理面への配慮)

^{13}C -BTA は，胃の中では分解されず膵液中に含まれる酵素で分解され消化管より吸収・代謝され，最終的に呼気中に $^{13}\text{CO}_2$ として排出される． ^{13}C -BTA 300 mg を経口摂取したのち，鼻カニューラを装着し，プレス ID システムにて呼気中の ^{13}C をリアルタイムに測定する．

C. 研究結果

測定の様子を図 1 に示す．測定は非侵襲的であり，容易に実施することができた．

呼気中の ^{13}C の変化を図 2 に示す．呼気中の ^{13}C は摂取後 30 分でピークに達し，速やかに減少した．

D. 考察

難治性膵疾患の診療において，膵外分泌機能の測定はきわめて重要であるが，これまでの膵



図 1

外分泌機能評価として用いられてきた PS テスト，糞便中の脂肪量測定，PFD 試験は，実施の煩雑さ，患者への身体的精神的負担，検査に必要なセクレチンが製造中止となったことから，十分に行われていないのが現状である．オリディオン社のプレス ID 呼気テストシステムは，非放射性の同位元素である ^{13}C を用いて呼気中の $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ の変化量をリアルタイムに測定記録することが可能で，患者の身体的・精神的な負担がすくない．膵疾患における効率的で信頼できる膵外分泌機能測定法を確立するために，

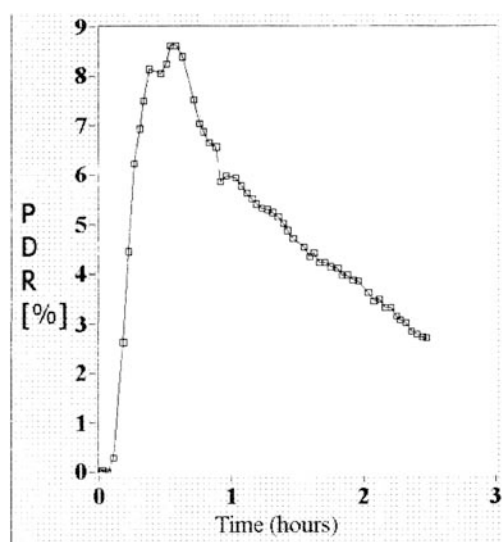


図 2

^{13}C -ジペプチド (Benzol-L-Tyrosyl-[$1-^{13}\text{C}$]alanine : 以下, ^{13}C -BTA)を用いたリアルタイム呼気テストの基礎的検討を行った。健常人に 300 mg の ^{13}C -BTAを経口投与し、プレスIDにて呼気中の ^{13}C を測定した。呼気中の ^{13}C は 30～60分でピーク値に達し、すみやかに消失した。 ^{13}C -ジペプチド (Benzol-L-Tyrosyl-[$1-^{13}\text{C}$]alanine : 以下, Bz-Try-Ala)あるいは ^{13}C -中性脂肪は、胃の中では分解されず膵液中に含まれる carboxypeptidase で分解され消化管より吸収・代謝され、最終的に呼気中に $^{13}\text{CO}_2$ として排出される¹⁾。中村ら²⁾は膵切除術後、慢性膵炎などの膵外分泌機能不全の患者では、呼気中のピーク値に達するまでの時間が延長し、また、ピーク値も低かったとしている。また、肝硬変例では22%、糖尿病例では5%において膵外分泌機能不全が存在しなくてもピーク値が低くなる症例が存在したとしている。膵切除術後の膵外分泌機能を評価するうえで、十分に考慮すべき合併症であると考えられる。

安全で簡便な膵外分泌機能測定法が確立できれば、膵切除術後の膵機能評価、消化酵素剤の投与の増減、吸収バランスにもとづいた食事計画などの介入により栄養状態の評価と膵機能評価の相関の評価に有用である。

E. 結論

^{13}C を用いたリアルタイム膵外分泌機能測定

方法は、非侵襲的な検査方法として有用である。

F. 参考文献

1. Kohno T, et al: Synthetic ^{13}C -dipeptide breath test for the rapid assessment of pancreatic exocrine insufficiency in rats. Scand J Gastroenterol 42: 992-999; 2007.
2. 松本敦史, 野木正之, 柿崎綾女, 佐藤江里, 松橋有紀, 田中 光, 柳町 幸, 丹藤雄介, 小川吉司, 増田光男, 中村光男. 呼気試験による膵外分泌昨日検査法の可能性. 胆膵の生理機能 24: 33-36; 2008.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 江川新一, 元井冬彦, 乙供 茂, 阿部 永, 岡田恭穂, 力山敏樹, 片寄 友, 海野倫明. 膵頭十二指腸切除術の再建; 吻合法を中心に. 消化器外科 2008; 31: 1255-1261. (2008年7月)
- 2) Sakata N, Egawa S, Motoi F, Mikami Y, Ishida M, Aoki T, Ottomo S, Fukuyama S, Rikiyama T, Katayose Y, Goto M, Unno M. Institutional indications for islet transplantation after total pancreatectomy. J Hepatobiliary Pancreat Surg (2008) 15: 488-492. (平成20年10月)
- 3) 有明恭平, 森川孝則, 大塚英郎, 元井冬彦, 佐藤 俊, 富永 剛, 江川新一, 海野倫明. 小腸腸間膜内に広範囲にわたり穿破した壊死性膵炎後膵仮性嚢胞に対する1手術例. 日本腹部救急医学会雑誌 28: 969-972; 2008. (平成20年10月)

2. 学会発表

- 1) 江川新一, 佐藤 学, 原田昭彦, 蝦名宣男, 福山尚治, 元井冬彦, 海野倫明. 慢性膵炎仮性嚢胞内仮性動脈瘤. 第80回日本肝胆膵外科学会(山形, ポスター, 平成20年5月)
- 2) 江川新一, 元井冬彦, 乙供 茂, 坂田直昭, 岡田恭穂, 三上幸夫, 福山尚治, 力山敏樹, 片寄 友, 海野倫明: 膵尾部仮性嚢胞に対する再手術時の最小膵切除と

膵空腸吻合．第108回日本外科学会定期学術集会(長崎，ビデオ，平成20年 5 月)

- 3) Y. Kitamura, S. Egawa, K Ariake, S. Maeda, S. Ottomo, H. Hayashi, H. Abe, T. Morikawa, T. Okada, T. Onogawa, H. Yoshida, K. Yamamoto, F. Motoi, T. Rikiyama, Y. Katayose, M. Unno.: Re-operation for Frey procedure; A proposal of new modification. IAP-EPC Joint Meeting (ウーズ(ポーランド)，ポスター，平成20年 6 月)
- 4) 有明恭平，森川孝則，大塚英郎，元井冬彦，佐藤 俊，富永 剛，江川新一，海野倫明：小腸腸間膜内に広範囲にわたり穿破した壊死性膵仮性嚢胞に対する 1 手術例．第63回日本消化器外科学会定期学術集会(札幌，口演，平成20年 7 月)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許所得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし