

疫性膵炎<sup>4)</sup>と呼ばれるものの報告もみられつつある。我々の症例の中にも結節性多発性動脈炎による腫瘤形成性膵炎の1例を経験している。おそらく従来の定型的なアルコール性膵炎以外の炎症性疾患が様々な形で腫瘤形成性膵炎を惹起しているものと思われる。今回の我々の分類はかなり大雑把ではあるが、このように組織学的に分類検討することは、その病態や成因を解明するうえで端緒となり得るだろう。今後さらに吟味していくことにより病理学的に裏打ちされた腫瘤形成性膵炎の分類をしていくことが課題である。

## 結 語

腫瘤形成性膵炎の手術材料をもとに組織学的に線維増生優位型と炎症細胞浸潤優位型の2つに大別した。前者はアルコールが主因で、後者は自己免疫疾患や血管炎に関連したものであることが示唆された。腫瘤形成性膵炎を組織学的に分類検討することはその病態等を解明するうえで端緒となり得るものと考えられた。

## 参 考 文 献

- 1) 石井兼央, 慢性膵疾患の診断, 日本医事新報 1969; 2348: 3-11.
- 2) 日本膵臓学会慢性膵炎臨床診断基準委員会, 慢性膵炎臨床診断基準 (日本膵臓学会, 1995), 膵臓 1995; 10: 23-6.
- 3) Bückler M, Malfertheiner P, Friess H, et al. Chronic pancreatitis with inflammatory mass in the head of the pancreas: a special entity? In: Beger HG, Bückler M, Ditschuneit H, et al, editor. Chronic Pancreatitis. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1990: 41-6.
- 4) Yoshida K, Toki F, Takeuchi T, et al. Chronic pancreatitis caused by an autoimmune abnormality-proposal of the concept of autoimmune pancreatitis. Dig Dis Sci 1995; 40: 1561-8.

## $^{13}\text{C}$ 中性脂肪を用いた膵性脂肪便の診断

研究報告者 中村 光 男

弘前大学第三内科

共同研究者 長谷川 範 幸 梶 麻 子 丹 藤 雄 介

渡 辺 拓 田 中 光 松 橋 有 紀

葛 西 伸 彦 松 井 淳 中 村 潤 子

**要旨：**膵性脂肪便を有する膵外分泌不全患者13例及び便常者23例の計36例を対象に  $^{13}\text{C}$  中性脂肪を用いた呼気脂肪消化吸収試験を行った。 $^{13}\text{C}$  中性脂肪投与後30分ごと 8時間までの呼気を採取し、赤外分光計で  $^{13}\text{CO}_2$  存在比を測定し、8時間累積回収率を算出した。便常者の累積回収率は  $14.5 \pm 3.9\%$  であり、膵性脂肪便患者は  $3.8 \pm 4.1\%$  であった。膵性脂肪便患者に対する感度は  $76.9\%$ 、特異度は  $100\%$  であり、本法は膵性脂肪便患者を診断するのに最適な方法と考えられた。

### はじめに

膵性脂肪便は本邦膵機能不全（慢性膵炎，膵切除）患者にはまれとされてきたが，食事中脂肪摂取量の増加と，糞便中脂肪排泄量の積極的検索などによって増加していることが明らかになってきた<sup>1)</sup>。膵性脂肪便を有すると，低栄養状態になり，栄養障害や易感染性を引き起こす。更に脂肪便患者の半数以上はアミラーゼ分泌障害による炭水化物吸収不良を合併し<sup>2)</sup>，インスリン治療患者では低血糖を含めた糖尿病コントロールが悪化する<sup>3)</sup>。従って，脂肪便を簡便かつ不愉快を伴わずに正確に診断・治療することは慢性膵炎患者の予後を改善される上で重要なことと考えられる。

従来，脂肪便診断には3日間の連続蓄便を必要とし，その便の肉眼的観察や重量測定<sup>4)</sup>，ズダンIII脂肪染色法，van de Kamer 法やガスクロマトグラフィー法など<sup>5)</sup>による脂肪の化学的定量法が行われてきた。著者らは近年，糞便・ホモジナイズのみで煩雑な化学的手法を必要としない糞便中脂肪分析のための近赤外分光法のソフトも開発した。しかし，いずれの方法も蓄便という現代においてスマートでない方法なので，仲々普及しづらい欠点を有していた。そこで，著者らは経口的に  $^{13}\text{C}$ -中性脂肪を投与し，呼気中  $^{13}\text{CO}_2$  排泄量から，脂肪消化吸収能を間接的に評価する新しい検査法を開発したのでその精度及び特異性について報告する<sup>7)</sup>。

### 対象及び方法

対象は膵性脂肪便（1日糞便中脂肪排泄量  $5\text{ g}$  以上）（ $22.2 \pm 4.2\text{ g}/\text{日}$ ）を有する膵外分泌不全患者13例及び健常者23例の計36例である。

早朝絶食下に負荷食（脂肪  $22.9\text{ g}$ ， $476\text{ kcal}$ ）と同時にクロレラ産生  $^{13}\text{C}$  標識中性脂肪  $200\text{ mg}$  を服用させた。本中性脂肪の脂肪酸構成は植物油に近く，リノール酸，オレイン酸，パルミチン酸が主要脂肪酸であった。

$^{13}\text{C}$ -中性脂肪投与前と投与後30分ごと8時間までに呼気を採取し、赤外分光計(HBP-100)で $^{13}\text{CO}_2$ 存在比を測定し、8時間累積回収率を算出した。

糞便は3日間連続蓄便し、秤量後水でホモジナイズし、凍結乾燥後、加水分解、ブチル化、アセチル化を行い、ガスクロマトグラフィー法で測定し、脂肪1日排泄量(g/日)で表わした。脂肪便は1日糞便脂肪排泄量5g以上とした。 $^{13}\text{C}$ -8時間累積回収率は健常者の平均 $\pm 2\text{SD}$ 以下を異常とした。

## 結 果

呼気 $^{13}\text{CO}_2$ の8時間累積回収率は健常者 $14.5 \pm 3.9\%$ であり、脂肪便患者では $3.8 \pm 4.1\%$ であった。健常者の平均 $\pm 2\text{SD}$ は $6.7\%$ でありこれ以下を異常値とすると、慢性膵炎患者に対する感度は $76.9\%$ 、特異度は $100\%$ であった。反繰して行ってもこれらの値に大きな変化はみられなかった。

## 考 察

$^{13}\text{C}$ 中性脂肪を用いる呼気脂肪消化吸收試験は脂肪便を診断するのに感度 $76.9\%$ 、特異度 $100\%$ と良好な結果を得ることが出来た。本法は膵疾患を健常群から抽出するいわゆる慢性膵炎の診断法ではなく、非代償期膵炎を含めた膵外分泌機能不全診断法である。今後、消化酵素治療によって、消化吸收能改善をモニターできるかということ<sup>8)</sup>と、検査時間や回数短縮を検討し、どの施設でも検査可能な方法にしていく必要があると考えられた。

## 参 考 文 献

- 1) 中村光男, 加嶋 敬, 編). 臨床医のための脂肪便の知識, 東京: 医学図書出版, 1998.
- 2) 渡辺 拓, 中村光男, 梶 麻子, 他. 非代償期及び代償期慢性膵炎患者の carbohydrate malabsorption について. 消化と吸収 1999; 22: 50-3.
- 3) 山田尚子, 中村光男, 寺田明功, 他. 慢性膵炎症例における消化吸收不良-膵消化酵素と血糖コントロールとの関係. 消化と吸収 1996; 19: 53-6.
- 4) Nakamura T, Tando Y, Terada A, et al. Can pancreatic steatorrhea be diagnosed without chemical analysis. Int J Pancreatol 1997; 22: 121-5.
- 5) Nakamura T, Kikuchi H, Takebe K, et al. Faecal lipid excretion levels in normal Japanese females on an unrestricted diet and a fat-restricted diet measured by simultaneous analysis of faecal lipids. J Int Med Res 1992; 20: 461-6.
- 6) Nakamura T, Takeuchi T, Terada A, et al. Near-infrared spectrometry analysis of fat, neutral sterol, bile acids, and short-chain fatty acids in the feces of patients with pancreatic maldigestion and malabsorption. Int J Pancreatol 1998; 23: 137-43.
- 7) 梶 麻子, 中村光男, 渡辺 拓, 他. 膵外分泌不全診断のための $^{13}\text{C}$ 標識混合中性脂肪を用いた呼気消化吸收試験法の開発とその臨床的意義. 膵臓 1999; 14: 8-15.
- 8) 梶 麻子, 中村光男, 渡辺 拓, 他.  $^{13}\text{C}$ 標識脂肪を用いた消化吸收呼気試験の膵外分泌不全患者に対する膵消化酵素製剤の効果判定の有用性について. 消化と吸収 1999; 22: 54-7.

# ヒト膵腺房周囲線維芽様細胞 (hPFCs) の procollagen, matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) 産生に 及ぼす pro-inflammatory cytokine の影響

研究報告者 馬 場 忠 雄

滋賀医科大学第二内科

共同研究者 新 谷 寛 中 村 文 泰 五 月 女 隆 男

**要旨：**ヒト膵腺房周囲線維芽様細胞 (hPFC) を用いて pro-inflammatory cytokine である, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  の procollagen と MMP-1, TIMP-1 分泌能について検討した。IL-1 $\beta$  や TNF- $\alpha$  刺激では MMP-1, TIMP-1 の分泌が亢進し, TGF- $\beta$  刺激では pro-collagen 分泌能が亢進していた。Cytokine の combination による刺激実験においても同様の効果が認められたが, MMP-1 分泌に関しては IL-1 $\beta$ +TNF- $\alpha$  刺激により相乗効果が認められた。膵炎における線維化には種々の cytokine が関与し, 組織構築が fibrogenesis と fibrolysis のバランスにより動的に制御されているものと考えられる。

## 背景および目的

慢性膵炎における膵の線維化には組織学的に小葉間線維化と小葉内線維化があるが, 近年膵実質の脱落壊死などを伴わない線維化が報告されている。我々はこれまで, 膵腺房周囲に存在する間葉系細胞群を用いて膵の線維化への関与を検討してきた。今回, pro-inflammatory cytokine 存在下における, ヒト膵腺房周囲線維芽様細胞 (hPFC) のコラーゲン分泌および分解能を procollagen type-1 c-terminal peptide (PIP), matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) および tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) の分泌により検討した。

## 方 法

既報<sup>1)</sup>の方法により, 分離培養した継代3代目の hPFC を用い以下の実験を行った。hPFC を 24 well culture plate に  $5.0 \times 10^5$  cells/ml で播種し, confluence の状態で cytokine を IL-1 $\beta$  (0.01–10 ng/ml), TNF- $\alpha$  (0.01–100 ng/ml), TGF- $\beta$  (0.1–10 ng/ml) を添加した。37°C, 5% CO<sub>2</sub> 環境下で培養し24時間後の培養上清中に分泌された PIP, MMP-1, TIMP-1 を ELISA 法にて測定した。また, 同様の条件下の hPFC を用い, IL-1 $\beta$  1 ng/ml, TNF- $\alpha$  10 ng/ml, TGF- $\beta$  10 ng/ml の各濃度における cytokine combination による PIP, MMP-1, TIMP-1 分泌を測定した。

## 結 果

pro-inflammatory cytokine 刺激24時間後の MMP-1 は、IL-1 $\beta$  (図1), TNF- $\alpha$  (図2) ともにその分泌能は用量依存性に亢進した。最大刺激による MMP-1 分泌は非刺激時に比して、IL-1 $\beta$  では4倍に、TNF- $\alpha$  では約3.1倍に増加した。TGF- $\beta$  刺激により TIMP-1 分泌亢進が、また MMP-1 分泌抑制がともに TGF- $\beta$  の濃度依存性に認められた(図3)。TGF- $\beta$  刺激により、MMP-1 は非刺激下の約0.6倍に抑制され、TIMP-1 は約2.6倍に増強された。

種々の pro-inflammatory cytokine の combination assay による MMP-1, TIMP-1, PIP 分泌能を、cytokine 非刺激時の各々の分泌量を1とした相対比で検討した。IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  は MMP-1, TIMP-1 ともに増加させたが、非刺激時に比して特に MMP-1 分泌を亢進させた。また、IL-1 $\beta$  と TNF- $\alpha$  の同時刺激では MMP-1 分泌に相乗効果が認められ約8倍の分泌亢進が認められた。TGF- $\beta$  刺激では PIP 分泌が増強され、MMP-1 分泌の減少、TIMP-1 分泌の増加が認められた(図4)。

## 考察及び結語

hPFC は細胞外基質を構成する蛋白を産生分泌し、また pro-inflammatory cytokine 刺激により、細胞増殖やコラーゲン合成が抑制されていることを示してきた<sup>2,3)</sup>。今回の検討では細胞外基質の溶解に関与する MMP-1 を分泌し、それが pro-inflammatory cytokine による調節を受けている可能性が示唆された。一方、TGF- $\beta$  により hPFC は MMP-1 分泌抑制、PIP 分泌亢進にコントロールされ、線維化傾

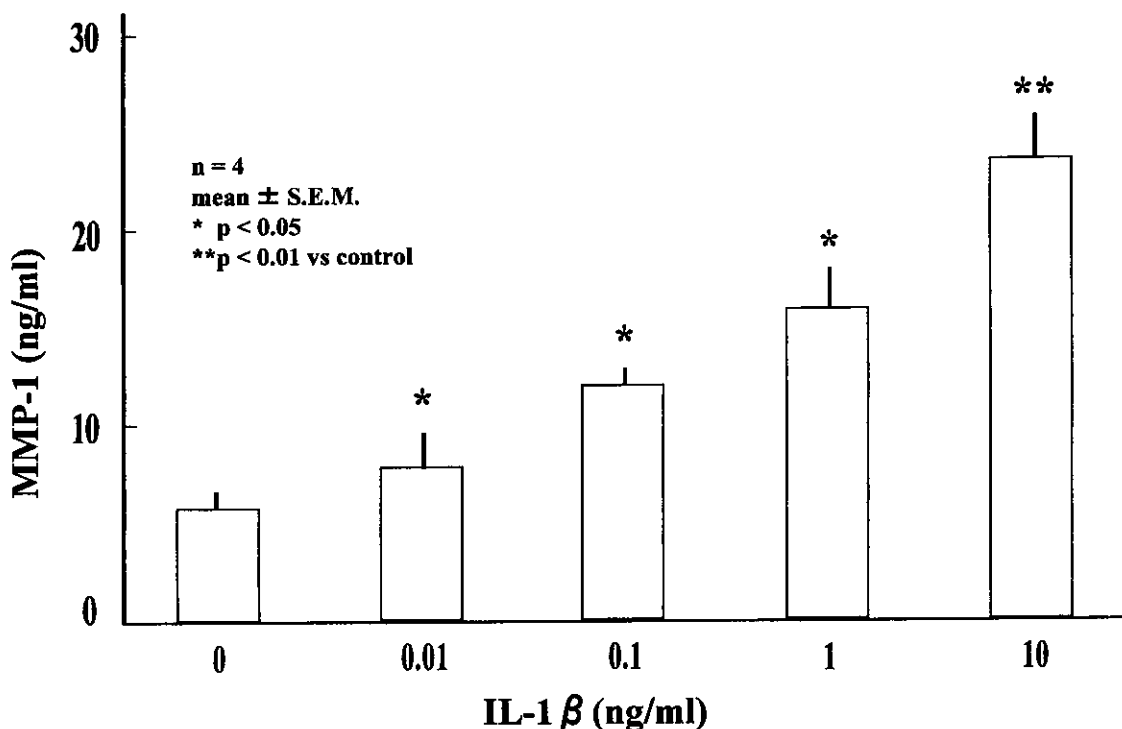


図1. IL-1 $\beta$  刺激下、hPFC より分泌される MMP-1

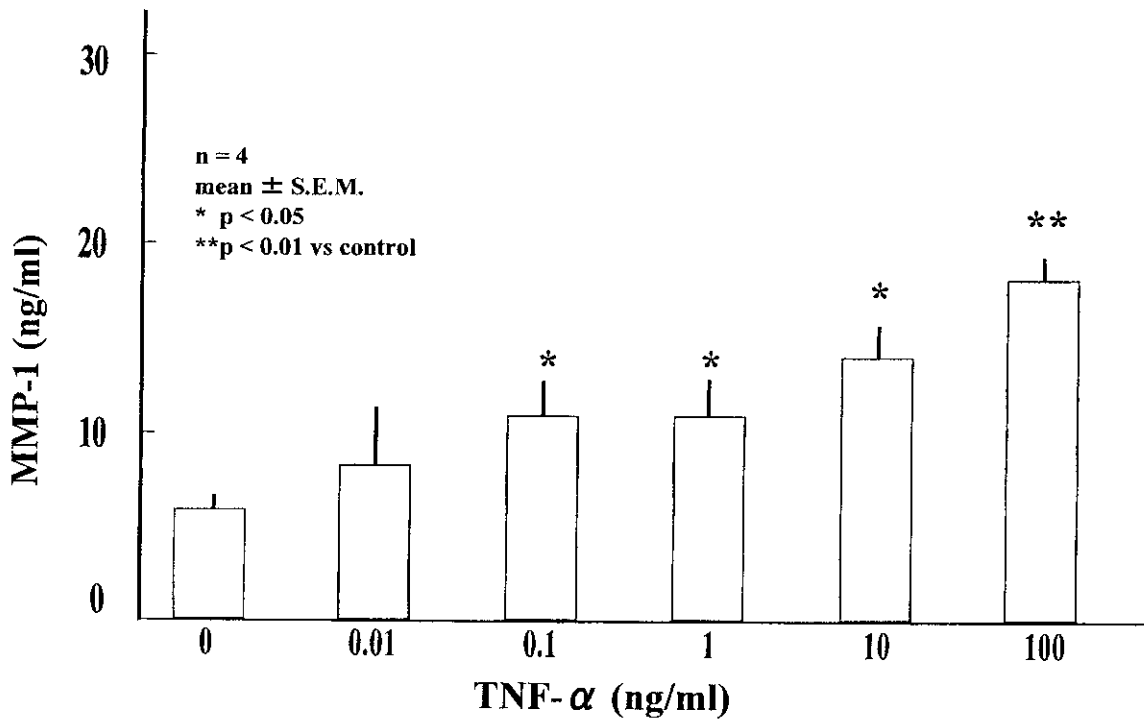


図 2. TNF- $\alpha$  刺激下, hPFC より分泌される MMP-1

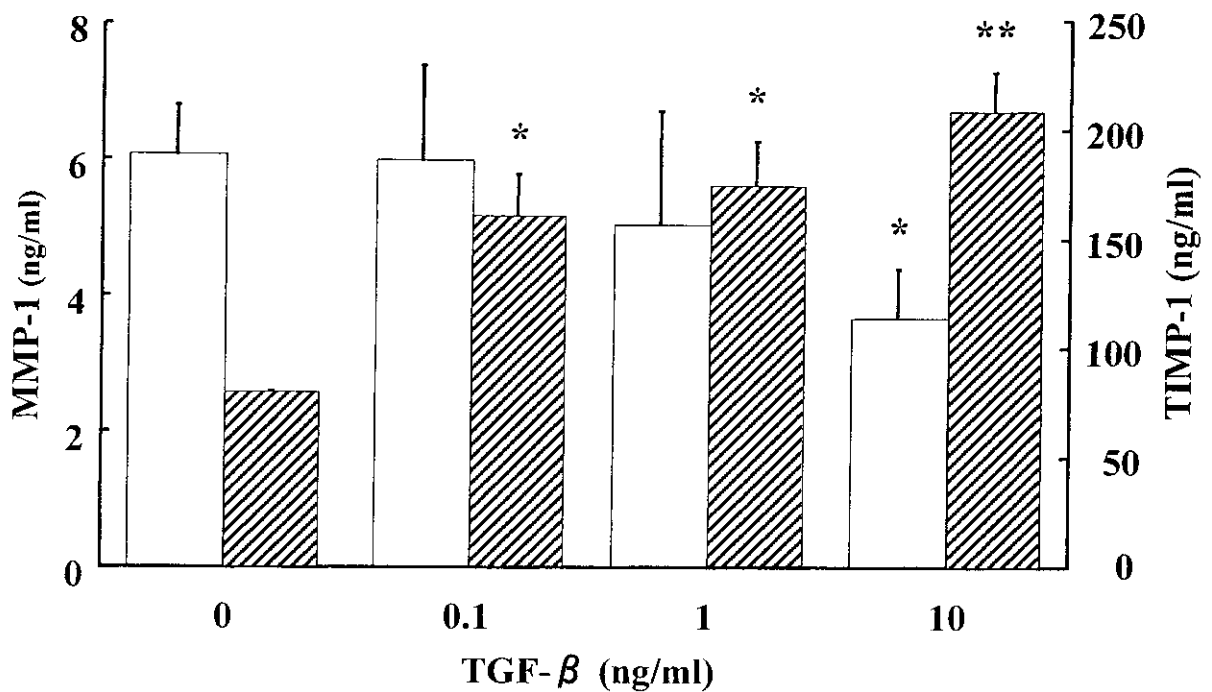


図 3. TGF- $\beta$  刺激下, hPFC より分泌される MMP-1 と TIMP-1 open column : MMP-1, oblique line column : TIMP-1

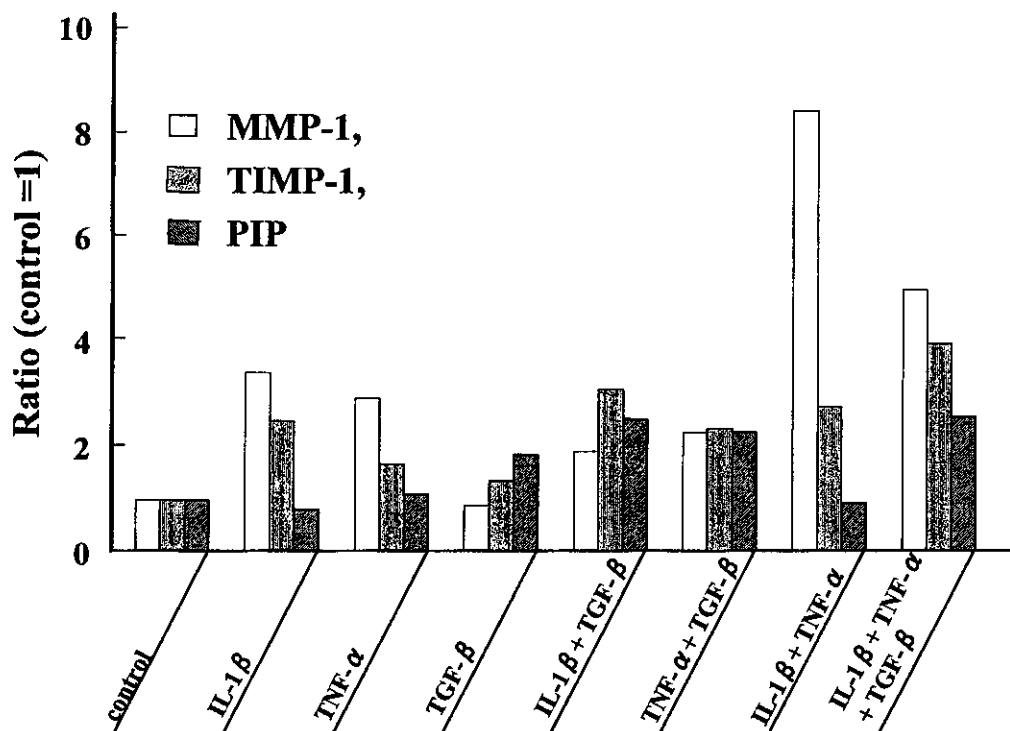


図4. IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  刺激下, hPFC より分泌される MMP-1, TIMP-1, PIP の非刺激時を1とした相対比率

向への counter regulation が存在することも示唆された。しかしながら、同時に TIMP-1 の分泌亢進も MMP-1 分泌に parallel に認められ、これらが細胞内、細胞外で線維化の進展においてお互いにどのような意義を持っているのか今後の検討の課題と考えられる。

膵炎症時における組織線維化には膵実質に存在する間葉系細胞群<sup>4)</sup>が重要な役割を持ち、その活性化には種々の pro-inflammatory cytokine が関与し、組織構築が fibrogenesis と fibrolysis のバランスにより動的に制御されていることが示唆された。

#### 参 考 文 献

- 1) Saotome T, Inoue H, Fujimiya M, et al. Morphological and immunocytochemical identification of periacinar fibroblast-like cells derived from human pancreatic acini. *Pancreas* 1997; 14: 373-82.
- 2) 馬場忠雄, 新谷 寛, 五月女隆男, 他. 肝胆膵構成細胞の分離培養法とその応用: 膵臓膵腺房周囲線維芽様細胞の分離・培養とコラーゲン合成. *肝胆膵* 1997; 35: 917-27.
- 3) Okumura Y, Shintani Y, Kato Y, et al. Proliferative effect of phospholipase A2 on rat periacinar fibroblastoid cells of the pancreas. *Pancreas* 1998; 16: 505-10.
- 4) 諸星利男, 宮坂信雄, 大池信之, 他. 膵線維化と間葉系細胞群. 本間達二, 原田英雄, 編. 人体および実験病理学的研究. 東京: 医学図書出版, 1997; 29-38.

## CCK-A 受容体遺伝子異常と慢性膵炎症例

研究報告者 船越 顕 博

国立病院九州がんセンター消化器内科

共同研究者 宮坂 京子

東京都老人研臨床生理

**要旨：**我々は、最近、肥満、糖尿病を自然発症するラットが、遺伝子異常により CCK-A 受容体を全く発現しないことを発見した。CCK およびその受容体 (CCK-A 受容体) は膵機能と密接な関係があることが知られている。そこで、CCK-A 受容体遺伝子異常という病態は膵疾患発症の増悪因子であるのではないかということが、我々のオリジナルな仮説である。その後、大規模な疫学調査により、CCK-A 受容体遺伝子多型が生活習慣病の上流に位置する肥満と有意のかかわりがあることを明らかにすることが出来た。すなわち、CCK-A 受容体遺伝子プロモーター領域多型は、肥満 (体脂肪増加)、血清レプチン、インスリン濃度上昇との有意の関連性があり、疾患群では、胆石症、慢性膵炎発症率の増加が示唆された。今後、CCK-A 受容体遺伝子のプロモーター領域の多型は膵炎、および胆石症の早期発見、予防の一助になると期待される。

### はじめに

Cholecystokinin (CCK) は消化管ホルモンとして、また神経伝達物質として生体内に広く分布し、多彩な生物活性をもつ。十二指腸に存在する CCK は強力な胆嚢収縮、膵内外分泌刺激ホルモンとして働き、膵臓に対し栄養効果を持つ。我々は以前より痛みを伴う慢性膵炎症例では有意の血中 CCK 上昇を認めることを報告して来たり。一方、CCK には CCK-A, -B receptor (受容体) があり、CCK-A 受容体は膵、胆嚢、中枢神経系の一部に存在し、7 回膜貫通、G 蛋白共役型の一連の受容体と同一の構造を有している<sup>1)</sup>。我々は糖尿病 (NIDDM) 実験動物モデルとして開発された OLETF ラット<sup>2)</sup> が膵 CCK-A 受容体遺伝子発現が欠損していることを発見した<sup>3)</sup>。また、このラットは膵と脳の CCK-B 受容体の発現は正常であった<sup>3)</sup>。次に、更に詳細に CCK-A 受容体遺伝子構造の解析を行なった結果、プロモーター領域よりエクソン 2 までの約 6.8kb に渡って欠失変異を起こしていることを見いだした<sup>4)</sup>。この変異は、14 番常染色体上にある本遺伝子にホモ接合 (-/-) で起こっていた。これらの遺伝子解析の結果から、OLETF ラットは CCK-A 受容体遺伝子の構造異常のため CCK-A 受容体が発現しないことが確認され、自然発症 “CCK-A 受容体遺伝子のノックアウトラット” であると結論出来る。

その後、CCK-A 受容体欠損に基づくと思われる OLETF ラットの病態が種々確認された。即ち、OLETF ラットは膵外分泌機能異常 (特に蛋白分泌能の低下)<sup>5)</sup>、膵成長、肥大、再生の遅延<sup>6,9,10)</sup>、インスリン分泌反応の低下<sup>11)</sup>、胃粘膜の肥大、胃酸分泌の亢進<sup>12)</sup>、胃排出能の変化<sup>13)</sup>、過食<sup>9)</sup>、探索活動の低下<sup>14)</sup>、生体調節リズム異常<sup>15,16)</sup> 等が現在までに観察されている。また、CCK-A 受容体欠損 (OLETF) ラットと正常ラットとを交配実験の結果、CCK-A 受容体欠損単独で約 20%、X 染色体上にある ODB-1 肥満遺伝子<sup>17)</sup> の存在単独が約 18% の頻度でそれぞれ耐糖能異常を生じさせた。CCK-A 受容体欠損と



ODB-1 遺伝子の存在両方で、耐糖能異常は35% (有意) 発症した<sup>18)</sup>。また CCK-A 受容体欠損では、正常あるいはヘテロに比較し、3, 4 倍の高率で糖尿病を発症した。以上の結果から、CCK-A 受容体欠損という病態は、糖尿病の直接の原因ではないけれども (CCK-A 受容体欠損動物全部が糖尿病になるわけではないので)、過食、肥満、糖尿病発症を促進しているのではないかと、ということが考えられた。このことから、臨床的には CCK-A 受容体異常という病態は、肥満、糖尿病、胆石症、膵疾患の単一の原因ではないが、発症のエンハンサーなのではないかということが想定される。しかも、先天的 CCK-A 受容体欠陥は CCK-B 受容体ノックアウトマウス<sup>19)</sup>と同様致死的ではなく、ヒトにおいても同様の遺伝子異常が存在しても不思議ではない。

### 1. CCK-A 受容体遺伝子の異常

ラットでえられた結果をもとに、CCK-A 受容体欠損または異常という病態は、単独の異常では肥満の原因遺伝子にはなりえないが、肥満、および、生活習慣病発症の増悪因子なのではないかと仮説をたてた。そこで、ヒトにラットと同様の遺伝子の異常が存在するかどうかを検討した。まず、ヒト CCK-A 受容体の遺伝子クローニングを行い全塩基配列を決定した<sup>20)</sup>。その結果ヒト CCK-A 受容体の遺伝子もラットと同じく5つのエクソン、4つのイントロンから構成されていた。次に Capsite Hunting により、ヒト CCK-A 受容体プロモーター領域の読み始めを決定した (図1)。

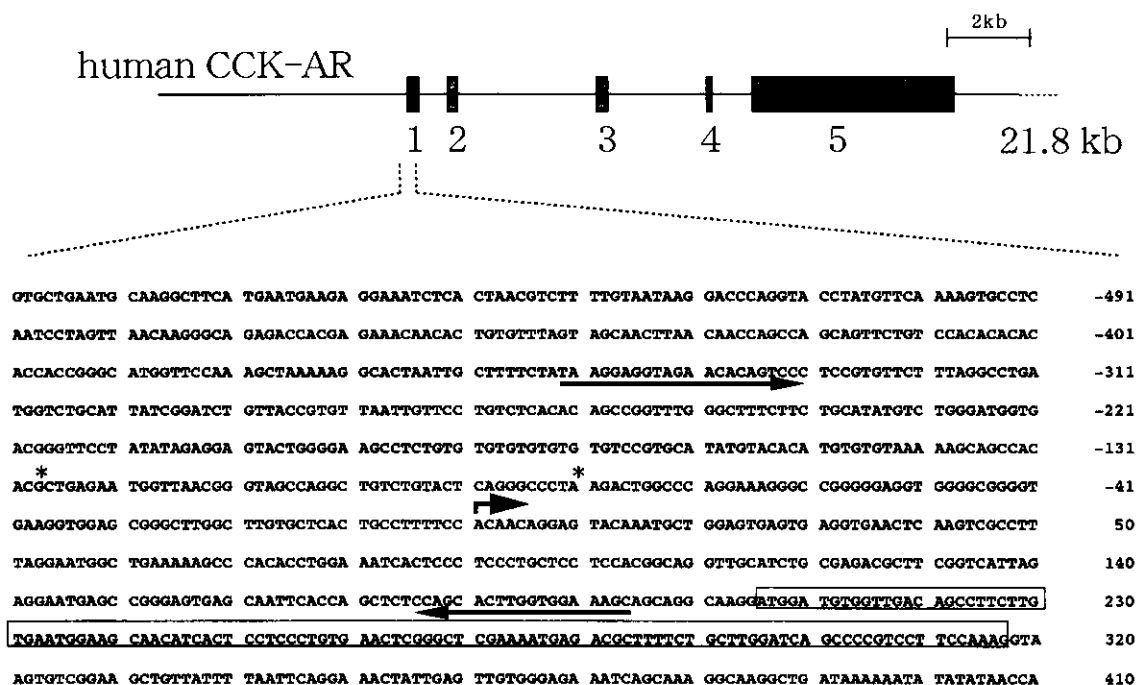


図1. Exon mapping and nucleotide sequence of the 5'-flanking region of the human CCK-A receptor gene.

Closed boxes in the genomic DNA show exons each of which is numbered below. The transcriptional initiation site determined by the cap site hunting method was assigned as +1. The positions of sense and antisense primers used for the polymorphism determination are underlined. Asterisks indicate the nucleotide change positions (G to T change in nucleotide-128, and an A to G change in nucleotide-81. Coding region in exon 1 was boxed.

次に、末梢白血球 Genomic DNA を用いる Southern blotting では正常人及び、糖尿病、胆石症患者の間で制限酵素切断フラグメントに差を認めず、両群間で大きな遺伝子構造上の差異はないものと思われた。

## 2. ヒトにおける CCK-A 受容体遺伝子異常

ヒト CCK-A 受容体遺伝子の各エクソン部位を SSCP 法とシーケンス法<sup>21,22)</sup> で検討した結果、糖尿病6症例の異常、膵癌では1症例のみの異常を認めた。シーケンスの結果ではイントロン1の塩基置換ないしはエクソン3のアミノ酸の異常を伴わない塩基置換を認めたのみで、CCK-A 受容体の機能変化は来さないものと判断された。しかも、胆石症ではほとんど異常を認めなかった。一方、プロモーター領域をクローニングによるシーケンス法で検討したところ、人種差は見られないが、2箇所塩基(-128番目の塩基GがTに、-81番目の塩基AがGに変化)の point mutation, 即ち遺伝子多型(図1)が認められた。この領域にはメチル化感受性部位が多く存在し、mutationによりCCK-A 受容体遺伝子の発現が変化する可能性がある。

ヒトにおけるCCK-A 受容体異常と病態についての報告は、今までのところ、非常にすくない。肥満の胆石症患者胆嚢におけるCCK-A 受容体 mRNA の alternative splicing<sup>23)</sup> と肥満を伴う糖尿病患者白血球 DNA の CCK-A 受容体 missense variance<sup>22)</sup> である。しかし、これらは、症例報告であり、病態と遺伝子異常との因果関係については、不明である。今後の課題は、CCK-A 受容体発現調節の分子機構を明らかにしていくことである。

ラットでは、胎児期の膵臓にはB受容体遺伝子発現があり、生後B受容体が消褪してA受容体が発現する<sup>3)</sup>。このCCK-A 受容体遺伝子発現には脱メチル化が重要であることを確認した<sup>24)</sup>。つまり脱メチル化と mRNA 発現量とが相関しており、脱メチル化のない肝臓では発現がない。また、上記の遺伝子プロモーター領域の塩基置換部位を含むように種々のサイズの DNA 断片を作製し、転写活性を測定する系をつくり、塩基置換の有無による発現の差を比較する。さらに、CCK-A 受容体 mRNA の定量にむけて、competitive PCR 法の確立を試みている。

## 3. 新しい肥満関連遺伝子として CCK-A 受容体遺伝子異常

プロモーター領域の遺伝子多型と疾患との関係が上述のごとく示唆される結果を得たので、この多型の有無を検討する簡便なる PCR-RFLP 法を確立した。これをもとに40-70才台約1300人の National Institute for Longevity Sciences-Longitudinal Study of Aging (NILS-LSA) 住民検診(長寿医療研究センター疫学研究部, 下方浩史部長研究委託事業: 9公-03)<sup>25)</sup> の CCK-A 受容体遺伝子多型の有無を検討した。この方法により、理論的に10種類の CCK-A 受容体遺伝子多型が区別できる(図2)。しかし、type 4, 6, 8, 9 はこれまでに解析をおこなってきた総計約1300例においては検出されていない。ホモ接合体である type 10 (T/T, G/G) の出現頻度は約2%であった。約40%に何らかの多型を有する CCK-A 受容体遺伝子異常が認められたが、40-70才台では年齢による変化は認めなかった(表1)。さらにこの CCK-A 受容体遺伝子多型を有する場合は、体脂肪量が増加し、およびヒトにおける肥満との関連が深い血清レプチン濃度上昇を示す結果が得られた。とくに、type 10 (T/T, G/G) 群では種々の肥満関連因子との有意の相関を認めた(表2)。即ち、CCK-A 受容体遺伝子多型は新しい肥満関連遺伝子として位置付けられると思われる。

## 4. 慢性膵炎発症の高危険因子群

各種胆-膵疾患において PCR-RFLP 法でプロモーター領域の遺伝子多型の関連を調べると、胆石症49例のうち22例(45%)、胆嚢癌症例18例のうち11例(61%)、膵癌症例53例のうち22例(42%)、慢性膵

Type	1 Wild	2	3	4	5	6	7	8	9	10
bp										
Nt.-128	GG	GG	GG	GT	GT	GT	GT	TT	TT	TT
Nt. -81	AA	AG	GG	AA	AG	GA	GG	AA	AG	GG
103	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
83		—	—			—	—			
70				—		—		—	—	
50					—		—		—	—
33				—	—	—	—	—	—	—
20		—	—		—	—	—		—	—

図 2 . PCR-RFLP assays of the CCK-A receptor gene promoter.

The promoter PCR products (103bp) digested with Hinf I were analyzed by 12% polyacrylamide gel electrophoresis and visualized by staining with ethidium bromide.

表 1 . Genotypic frequencies for the cholecystokinin type-A receptor (CCKAR) promoter polymorphism

Subjects	n	Combination of Genotype										p*	
		G/G, A/A		G/G, A/G		G/G, G/G		G/T, A/G		G/T, G/G			T/T, G/G
Male	496	300	60.5%	70	14.1%	4	0.8%	98	19.8%	16	3.2%	8	1.6%
Female	476	274	57.6%	67	14.1%	7	1.5%	106	22.3%	9	1.9%	13	2.7%
Age 40s	238	145	60.9%	38	16.0%	3	1.3%	41	17.2%	6	2.5%	5	2.1%
50s	236	148	62.7%	29	12.3%	4	1.7%	44	18.6%	3	1.3%	8	3.4%
60s	252	145	57.5%	33	13.1%	4	1.6%	57	22.6%	10	4.0%	3	1.2%
70s	246	136	55.3%	37	15.0%	0	0.0%	62	25.2%	6	2.4%	5	2.0%
Total	972	574	59.1%	137	14.1%	11	1.1%	204	21.0%	25	2.6%	21	2.1%

Combinations of genotype *G/T, A/A, T/T, A/A* and *T/T, A/G* were not found.

\*Comparison of genotype distributions by age and gender (Chi-square statistics)

表 2. CCK-A receptor genotypes and various body fat content parameters

Genotype	Wild (G/G, A/A) and Hetero types	Homo (T/T, G/G) type	p value
	n=1271	n=25	
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	22.8 (0.09)	23.9 (0.78)	0.076
Serum leptin (ng/ml)	5.7 (0.14)	8.8 (2.18)	0.003
Serum insulin (μU/ml)	7.9 (0.13)	9.8 (1.32)	0.038
DXA fat (%)	26.3 (0.20)	29.3 (1.67)	0.041

Mean (SE). Statistical differences in phenotypic parameters between the two genotypic groups were analyzed by the Student's t test. Statistical significance was assumed with a P value < 0.05.

炎34例のうち20例 (59%), 糖尿病355例のうち135例 (38%) に多型が観察された。今後、この CCK-A 受容体遺伝子多型と胆嚢癌, 慢性膵炎発症の高危険因子群との関連は興味深い分野と思われる。

## 結 論

CCK-A 受容体遺伝子の構造異常は胆嚢疾患, 肥満との関連性を有する可能性が推測された。しかし, 他の遺伝子異常との合併および環境因子 (ライフスタイル, 食習慣) の変化も重要と考えられる。

## 参 考 文 献

- 1) Funakoshi A, Nakano I, Shinozaki H, et al. High plasma cholecystokinin levels in patients with chronic pancreatitis having abdominal pain. *Am J Gastroenterol* 1986; 81: 1174-8.
- 2) Wank SA. Cholecystokinin receptors. *Am J Physiol* 1992; 269: G628-46.
- 3) Kawano K, Hirashima T, Mori S, et al. Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. *Diabetes* 1992; 41: 1422-8.
- 4) Funakoshi A, Miyasaka K, Shinozaki H, et al. An animal model of congenital defect of gene expression of cholecystokinin (CCK)-A receptor. *Biochem Biophys Res Comm* 1995; 210: 787-96.
- 5) Miyasaka K, Kanai S, Ohta M, et al. Lack of satiety effect of cholecystokinin (CCK) in a new rat model not expressing the CCK-A receptor gene. *Neurosci Lett* 1994; 180: 143-6.
- 6) Takiguchi S, Takata Y, Funakoshi A, et al. Disrupted cholecystokinin type-A receptor (CCK-AR) gene

- in OLETF rats. *Gene* 1997 ; 197 : 169-75.
- 7) Miyasaka K, Masuda M, Kawanami T, et al. Neurohormonal regulation of pancreatic exocrine function in rats without gene expression of cholecystokinin-A receptor. *Pancreas* 1996 ; 12 : 272-9.
  - 8) Miyasaka K, Ohta M, Kanai S, et al. Role of cholecystokinin (CCK)-A receptor for pancreatic growth after weaning : A study in a new rat model without gene expression of the CCK-A receptor. *Pancreas* 1996 ; 12 : 351-6.
  - 9) Miyasaka K, Ohta M, Tateishi K, et al. Role of cholecystokinin (CCK)-A receptor in pancreatic regeneration after pancreatic duct occlusion : a study in rats lacking CCK-A receptor gene expression. *Pancreas* 1998 ; 16 : 114-23.
  - 10) Miyasaka K, Ohta M, Masuda M, et al. Retardation of pancreatic regeneration after partial pancreatectomy in a strain of rats without CCK-A receptor gene expression. *Pancreas* 1997 ; 14 : 391-9.
  - 11) Funakoshi A, Miyasaka K, Kanai S, et al. Pancreatic endocrine dysfunction in rats not expressing the cholecystokinin-A receptor. *Pancreas* 1996 ; 12 : 230-6.
  - 12) Miyasaka K, Kanai S, Ohta M, et al. Overexpression of cholecystokinin (CCK)-B/gastrin receptor gene in the stomach of naturally occurring CCK-A receptor gene knockout rats. *Digestion* 1998, 59 : 26-32.
  - 13) Shoji E, Okumura T, Onodera S, et al : Gastric emptying in OLETF rats not expressing CCK-A receptor gene. *Dig Dis Sci* 1997 ; 42 : 915-9.
  - 14) Kobayashi S, Ohta M, Miyasaka K, et al. Decrease in exploratory behavior in naturally occurring cholecystokinin (CCK)-A receptor gene knockout rats. *Neurosci Lett* 1996 ; 214 : 61-4.
  - 15) Ichikawa M, Miyasaka K, Fujita Y, et al. Dissappearance of diurnal rhythm of energy expenditure in genetically diabetic obese rats. *Jpn J Physiol* 1998, 48 : 211-4.
  - 16) Yamanouchi S, Shimazoe T, Nagata S, et al : Decreased level of light-induced Fos expression in the suprachiasmatic nucleus of diabetic rats. *Neurosci Lett* 1997 ; 227 : 103-6.
  - 17) Hirashima T, Kawano K, Mori S, et al. A diabetogenic gene (ODB-1) assigned to the X-chromosome in OLETF rats. *Diabetes Res Clin Pract* 1995 ; 27 : 91-6.
  - 18) Takiguchi S, Takata Y, Takahashi N, et al. A disrupted cholecystokinin A receptor gene acted synergistically with ODB-1 gene to diabetic in obese rats. *Am J Physiol* 1998 ; 274 : E265-70.
  - 19) Nagata A, Ito M, Iwata N, et al. G protein-coupled cholecystokinin-B/gastrin receptors are responsible for physiological cell growth of the stomach mucosa in vitro. *Proc Natl Acad Sci* 1996 ; 93 : 11825-30.
  - 20) Funakoshi A, Miyasaka K, Matsumoto H, et al. Gene structure of human cholecystokinin (CCK) type-A receptor : body fat content is related to CCK type A receptor gene promoter polymorphism. *FEBS Lett* 2000 ; 466 : 264-6.
  - 21) 船越顕博, 瀧口総一, 宮坂京子. CCK-A 受容体遺伝子の構造異常と疾病. *消化器科* 1999 ; 28 : 598-605.
  - 22) Inoue H, Iannotti CA, Welling CM, et al. Human cholecystokinin type A receptor gene : cytogenetic localization, physical mapping, and identification of two missense variants in patients with obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Genomics* 1997 ; 42 : 331-5.
  - 23) Miller LJ, Holicky EL, Ulrich CD, et al. Abnormal processing of the human cholecystokinin receptor gene in association with gallstones and obesity. *Gastroenterology* 1995 ; 109 : 1375-80.
  - 24) Matsusue K, Takiguchi S, Takata Y, et al. Expression of cholecystokinin type A receptor gene correlates with DNA demethylation during postnatal development of rat pancreas. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 ; 264 : 29-32.

## 血清膵酵素に及ぼす飲酒の影響：断酒による検討

研究報告者 丸山 勝也

国立療養所久里浜病院

共同研究者 高橋 久雄 奥山 啓二 横山 顕

中村 雄二

**要旨：**アルコール依存症者における断酒後の各種血清膵酵素値の変動について検討した。入院時異常高値を示した各種血清膵酵素のうちアミラーゼ，エラスターゼ-1，リパーゼ値は断酒後速やかに低下し4週以降に正常範囲内にまで低下した。以上より長期にわたる大量飲酒により影響を受けていた膵障害は断酒により速やかに改善するものと思われたが，血清膵酵素で経過観察する場合約1ヶ月かかることが明らかとなった。一方血清アミラーゼは他の膵酵素と動向を共にせず断酒後一時的に上昇したこと，また肝硬変症例で非肝硬変非慢性膵炎症例に比し断酒後著明に上昇し，4週以降低下するようになってもその低下は緩やかであった点に関して，今後その機序の解明が必要と思われた。今回の検討結果は，アルコール多飲による膵障害患者の経過観察および断酒の指導に有用となるものと思われた。

### はじめに

我国の膵疾患に於ける成因として，アルコールの関与は急性膵炎で40%，慢性膵炎で60%と高率であることが報告されている。一方，著者らは平成3年度の厚生省特定疾患難治性膵疾患調査研究班における研究において，アルコール依存症者における膵障害の頻度について報告したが，その中で断酒直後では血清アミラーゼ：10.1%，血清PSTI：16%，血清リパーゼ：29.1%，血清エラスターゼ-1：42.4%，そしてこれらの検査のいずれかが異常高値を示した率は53.5%と高率であることを明らかにした。以上の報告より大量飲酒が血清膵酵素値に大きな影響を及ぼすことは明らかであるが，断酒によりどのように改善するのかについての報告は少ない<sup>2)</sup>。そこで今回は，アルコール依存症者の各種血清膵酵素値について，断酒後どのように変化するのか検討を行った。

### 対象および方法

国立療養所久里浜病院にアルコール依存症者の治療のために入院した男性患者のうち，入院直前まで飲酒しており血清膵酵素であるアミラーゼ，エラスターゼ-1，リパーゼ，PSTIのいずれかが入院時異常高値を示した症例80例を対象とした。入院時異常高値を示した各種血清膵酵素検査値について入院後1，2，4，8，12週まで経過観察を行った。また80症例全例における各種血清膵酵素検査値の変動についても検討を行った。80症例のうち肝硬変患者，慢性膵炎患者，そして非肝硬変非慢性膵炎患者における各種血清膵酵素検査値の変動についても比較検討を行った。さらに入院回数が2回以上の症例において，2回目の入院時の血清膵機能検査値が1回目のそれに比較して増悪するか否かについても検討を行った。

なお血清膵酵素の異常高値はアミラーゼ200IU/L以上, エラスターゼ-1 400ng/ml以上, リパーゼ55 IU/L以上, PSTI 22.7ng/ml以上とした。

## 結 果

80症例中入院時血清アミラーゼが異常高値を示した症例は20例であり, その値は $280.4 \pm 86.0$  (mean $\pm$ SD)であった。入院後1週では $283.1 \pm 102.9$  (n=20), 2週後 $293.7 \pm 221.9$  (n=20)と入院時よりさらに上昇した。しかし4週後 $224.6 \pm 94.1$  (n=20), 8週後 $202 \pm 76.4$  (n=20)と次第に低下し, 12週後には $191.7 \pm 73.9$  (n=11)と正常範囲内にまで低下した(図1)。同様に入院時血清エラスターゼ-1値が異常高値を示した症例は66例と高頻度であり, その値は $906.5 \pm 746.2$ と高値であった。入院後4週では $344.2 \pm 141.3$  (n=61), 8週後では $248.5 \pm 84.3$  (n=49)と著明に低下した。血清リパーゼ値は入院時 $121.7 \pm 111.4$  (n=23), 1週後 $78 \pm 36.1$  (n=21), 2週後 $67.9 \pm 31.8$  (n=20), 4週後 $40.5 \pm 17.9$  (n=13)と漸次低下し正常範囲内となったが, 8週後 $32.3 \pm 16.4$  (n=6), 12週後 $28.3 \pm 11.8$  (n=4)とさらに低下した(図3)。血清PSTI値は入院時 $45.6 \pm 28$  (n=22)と高値であったが4週後には $17.1 \pm 5.5$  (n=22)と低下し正常範囲内となったが, 8週後には $14.5 \pm 5.1$  (n=17)とさらに低下した(図4)。各種血清膵酵素値の断酒後の変化率を, それぞれの前値を100%として比較するとエラスターゼ-1, リパーゼ, PSTIはほぼ同時に低下したが, アミラーゼだけは1, 2週は上昇し4, 8, 12週目では低下したが, その低下は緩やかであった(図5)。

80症例全例に於ける各種血清膵酵素値の断酒後の変動をみるとやはりエラスターゼ-1, リパーゼ, PSTI値は断酒後8週目まで低下したが, アミラーゼ値は1週後には上昇しその後低下し8週以降に安定した(図6)。またエラスターゼ-1値は入院時の値が他の検査値に比し著明に高値であったためか, そ

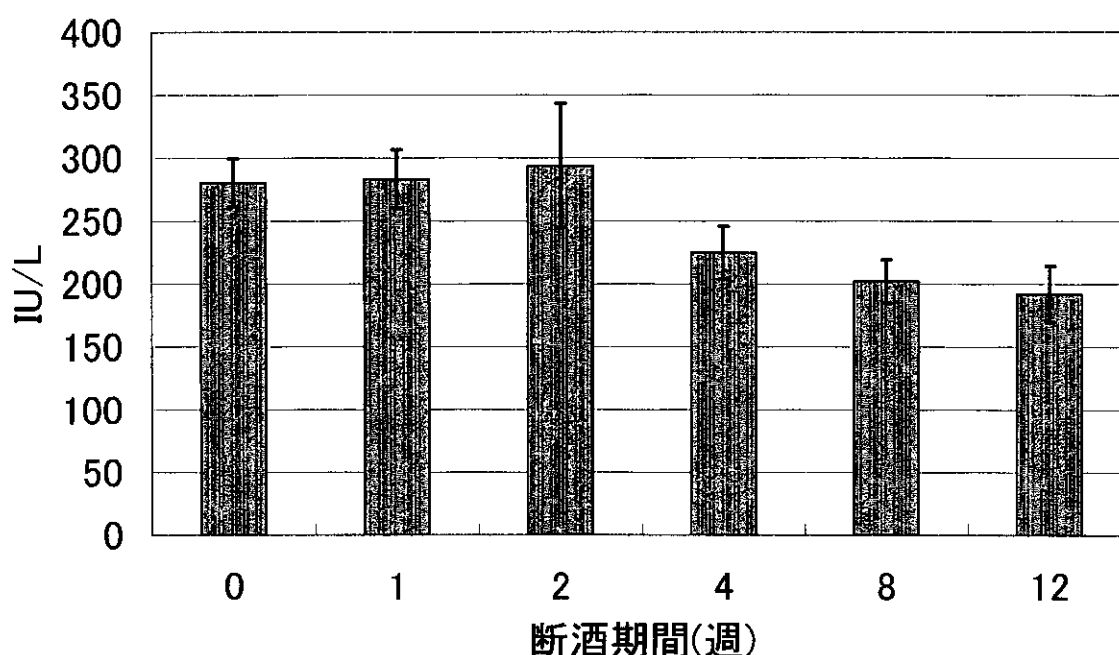


図1. アルコール依存症者の血清アミラーゼ高値例における断酒後の推移 (mean $\pm$ SE)

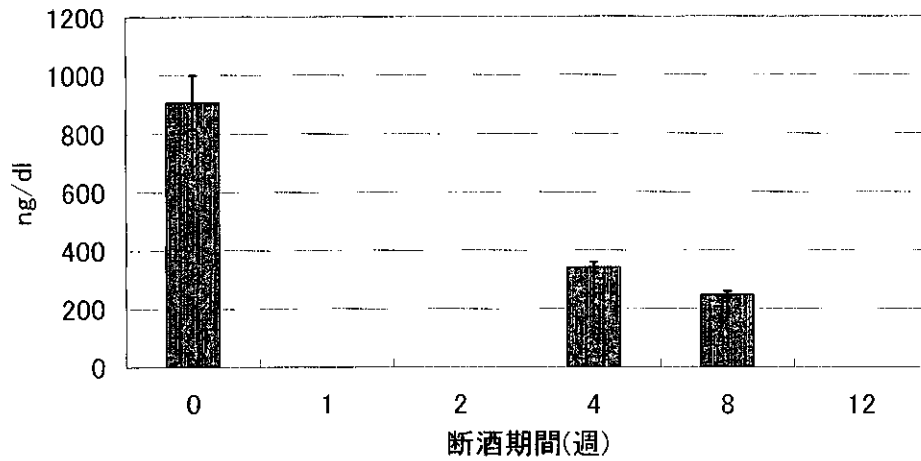


図2. アルコール依存症者の血清エラスターゼ-1 高値例における断酒後の変動 (mean±SE)

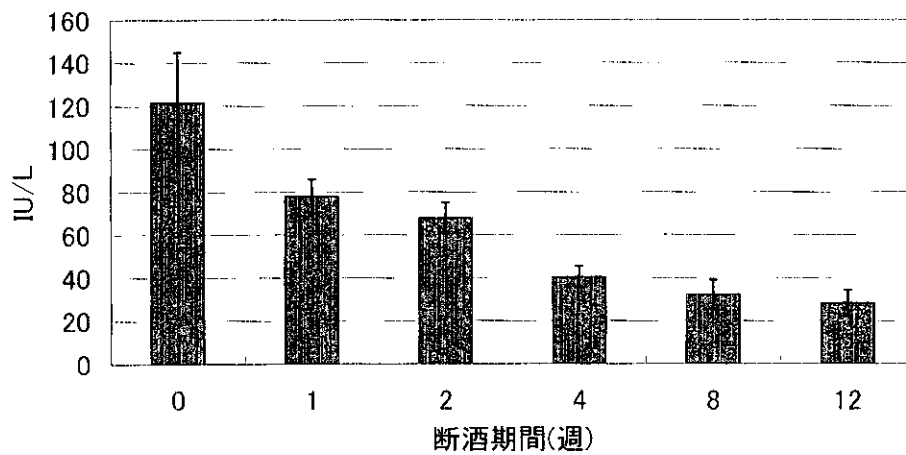


図3. アルコール依存症者の血清リパーゼ高値例における断酒後の変動 (mean±SE)

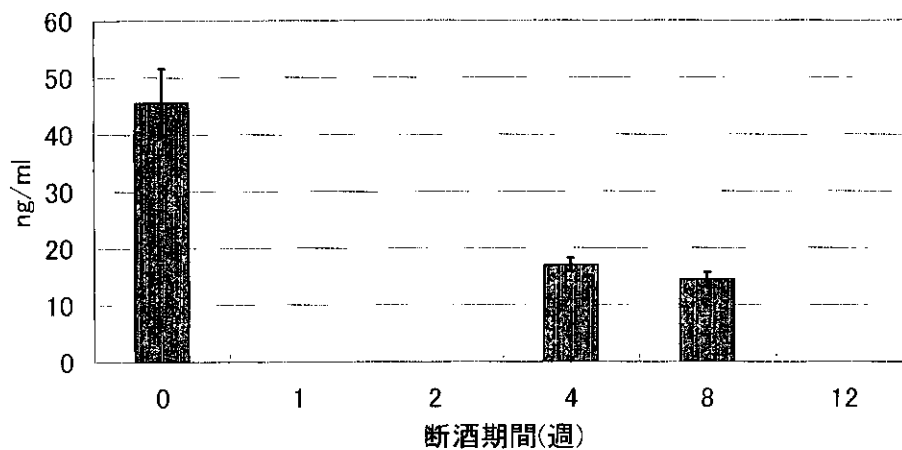


図4. アルコール依存症者の血清PSTI高値例における断酒後の変動 (mean±SE)



の低下率は最も大であった。リパーゼと PSTI はほぼ同等の低下率であったが、アミラーゼも1週目までの上昇を除くと、それ以降はリパーゼ、PSTI とほぼ同等の低下率を示した (図6)。

肝硬変症例、慢性膵炎症例、非肝硬変非慢性膵炎症例における各種膵酵素検査値の断酒後の変動については、エラスターゼ-1、リパーゼ、PSTI 値は肝硬変症例、非肝硬変非慢性膵炎症例ともに断酒後同じように低下した。しかしアミラーゼ値は肝硬変症例において入院時の値よりも1週目で、非肝硬変非慢性膵炎症例に比し著明に上昇した。そして2週目以降両群ともに低下したが、非肝硬変非慢性膵炎症例では8週目以降は入院時に比し低値を示すようになったのに対し、肝硬変症例では12週後になっても入院時の値に戻らなかった(図7)。慢性膵炎例では症例が4例と少ないためあまりはっきりとしたことはいえないが、アミラーゼ値の変動は他の2群に比し少ないようであった(図7)。

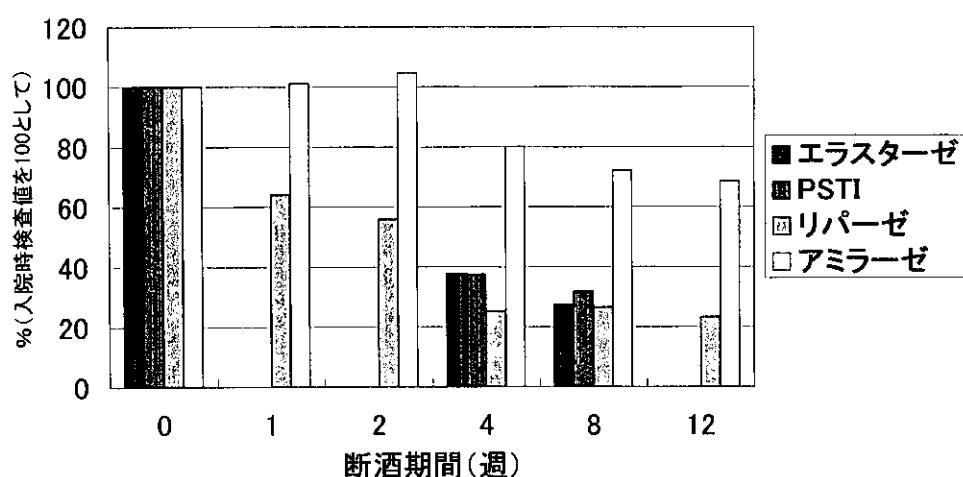


図5. アルコール依存症者における各種膵機能検査値の断酒後の変動 (異常高値例による検討)

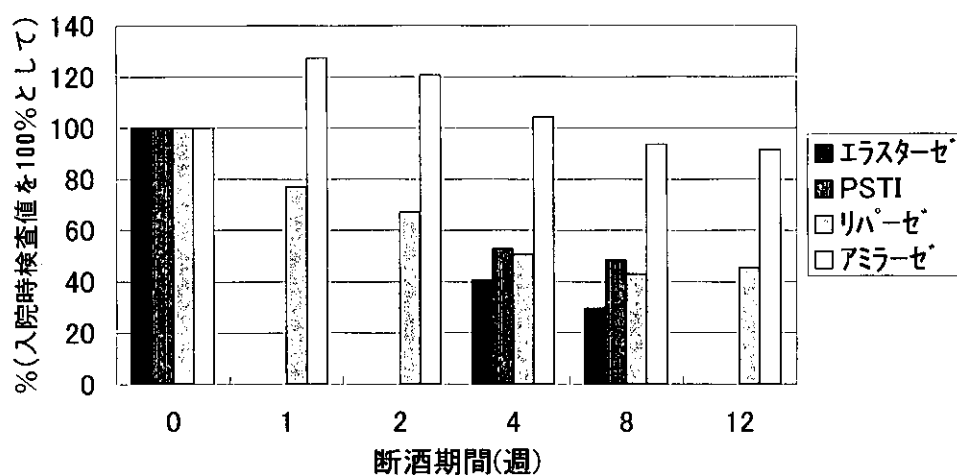


図6. アルコール依存症者における各種膵機能検査値の断酒後の変動 (全例による検討)

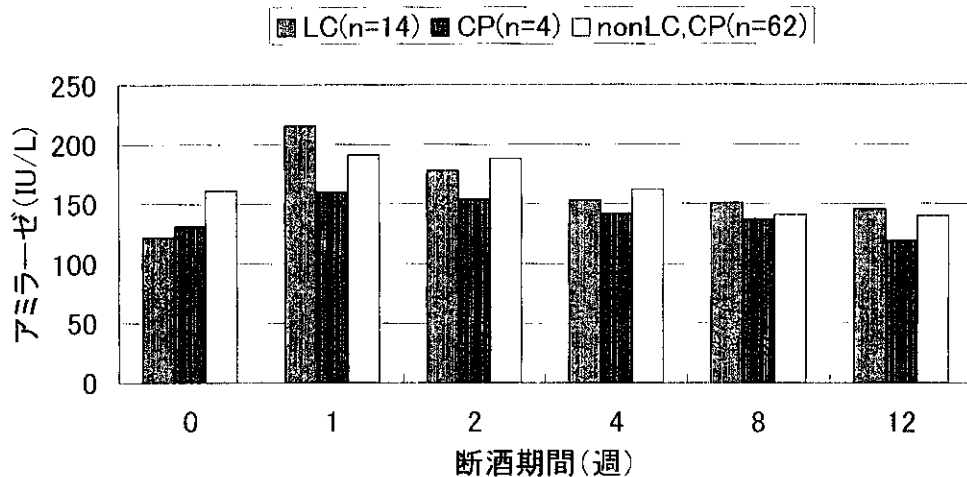


図7. アルコール性肝硬変 (LC), 慢性膵炎 (CP), 非肝硬変非膵炎 (nonLC, CP) 患者における血清アミラーゼ値の断酒後の変動

2回以上入院した症例における入院時の各種膵機能検査値は、2回目、その後の入院時共に、1回目のそれに比し特に上昇するという傾向はみられなかった。

## 考 案

アルコール依存症者の入院時に異常高値を示した各種血清膵酵素値の断酒後の変動は、エラスターゼ-1, リパーゼ, PSTI については、断酒後速やかに低下し4週以降に正常範囲内に低下したが、アミラーゼだけは断酒後逆に上昇し、約1ヶ月後より低下し8週以降に正常範囲内に低下した。これらエラスターゼ-1, リパーゼ, PSTI の結果より、飲酒により影響を受けていた膵障害(膵炎)は断酒により速やかに改善するが、それに要する期間は1ヶ月以上要するものと思われた。しかし各種血清膵酵素のうちアミラーゼだけは他の酵素と動向を共にせず、断酒後上昇を示した値は膵炎を表しているものとは思われなかった。一般に肝硬変症例では血清アミラーゼ値が上昇することがよく見られるが、そのアミラーゼは唾液腺由来とされている。肝硬変症例と非肝硬変非慢性膵炎症例を比較し血清アミラーゼ値の断酒後の変動を検討すると、肝硬変症例で断酒後の上昇が著明であり、また上昇した値は2ヶ月以降でも正常範囲に戻らなかった。これらの結果より断酒後に上昇した血清アミラーゼは、膵由来のものではなく唾液腺由来のものと思われた。ただ非肝硬変非慢性膵炎症例でも断酒後アミラーゼ値が上昇することが観察され、その機序は不明である。これらの患者の腎機能はクレアチニンレベルでは正常であり腎からの排泄障害とは思われず、断酒による唾液腺由来アミラーゼ産生の亢進か、逆に断酒直後は長期の飲酒により唾液腺由来アミラーゼの産生が抑制されていたことが考えられ、今後さらに検討が必要であろう。また肝硬変症例と非肝硬変症例との断酒後のアミラーゼ低下率の違いについては、肝におけるアミラーゼの排泄の違いを表している可能性も考えられ、その面からの検討も必要であろうと思われた。

## 結 語

今回の検討により、飲酒により異常高値を示した各種膵酵素値は低下安定するまでに断酒後1ヶ月以上もかかること、またアミラーゼはその指標としては適切ではなく、エラスターゼ-1 やリパーゼの検査が有用であることが示された。これらの結果は一般病院においてアルコール多飲による膵障害患者を経過観察および断酒指導をするさいに有用となるものと思われた。

## 参 考 文 献

- 1) 丸山勝也, 堀江義則, 宮口信吾, 奥山啓二, 高橋久雄, 高木 敏. アルコール依存症における膵障害の疫学的研究. 厚生省特定疾患難治性膵疾患調査研究班平成3年度研究報告書. 1992;46-8.
- 2) 早川哲夫, 野田愛司, 近藤孝晴, 浜野博次. 断酒後の血清膵酵素の変動からみたアルコール依存症の膵障害. 厚生省特定疾患難治性膵疾患調査研究班昭和56年度研究報告書. 1981;57-61.

# 各個研究 III

## — 臍囊胞線維症 —