

## 日本人 cystic fibrosis 患者の遺伝子診断に関する研究

研究報告者 吉村 邦彦 衛藤 義勝

東京慈恵医大DNA医学研究所 東京慈恵医大小児科

**要旨：**わが国をはじめとする東アジア諸国では嚢胞性線維症 (cystic fibrosis, CF) はきわめて稀な疾患と考えられ, CF の原因遺伝子である CFTR 遺伝子の変異解析もこれまで十分には行われていなかった。われわれは PCR-SSCP 解析と直接塩基配列解析を用いた CFTR 遺伝子変異の検出システムを構築し, これまでわが国の CF 患者の複数例において原因 CFTR 遺伝子変異を明らかにしてきた。今回, 典型的な日本人の CF 症例 2 例における原因 CFTR 遺伝子変異の解析結果を報告した。1 例は血族結婚家系の症例で, エクソン 17b の H1085R 変異のホモ接合体であり, もう 1 例はエクソン 4 の M152R 変異とエクソン 10 の 1540del10 変異の複合ヘテロ接合体であった。H1085R は世界でこれまで僅かに 1 例の報告のある変異であり, M152R と 1540del10 は共にこれまで報告のない新しい変異であった。わが国の CF 症例における CFTR 遺伝子診断では, 欧米のスクリーニング体制では変異が検出されない可能性が高く, 今後日本独自の変異スクリーニング体制の確立が必要である。

### 緒 言

嚢胞性線維症 (cystic fibrosis, CF) はコーカサス系白人種に極めて高頻度にみられる常染色体劣性遺伝性疾患であり, 欧米では出生時2,000-3,000人あたり 1 人の発症頻度を示す<sup>1-3)</sup>。1938年に初めて膵臓と肺を冒す疾患「膵嚢胞性線維症 (CF of the pancreas)」として記載された本症は, その後全身の外分泌臓器の疾患であることが明らかにされ, 現在では単に CF と称されるようになった<sup>4)</sup>。また CF は粘液分泌物の排泄障害を伴うことから “mucoviscidosis” とも呼称され, フランスなどでは未だにこの名称が用いられている<sup>5)</sup>。一方, 先天性両側精管欠損症 (congenital bilateral absence of vas deferens, CBAVD) は高率に男性の CF 患者に合併する病態であり, 肺などの他の臓器障害を伴わない CBAVD も現在では CF の男性生殖器病型と考えられるに至っている<sup>6)</sup>。さらに, 他の臓器障害を伴わない特発性の慢性膵炎症例においても, 高率に原因遺伝子 CFTR の変異が確認され<sup>6,7)</sup>, 単一臓器のみを冒す様々な CF 不全型の存在が明らかにされつつある。

CF 患者では汗中の Na<sup>+</sup> と Cl<sup>-</sup> 濃度が異常に高値であることが早くから知られていたが<sup>1)</sup>, 1980年代前半に CF 患者の汗腺や気道の上皮細胞で cAMP 依存性の Cl<sup>-</sup> イオン透過性が障害されていることで明らかにされ, 1989年には原因遺伝子 CFTR が漸く単離された<sup>2,3)</sup>。それ以後の研究から, cAMP 依存性 Cl<sup>-</sup> チャネル CFTR の構造と複雑な機能が次々に解明されてきている<sup>2,3)</sup>。

### CF の臨床像と CFTR 遺伝子変異

CF では肺, 膵臓, 消化管, 性腺など全身の管腔構造をもつ外分泌腺臓器が冒される<sup>1)</sup>。このなかで, 肺病変は臨床上きわめて重要で, 慢性副鼻腔炎, 気管支拡張症, 粘稠な気道内分泌物を伴う難治性下気

道感染症(多くがムコイド型緑膿菌による)、呼吸不全などを呈し、CF患者の9割以上がこの呼吸機能障害により死亡する<sup>9)</sup>。さらに、膵病変も患者の予後を左右する重要な病態であり、臨床的にはCFは膵外分泌機能の異常を伴う重症型(pancreatic insufficiency, PI)と、異常を伴わない軽症型(PS)とに分類される<sup>2,3,5)</sup>。一般にPI病型は重症であり、若年発症で、汗Cl<sup>-</sup>濃度が高値を示す。大半の遺伝子変異はPIの表現型を示し、PSを呈する変異はいくつかの特定のミスセンス変異のヘテロ接合体ないしホモ接合体に限られる<sup>9)</sup>。

CFTR遺伝子は第7染色体(7q31)に局在し、27のエクソンをもつ全長250kbの遺伝子である<sup>2,3,5)</sup>。CFTR遺伝子は多型性に富み、CFの原因とならない塩基変異も数多く認められるほか、CF患者にみられる病的変異も多種多様であり、これまで約900種の病的変異が報告されている<sup>2,3,5)</sup>。これらの変異はカナダのトロント大のTsui博士を中心としたCF Genetic Analysis Consortiumの運営するCFTR遺伝子変異データベースにリアルタイムで登録され、全世界の研究者にインターネット上で公開されている。このなかで、欧米のCF患者における最も頻度の高い代表的な変異ΔF508は、エクソン10内の3塩基(CTT)の欠失のため、第1ATP結合ドメインを形成する508番目のフェニルアラニン残基1個が欠落する変異で、全CF患者の染色体の約70%に認められる<sup>9)</sup>。

多種類のCFTR遺伝子変異に基づくCFTR蛋白の機能異常は、1)遺伝子の種々の変異により翻訳停止コドンが中途に生ずるためのCFTR蛋白の産生障害、2)翻訳後のCFTR蛋白の成熟過程の異常による細胞膜表面での発現の障害(ΔF508など)、3)ATP結合によるチャネル調節機能の障害、4)Cl<sup>-</sup>の透過性障害に大別される<sup>9)</sup>。

## CF の 診 断

従来CFの臨床診断基準は、CFの家族歴を有し、典型的な呼吸器病変ないし消化管病変を呈する患者で、汗中のCl<sup>-</sup>濃度が60meq/L以上を示すことであった<sup>10)</sup>。しかしながら、軽度の呼吸器症状を呈しても汗中のCl<sup>-</sup>濃度が正常である症例において、CFTR遺伝子の変異が相次いで報告され、これまで臨床的に診断しえなかった症例が同遺伝子の解析によりCFと診断されるようになってきている<sup>2,3)</sup>。換言すれば、CFの診断に際して臨床所見ないしCl<sup>-</sup>分泌異常以外の確診手段がないため、CFTR遺伝子異常の確認がCFの最終的な診断根拠とならざるを得ないといえるが、これまで判明している900種にも及ぶCFTR遺伝子変異について、各々の患者でその有無を検討することは多大な労力を要するの事実である<sup>3,9)</sup>。さらに人種や民族によりそのスペクトラムが大きく異なっているため、診断や保因者スクリーニングの上で、対象集団の人種、民族性がきわめて重要である<sup>5,9)</sup>。すなわち、それぞれの対象民族毎に検索する遺伝子変異の組み合わせを決定しなければならない。

### 日本人CF患者のCFTR遺伝子診断

日本人を含めた東洋人種におけるCFの発症頻度はかなり低いと考えられており、わが国ではこれまで出生35万人あたり1人と推定されている<sup>10)</sup>。しかしながら非定型例、不全型などを含めるとCF症例あるいはCFTR遺伝子変異を有する固体頻度は実際には決して少なくない可能性がある。これまで文献上に報告のあるわが国のCF症例は120余例であり<sup>10)</sup>、これらの患者におけるCFTR遺伝子変異はほとんど解析されていなかったのが現状である。

われわれの施設では、PCR-SSCP法、直接シーケンス法などによる27エクソン全ての変異検出体制を確立し、これまでわが国の複数の施設から紹介依頼されたCF確信例、あるいは疑診例のCFTR遺伝子変異検索を行ってきた。この結果、複数の欧米でもきわめて稀な変異や、これまでCF Genetic Analysis Consortiumに登録記載のないCFTR変異を確認し、これらを逐一報告してきた。平成11(1999)年度の本研究班の研究成果として、2例の日本人CF患児のCFTR遺伝子の変異解析の結果を報告する。

## 症 例 1

1983年9月生まれの日本人女性。両親は従兄妹同士の血族結婚。近親者にCF患者あるいは慢性呼吸器疾患患者はいない。4歳頃より咳嗽、喀痰などの呼吸器感染症状を反復するようになり、その後緑膿菌が喀痰から常時検出されるようになった。慢性副鼻腔炎にも罹患している。8歳に回盲部腫瘍、通過障害あり、開腹手術を受け糞便イレウスと診断された。9歳で血中アミラーゼ高値と、汗の電解質解析で $\text{Na}^+$  227,  $\text{Cl}^-$  201meq/Lと著明な上昇が確認され、膵機能不全を伴うCFと診断された。その後、呼吸器病変が徐々に増悪し、現在在宅酸素療法を受けている<sup>11)</sup>。

本症例のCFTR遺伝子解析では、末梢血有核球よりDNA抽出後、まず北米CF患者にみられる $\Delta F508$ を含む主な32種類の変異に関し、標的領域をPCR増幅後、allele特異的oligonucleotideプローブを用いたdot blot hybridizationによりその有無を検討したが、これらの変異はすべて陰性であった。次いで、イントロン-エクソン境界域を含むCFTR遺伝子の27のすべてのエクソンをPCR増幅し、SSCP解析を行ったところ、SSCPゲル上異常バンドの認められたエクソン17bにおいて、直接塩基配列検討の結果、cDNAの3386番目の塩基A→Gの置換によるコドン1085のHis→Argへのmissense変異(H1085R)がhomozygousに認められた(図1)。さらにH1085Rにより新たにRsa I制限部位が生じるため、両親と兄弟のDNA検体を用いてrestriction fragment length polymorphism (RFLP)解析を行なった結果、両親および患者以外の同胞全員がこの変異のキャリアであることが判明した(図2)<sup>11)</sup>。また、その他の領域には変異は認められなかった。H1085Rはこれまでフランス人でわずかに1例の報告があるのみの、極めてまれなCFTR遺伝子の病的変異である。人種的な相違から、今回検出されたH1085R変異は先の報告例とは起源を異にする、いわゆるrecurrent mutationと考えられた<sup>11)</sup>。

## 症 例 2

症例は1998年2月出生の日本人女児。家族歴にCFはなく、血族結婚もない。在胎38週で腸管拡張を指摘されていた。在胎40週で出生、体重2805gであった。出生直後より胎便イレウスを発症し、生後2日目で開腹手術を受けた。その後も胆管や小腸粘膜の粘液貯留、呼吸障害などの症状に加え、血清アミラーゼの異常低値、ゼラチンフィルムテスト低値などの膵外分泌機能低下を示した。さらに汗中の $\text{Cl}^-$ イオン濃度が126meq/Lと高く、生後2ヶ月でCFと診断された<sup>12)</sup>。

本症例のCFTR遺伝子解析では、CFTR遺伝子のすべてのエクソンに対してPCR-SSCP解析を行い、SSCPゲル上で異常バンドの認められたエクソンに直接塩基配列解析を行った。その結果、片方のalleleのエクソン4において、cDNAの587番目の塩基T→G点突然変異により、152番目のアミノ酸Met→Arg変異(M152R)が認められた。この変異は新たにMnl Iによる制限部位を生じるため、エ

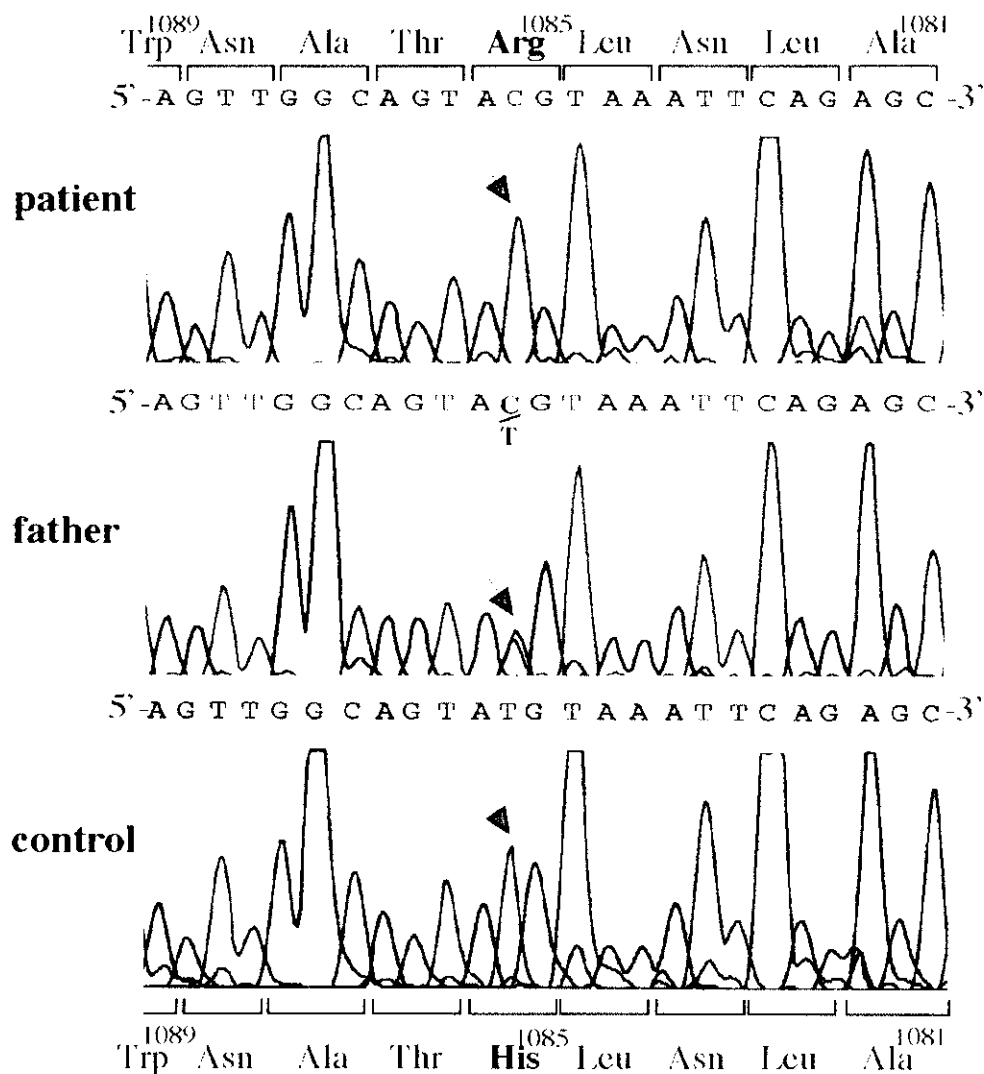


図1. 症例1のH1085R変異。上段：患児ではcDNAの3386番目の塩基A→Gの置換によるコドン1085のHis→Argへのmissense変異(H1085R)がhomozygousに認められる(図はantisense鎖を表示)。中段：患児の父親。H1085Rのheterozygoteであることを示す。下段：健常対照。

クソン4を含む領域をPCR増幅し、*Mnl*IによるRFLP解析を患児と家族で施行したところ、本変異が父親由来であることが判明した(図3)。さらにもう一方のCFTR alleleのエクソン10において、cDNAの1540番目の塩基から10塩基の欠失(1540del10)があり、その結果frameshiftにより引き続き54番目のアミノ酸でストップコドンを生じる変異が認められた(図4)。また家族の解析から1540del10は母親由来で、姉も同変異の健常キャリアであることが確認された。これらのCFTR遺伝子変異M152Rおよび1540del10は、世界でこれまでに報告のない新たな遺伝子変異であり、患児の遺伝子型はこの2種類の変異の複合ヘテロ接合体であった<sup>12)</sup>。これらの変異はCF Genetic Analysis Consortiumに報告登録した。

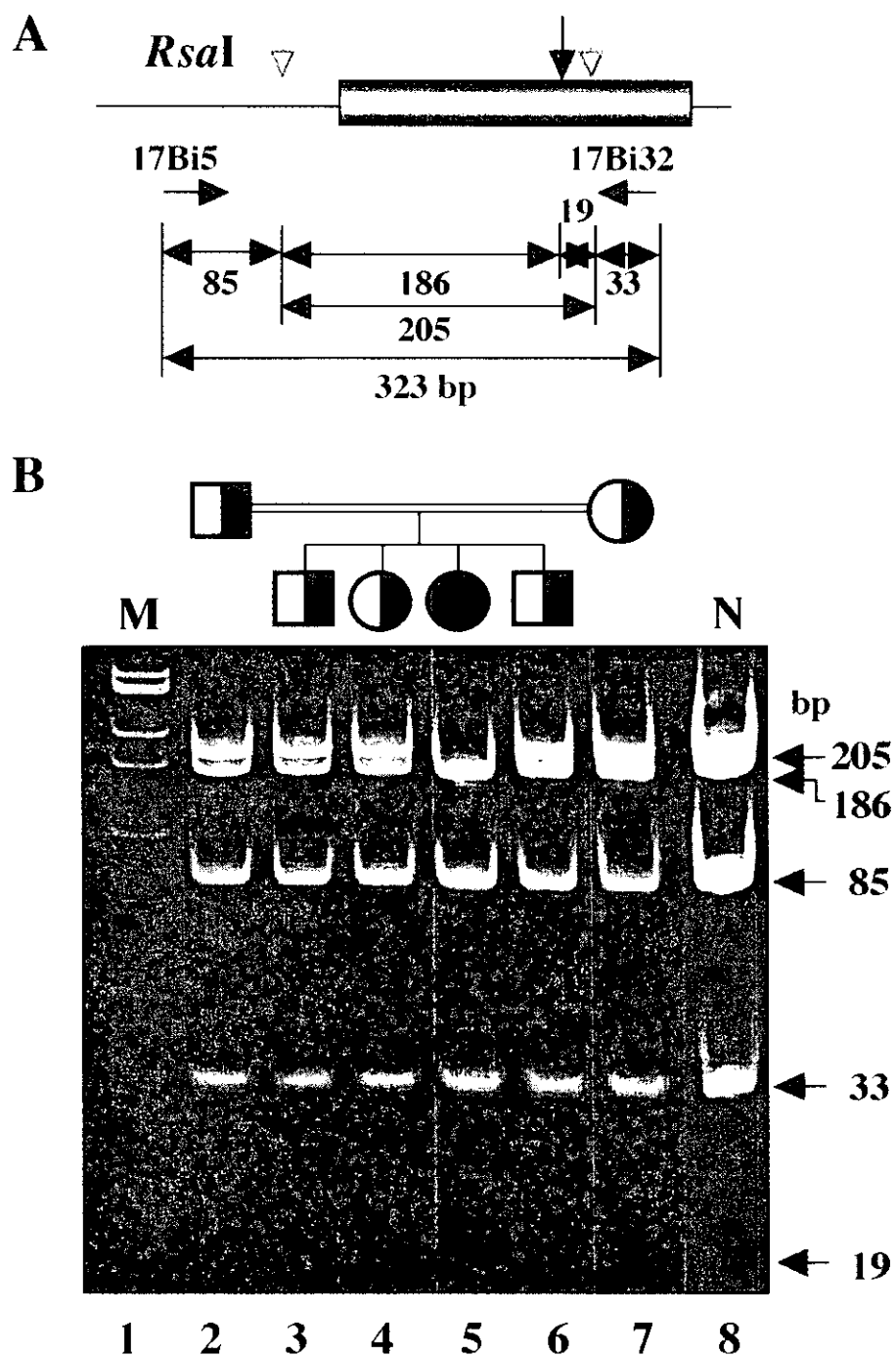


図 2. 症例 1 の家系内の *Rsa I*-RFLP による H1085R 変異の解析。Homozygote である患児 (●) の他は両親, 兄弟の全てが heterozygote であることを示す。

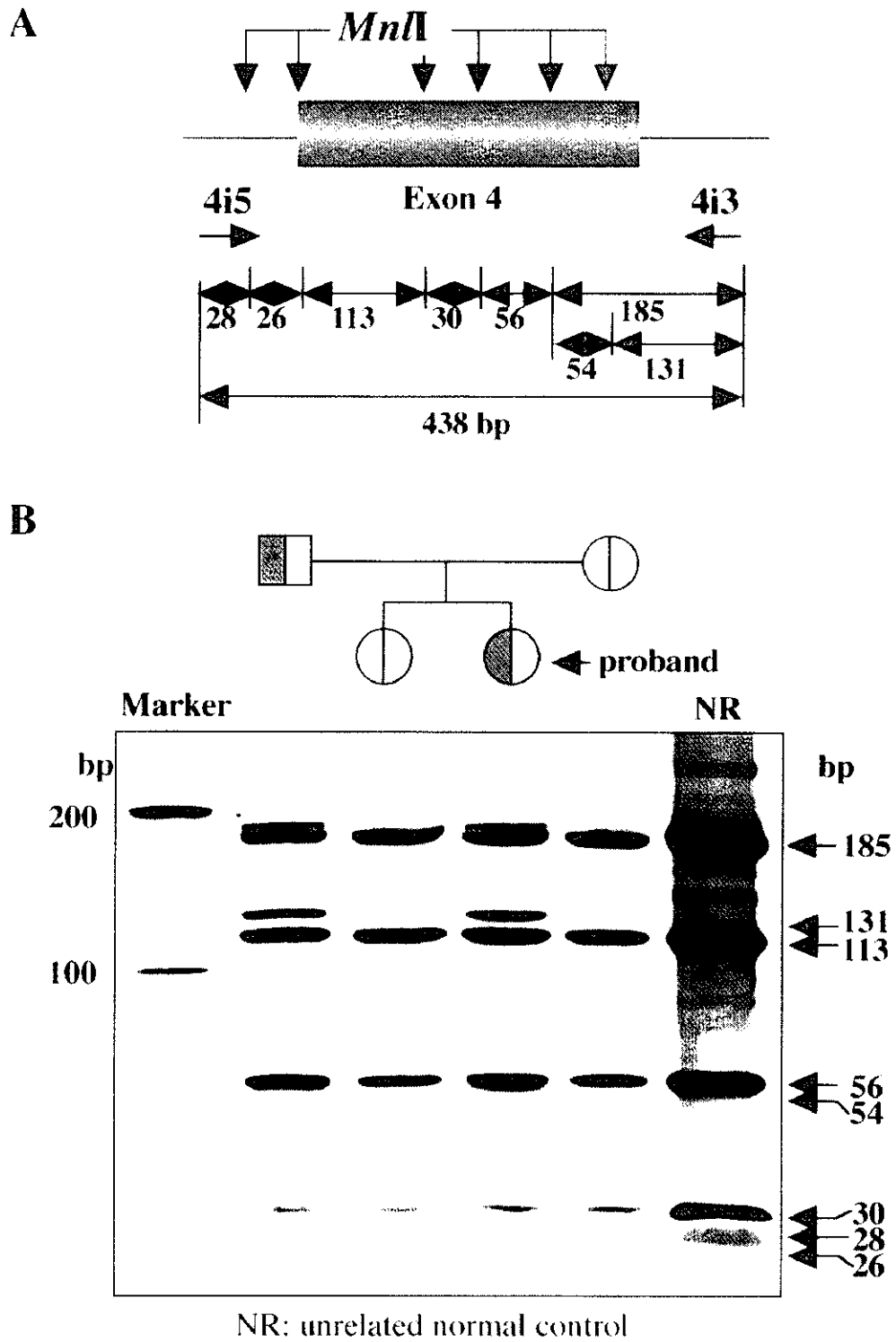


図 3. 症例 2 の家系内の *Mnl* I-RFLP による M152R 変異の解析。患児 (proband) と父親が M152R を一方の allele に有することを示す。

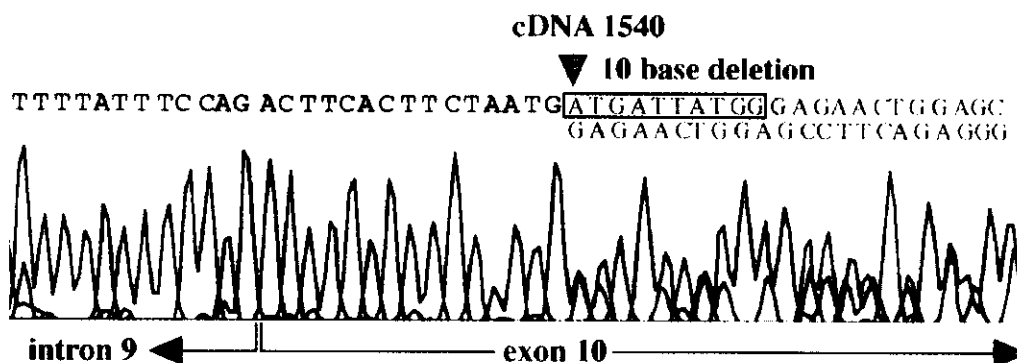


図4. 症例2の1540del10変異。cDNA1540番目の塩基から10塩基が欠失し、以降の塩基配列が重複している。結果として frameshift が起こり、54番目のコドンが stop となる変異である。同一の変異が母親と姉にも確認された。

## 考 察

わが国のCF研究は、これまで本研究班の前身である厚生省特定疾患難治性肺疾患調査研究班を中心に、とくに pancreatic insufficiency を呈した重症例の集積と全国施設での実態調査などが行われてきた。さらに近年、これら症例においてCFTR遺伝子の変異解析と遺伝子診断に関する検討がなされているが、検討対象とした変異は $\Delta F508$ 、G542X、G551Dなど欧米のCF症例に見られる変異の解析に留まっている。今回のわれわれの報告でもそれぞれの症例で、欧米のCF患者の90%以上の原因CFTR変異をカバーする32種の変異のスクリーニングを施行したが、両症例ともいずれも陰性であった。最終的には全てのエクソンをPCR-SSCP解析し、異常の認められたエクソンについての直接塩基配列解析により、それぞれの症例の両CFTRアレルの変異が明らかにされた<sup>11,12)</sup>。すなわち、わが国のCF患者におけるCFTR遺伝子の変異解析では、欧米のスクリーニング体制では変異が検出されない可能性が高い。従って、今後まずわが国のCF症例を出来る限り多く解析し、原因となる病的変異の種類、頻度を明らかにしたうえで、わが国独自のスクリーニング体制を確立してゆかなければならないと考えられる。

## 結 語

肺機能不全を呈した典型的な日本人のCF症例2例において原因CFTR遺伝子変異を解析し、1例がH1085Rのホモ接合体、もう1例がM152Rと1540de110の複合ヘテロ接合体であることを明らかにした。H1085Rは世界でこれまで1例の報告のある変異、M152Rと1540de110は共にこれまで報告のない新しい変異であった。わが国のCF症例の遺伝子診断では、今後わが国独自の変異スクリーニング体制の確立が必要である。

## 参 考 文 献

- 1) Welsh MJ, Tsui L-C, Boat TF, Beaudet AL. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. New York: McGraw-Hill, 1995: 3799-876.
- 2) Collins FS. Cystic fibrosis: molecular biology and therapeutic implications. *Science* 1992; 256: 774-9.
- 3) 吉村邦彦, 安斎千恵子. 嚢胞性線維症. *日本臨牀* 1996; 54: 825-33.
- 4) Chillon M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, Silber S, Romey M C, Ruiz-Romero J, Verlingue C, Claustres M, Nunes V, Ferec C, Estivill X. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995; 332: 1475-80.
- 5) Tsui L-C. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 847-53.
- 6) Sharer N, Schwarz M, Malone G, et al. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998; 339: 645-52.
- 7) Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998; 339: 653-58.
- 8) Welsh MJ, Smith AE. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 1993; 73: 1251-4.
- 9) 吉村邦彦. 嚢胞性線維症の保因者スクリーニング. *遺伝子診療'96*. 東京: 医学書院, 1996: 63-6.
- 10) Yamashiro Y, Shimizu T, Oguchi S, Shioya T, Nagata S, Ohtsuka Y. The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 24: 544-7.
- 11) Yoshimura K, Wakazono Y, Iizuka S, Morokawa N, Tada H, Eto Y. A Japanese patient homozygous for the H1085R mutation in the CFTR gene presents with a severe form of cystic fibrosis. *Clin Genet* 1999; 56: 173-5.
- 12) Morokawa N, Iizuka S, Tanano A, Katsube A, Muraji T, Eto Y, Yoshimura K. Severe cystic fibrosis in a Japanese girl caused by two novel CFTR gene mutations M152R and I540del10. *Hum Mut, Mutation and Polymorphism report # 109*, 2000 (online).



# 研究成果の刊行に関する一覧

## 雜 誌

著 者 名	論 文 題 目	雜 誌 名	卷 : 頁, 西曆年号
Liang J, Yamaguchi Y, Matsumura F, Okabe K, Akizuki E, Matsuda T, Ohshiro H, Nakano S, Ishihara K, Yamada S, <u>Ogawa H</u>	The novel carboxamide derivative (IS-741) attenuates lung injury in rats with cerulein-induced pancreatitis complicated by sepsis.	Dig Dis Sci	44 : 341-349, 1999.
Yamaguchi Y, Matsumura F, Liang J, Okabe K, Matsuda T, Ohshiro H, Ishihara K, Akizuki E, Yamada S, <u>Ogawa M</u>	Platelet-activating factor antagonist (TCV-309) attenuates the priming effects of bronchoalveolar macrophages in cerulein-induced pancreatitis rats.	Pancreas	18 : 355-363, 1999.
Yamaguchi Y, Okabe K, Liang J, Matsumura F, Akizuki E, Matsuda T, Ohshiro H, Nakano S, Ishihara K, <u>Ogawa M</u>	The novel carboxamide derivative (IS-741) reduces neutrophil chemoattractant production by bronchoalveolar macrophages in rats with cerulein-induced pancreatitis complicated by sepsis.	Digestion	60(Suppl 1) : 52-56, 1999.
Tashiro M, Hirohata Y, Kihara Y, Akiyama T, <u>Otsuki M</u>	Pharmacologic profile of TS-941, a new benzodiazepine derivative, cholecystokinin-receptor antagonist, in vitro isolated rat pancreatic acini.	Pancreas	18 : 156-164, 1999.
<u>Otsuki M</u>	Interaction among fat, lipase, CCK, and gastric emptying.	J Gastroenterol	34 : 542-544, 1999.
<u>Otsuki M</u>	Chronic pancreatitis in Japan : Is alcoholic pancreatitis decreasing?	J Gastroenterol	35 : 176-178, 2000.
Kataoka K, Hosoda M, Yasuda H, Sakagami J, Kato M, <u>Kashima K</u>	Assessment of exocrine pancreatic dysfunction in chronic pancreatitis.	Digestion	60(Suppl 1) : 86-92, 1999.
Kakinuma C, <u>Suda K</u> , Shibutani Y	Histopathological and biochemical studies on pancreatic fibrosis in WBN/Kob rats.	Virchow Arch	434 : 83-89, 1999.
Nakae Y, <u>Hayakawa T</u> , et al.	Molecular forms of serum pancreatic stone protein in acute pancreatitis.	Int J Pancreatol	25 : 17-21, 1999.
<u>Hayakawa T</u> , et al.	A prospective multicenter trial evaluating diagnostic validity of multivariate analysis and individual serum marker in differential diagnosis of pancreatic cancer from benign pancreatic diseases.	Int J Pancreatol	25 : 23-29, 1999.
Ko SB, <u>Hayakawa T</u> , et al.	Arginine vasopressin inhibits fluid secretion in guinea pig pancreatic duct cells.	Am J Physiol	277 : G48-G54, 1999.
Yoshikawa T, <u>Hayakawa T</u> , et al.	Effects of a new inhibitor of type II phospholipase A <sub>2</sub> on experimental acute pancreatitis in rats.	Pancreas	19 : 193-198, 1999.
Ishiguro H, <u>Hayakawa T</u> , et al.	Luminal ATP stimulates fluid and HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> secretion in guinea pig pancreatic duct.	J Physiol	591 : 551-558, 1999.

著者名	論文題目	雑誌名	巻：頁，西暦年号
Mizuno N, Hayakawa T, et al.	Effect of phospholipase A <sub>2</sub> inhibitors Ca <sup>2+</sup> oscillations in pancreatic acinar cells.	Pancreas	20 : 77-83, 2000.
Maryyama K, Takahaghi H, Matsushita S, Nakano M, Harada H, Otsuki M, Ogawa M, Suda K, Baba T, Honma T, Moroboshi T, Matsuno S	Genotypes of alcohol-metabolizing enzymes in relation to alcoholic chronic pancreatitis in Japan.	Alcohol Clin Exp Res	23 : 85S-91S, 1999.
Venu RP, Radke JS, Brown RD, Deutsch SF, Zaytsev PM, Miyaji E, Nishiori I	Autoimmune pancreatitis, pancreatic mass, and lower gastrointestinal bleed.	J Clin Gastroenterol	28 : 364-367, 1999.
Fujikawa-Adachi K, Nishimori I, Taguchi T, Onishi S	Human carbonic anhydrase XIV : cDNA cloning, mRNA expression, and mapping to chromosome 1.	Genomics	61 : 74-81, 1999.
Fujikawa-Adachi K, Nishimori I, Taguchi T, Onishi S	Human mitochondrial carbonic anhydrase VB : cDNA cloning, mRNA expression, subcellular localization, and mapping to chromosome X.	J Biol Chem	274 : 21228-21233, 1999.
Nishimori I, Kamakura M, Fujikawa-Adachi K, Nojima M, Onishi S, Hollingsworth MA, Harris A	Cholecystokinin A and B receptor mRNA expression in human pancreas.	Pancreas	19 : 109-113, 1999.
Fujikawa-Adachi K, Nishimori I, Sakamoto S, Morita M, Onishi S, Yonezawa S, Hollingsworth MA	Identification of carbonic anhydrase IV and VI mRNA expression in human pancreas and salivary glands.	Pancreas	18 : 329-335, 1999.
Fujikawa-Adachi K, Nishimori I, Taguchi T, Yuri K, Onishi S	cDNA sequence, mRNA expression, and chromosomal localization of human carbonic anhydrase-related protein, CA XI.	Biochim Biophys Acta	1431:518-524, 1999.
Nishimori I, Fujikawa-Adachi K, Onishi S, Hollingsworth MA	Carbonic anhydrase in the human pancreas : hypotheses for the pathophysiological roles of CA isozymes.	Ann NY Acad Sci	880 : 5-16, 1999.
Yoshimura K, Wakazono Y, Iizuka S, Morokawa N, Tada H, Eto Y	A Japanese patient homozygous for the H1085R mutation in the CFTR gene presents with a severe form of cystic fibrosis.	Clin Genet	56 : 173-175, 1999.
Morokawa N, Iizuka S, Tanana A, Katsube A, Muraji T, Eto Y, Yoshimura K	Severe cystic fibrosis in a Japanese girl caused by two novel CFTR gene mutations M152R and 1540del10.	Human Mutation	MPR #109, 2000. (online)
Takeyama Y, Nishikawa J, Ueda T, Hori Y, Yamamoto M, Kuroda Y	Involvement of peritoneal macrophage in the induction of cytotoxicity due to apoptosis in ascitic fluid associated with severe acute pancreatitis.	J Surg Res	82 : 163-171, 1999.

著者名	論文題目	雑誌名	巻：頁，西暦年号
Takase K, Takeyama Y, Nishikawa J, Ueda T, Hori Y, Yamamoto M, <u>Kuroda Y</u>	Apoptotic cell death of renal tubules in experimental severe acute pancreatitis.	Surgery	125 : 411-20, 1999.
Ueda T, Takeyama Y, Hori Y, Shinkai M, Takase K, Goshima M, Yamamoto M, <u>Kuroda Y</u>	Hepatocyte growth factor increases in injured organs and functions as an organotrophic factor in rats with experimental acute pancreatitis.	Pancreas	20 : 84-93, 2000.
Takeyama Y, Hori Y, Takase K, Ueda T, Yamamoto M, <u>Kuroda Y</u>	Apoptotic cell death of hepatocytes in rat experimental severe acute pancreatitis.	Surgery	127 : 55-64, 2000.
Masamune A, <u>Shimosegawa T</u> , Kimura K, Fujita M, Satoh A, Koizumi M, Toyota T	Specific induction of adhesion molecules in human vascular endothelial cells by rat experimental pancreatitis-associated ascitic fluids.	Pancreas	18 : 141-150, 1999.
Satoh A, <u>Shimosegawa T</u> , Masamune A, Fujita M, Koizumi M, Toyota T	Ascitic fluid of experimental severe acute pancreatitis modulates the function of peritoneal macrophages.	Pancreas	19 : 268-275, 1999.
Satoh A, <u>Shimosegawa T</u> , Fujita M, Kimura K, Masamune A, Koizumi M, Toyota T	Inhibition of nuclear factor-kB activation improves the survival of rats with taurocholate pancreatitis.	Gut	44 : 253-258, 1999.
Masamune A, <u>Shimosegawa T</u> , Fujita M, Satoh A, Koizumi M, Toyota T	Ascites of severe acute pancreatitis in rats transcriptionally up-regulates expression of interleukin-6 and -8 in vascular endothelium and mononuclear leukocytes	Dig Dis Sci	45 : 429-437, 2000.
Lin Y, <u>Tamakoshi A</u> , <u>Matsuno S</u> , et al.	Nationwide epidemiological study of chronic pancreatitis in Japan	J Gastroenterol	35 : 136-141, 2000.
<u>Nakamura T</u> , Tando Y, Yamada N, Watanabe T, Ogawa Y, Kaji A, Imamura K, Kikuchi H, Suda T	Study on pancreatic insufficiency and steatorrhea in Japanese patients with low fat intake.	Digestion	60 : 93-96, 1999.
<u>Funakoshi A</u> , Fukamizu Y, Miyasaka K	Mechanism of cholecystokinin-A receptor antagonist on human pancreatic exocrine secretion: localization of CCK-A receptor in the human duodenum.	Digestion	60(Suppl 1) : 75-80, 1999.
Miyasaka K, Shinozaki H, Suzuki S, Sato Y, Kanai S, Masuda M, Jimi A, Nagata A, Matsui T, Noda T, Kono A, <u>Funakoshi A</u>	Disruption of cholecystokinin (CCK) B receptor gene did not modify bile and pancreatic secretion or pancreatic growth: a study in CCK-B receptor gene knockout mice.	Pancreas	19 : 114-118, 1999.
Tateishi K, Misumi Y, Ikehara Y, Miyasaka K, <u>Funakoshi A</u>	Molecular cloning and expression of rat antisecretory factor and its intracellular localization.	Biochem Cell Biol	77 : 223-228, 1999.
Miyasaka K, Suzuki S, Kanai S, Masuda M, <u>Funakoshi A</u>	Role of cholecystokinin-A receptor in the regulation of pancreatic bicarbonate secretion in conscious rats: a study in naturally occurring CCK-A receptor gene knockout rats.	Pancreas	19 : 217-223, 1999.

著者名	論文題目	雑誌名	巻：頁，西暦年号
Matsusue K, Takigushi S, Takata Y, Funakoshi A, Miyasaka K, Kono A	Expression of cholecystokinin type A receptor gene correlates with DNA demethylation during postnatal development of rat pancreas.	Biochem Biophys Res Commun	264 : 29-32, 1999.
Kawanami T, Suzuki S, Yoshida Y, Kanai S, Takata Y, Shimazoe T, Watanabe S, Funakoshi A, Miyasaka K	Different effects of trypsin inhibitors on intestinal gene expression of secretin and on pancreatic bicarbonate secretion in CCK-A receptor deficient rats.	Jpn J Pharmacol	81 : 339-345, 1999.
Wakasugi H, Funakoshi A, Iguchi H, Takase M, Inoue M, Ohshima A, Seo Y	Pancreatic carcinoma associated with chronic pancreatitis	Intern Med	38 : 951-956, 1999.
小川道雄	急性膵炎の新しい診断基準—重症度判定と重症度スコア—	日経メディカル	383 : 66-67, 1999.
小川道雄	膵分泌性トリプシンインヒビター (PSTI)	日本臨床	57 : 368-371, 1999.
小川道雄	膵ホスホリパーゼ A <sub>2</sub>	日本臨床	57 : 381-383, 1999.
小川道雄	PSTI (膵分泌性トリプシンインヒビター)	Medicina	36 : 311-314, 1999.
小川道雄	膵エラスターゼ 1	Medicina	36 : 318, 1999.
小川道雄	膵ホスホリパーゼ A <sub>2</sub>	Medicina	36 : 319-320, 1999.
広田昌彦, 小川道雄	重症急性膵炎の初期治療としてのトリプルケア	消化器科	24 : 121-126, 1999.
広田昌彦, 岡部明宏, 小川道雄	重症急性膵炎に対する酢酸オクトレチオドの効果	消化器科	28 : 199-205, 1999.
広田昌彦, 岡部明宏, 小川道雄	Second attack 前後におけるサイトカイン反応の変化	Surgery Frontier	6 : 38-44, 1999.
広田昌彦, 杉田裕樹, 野澤文昭, 岡部明宏, 柴田宗征, 桑田絹子, 住田直子, 小川道雄	わが国の重症急性膵炎の実態	外科治療	80 : 139-146, 1999.
柴田宗征, 広田昌彦, 杉田裕樹, 野澤文昭, 岡部明宏, 桑田絹子, 小川道雄	急性膵炎の病態と好中球エラスターゼによるサイトカイン反応の増強機構	侵襲と免疫	7 : 21-26, 1999.
島田信也, 小川道雄	頑固な上腹部痛に対する裂孔部両側大内臓神経切離術	手術	53 : 367-370, 1999.
山口康雄, 小川道雄	急性膵炎—ショック：腎不全対策	総合臨床	48 : 1706-1710, 1999.
広田昌彦, 別府 透, 小川道雄	重症急性膵炎に対するトリプルケア	胆と膵	21 : 37-42, 2000.
上田城久朗, 大槻 真	急性膵炎の診断と治療	総合臨床	48 : 771-773, 1999.
服部祐爾, 山口武人, 石井良美, 鈴木秀彦, 斎藤雅彦, 土屋正一, 石原 武, 露口利夫, 梶所宏光	腫瘤形成性膵炎の長期予後	肝胆膵	38 : 355-361, 1999.

著者名	論文題目	雑誌名	巻：頁，西暦年号
山口武人，石原 武， 原 太郎，新島光起， 門野源一郎，露口利夫， 税所宏光	膵石の内視鏡治療	肝胆膵	39：549-554，1999.
石原 武，山口武人， 露口利夫，税所宏光，	良性膵疾患	総合臨床	48:2662-2666,1999.
税所宏光，山口武人	膵疾患の画像診断—最近の進歩—	日消誌	96：369-376，1999.
山口武人，税所宏光	膵臓—嚢胞像—	CLINICIAN	484：49-57，1999.
高瀬 優，須田耕一 江口正信，小山敏雄	腫瘍形成性膵炎の病理組織学的検討	胆と膵	20：271-275，1999.
早川哲夫	慢性膵炎の診断と治療—最近の進歩—	日消誌	96：1-7，1999.
早川哲夫	慢性膵炎の疼痛治療に対する米国消化器病 学会（AGA）からのガイドラインについて —最近の話題—	膵臓	14：1-3，1999.
北川元二，早川哲夫，他	実験重症膵炎モデルを用いた急性膵炎に対 する薬物療法の評価	消化器科	28：182-192，1999.
北川元二，早川哲夫，他	慢性膵炎の予後	膵臓	14：74-79，1999.
早川哲夫，他	膵炎・膵癌・膵石 内科治療か外科治療か	総合臨床	48:1637-1639,1999.
成瀬 達，早川哲夫，他	膵炎・膵癌・膵石 急性膵炎 感染対策	総合臨床	48:1717-1721,1999.
北川元二，早川哲夫，他	急性膵炎の診断基準と重症度判定	医学と薬学	42：347-355，1999.
北川元二，早川哲夫，他	慢性膵炎（膵石症）の長期予後	肝胆膵	38：22-27，1999.
早川哲夫，他	内視鏡的逆行性膵胆管造影法（ERCP）関連 の偶発症の現状と予防対策—特に ERCP 後 急性膵炎について—	膵臓	14：455-462，1999.
北川元二，早川哲夫，他	重症急性膵炎の初期治療のあり方	消化器科	29：99-107，1999.
早川哲夫，他	アミラーゼ	日本臨床	57増刊：359-361， 1999.
早川哲夫，他	マクロアミラーゼ	日本臨床	57増刊：362-364， 1999.
早川哲夫，他	トリプシン	日本臨床	57増刊：365-367， 1999.
早川哲夫，他	エラスターゼ	日本臨床	57増刊：378-380， 1999.
石黒 洋，早川哲夫	アルコール性膵炎	薬局	51増刊：509-519， 2000.
北川元二，早川哲夫，他	急性膵炎の重症度判定基準の有用性と問題 点	胆と膵	21：5-11，2000.
早川哲夫，他	慢性膵炎の重症度分類の提案	膵臓	14：4-7，1999.
北川元二，早川哲夫，他	高齢者の肝・胆・膵疾患とその対策 膵炎 （急性，慢性）	老化と疾患	12：60-64，1999.
早川哲夫，小川道雄 松野正紀，渡辺伸一郎 跡見 裕，大槻 眞 加嶋 敬，小泉 勝 原田英雄，山本正博 西森 功	慢性膵炎の重症度分類の提案	膵臓	14：4-7，2000.

著者名	論文題目	雑誌名	巻：頁，西暦年号
北川元二，成瀬 達， 石黒 洋，早川哲夫， 王腰暁子，大野良之， 武田和寛，松野正紀， 広田昌彦，小川道雄， 渡辺伸一郎，跡見 裕， 大槻 眞，加嶋 敬， 小泉 勝，原田英雄， 山本正博，西森 功	慢性膵炎の予後	膵臓	14：74-79，1999.
海野倫明，内藤 剛， 鈴木正徳，松野正紀	乳頭炎と胆道内圧—胆道内圧からみた乳頭 狭窄と乳頭不全	胆と膵	21：115-118，2000.
阿部忠義，砂村眞琴， 渋谷和彦，武田和憲， 松野正紀	膵嚢胞の周術期管理	外科治療	80：908-910，1999.
武田和憲，砂村眞琴， 渋谷和彦，山内淳一郎， 松野正紀	重症急性膵炎における IVR：発症早期の膵 酵素阻害剤・抗生物質持続動注療法	消化器外科	22：1619-1624，1999.
武田和憲，砂村眞琴， 渋谷和彦，松野正紀	早期の治療としての膵酵素阻害剤・抗生物 質持続動注療法	集中治療	11：1127-1131，1999.
武田和憲，砂村眞琴， 渋谷和彦，島村弘宗， 松野正紀	急性膵炎の重症度判定基準と造影 CT によ る CT grading の有用性	消化器科	29：85-90，1999.
渋谷和彦，武田和憲， 砂村眞琴，島村弘宗， 松野正紀	急性膵炎	消化器外科	22：1103-1108，1999.
渋谷和彦，武田和憲， 松野正紀	急性膵炎	外科	61：1544-1549，1999.
砂村眞琴，渋谷和彦， 山内淳一郎，武田和憲， 松野正紀	膵臓の微小循環障害と虚血	日外会誌	100：342-346，1999.
西森 功，耕崎拓大， 谷内恵介，岡本直人， 宮地永輝，大西三朗	アルコール性膵炎と遺伝子異常—トリプシ ノーゲン変異	肝胆膵	40：115-120，2000.
西森 功，大西三朗	遺伝性膵炎および膵嚢胞性腺癌の遺伝子 診断	医学と薬学	42：403-409，1999.
西森 功，小川道雄， 渡辺伸一郎，大槻 眞， 小泉 勝	遺伝性膵炎における遺伝子異常と膵炎発症 機序	膵臓	14：121-126，1999.
原田信比古，高崎 健， 今泉俊秀，鈴木 衛， 羽鳥 隆，福田 晃	慢性膵炎手術後—疼痛，膵石—	肝胆膵	38：371-375，1999.
羽鳥 隆，今泉俊秀， 原田信比古，福田 晃， 唐澤英偉，上野恵子， 高崎 健	血管造影による腫瘍形成性膵炎と膵癌の鑑 別診断	胆と膵	20：311-318，1999.
上田 隆，竹山直典， 黒田嘉和	重症急性膵炎の重症度判定基準と治療法の 選択	消化器科	29：91-98，1999.
上田 隆，竹山直典， 黒田嘉和	重症急性膵炎の総合的初期治療と問題点	胆と膵	21：43-47，2000.
白鳥敬子	高アマミラーゼ血症の診断と治療	ドクターサロン	43：797-801，1999.

著者名	論文題目	雑誌名	巻：頁，西暦年号
清水京子，白鳥敬子	膵島における CCK の発現と発生的変化	消化器科	28：606-613，1999.
上野英樹，白鳥敬子 林直諒	ラット基礎膵外分泌調節における一酸化窒素 (NO) の役割	膵臓	14：16-21，1999.
吉田雅博，高田忠敬， 安田秀喜，天野穂高，他	Double catheter 法による膵酵素阻害剤・抗生剤持続動注療法が有効であった重症急性膵炎の1例	膵臓	14：143-148，1999.
安田秀喜，高田忠敬， 天野穂高，吉田雅博，他	重症急性膵炎に対する特殊療法 手術療法	外科治療	80：83-88，1999.
中村光男，松井 淳， 小川吉司，須田俊宏	膵性糖尿病	肝胆膵	38：377-385，1999.
中村光男	肝・胆・膵疾患による便通異常	JIM	9：226-229，1999.
中村光男，長谷川範幸， 小川吉司，松井 淳	病期からみた治療方針（慢性膵炎）	総合臨牀	48:1732-1738,1999.
渡辺 拓，中村光男， 梶 麻子，寺田明功， 楠美尚子，長谷川範幸， 松井 淳，小川吉司， 須田俊宏	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	22：50-53，1999.
梶 麻子，中村光男， 渡辺 拓，楠美尚子， 丹藤雄介，須田俊宏	<sup>13</sup> C 標識脂肪を用いた消化吸収呼吸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	22：54-57，1999.
楠美尚子，中村光男， 丹藤雄介，渡辺 拓， 梶 麻子，須田俊宏	消化吸収不良を伴った慢性膵炎症例における脂溶性ビタミンと骨密度	消化と吸収	22：104-107，1999.
梶 麻子，中村光男， 渡辺 拓，丹藤雄介， 山田尚子，須田俊宏	膵外分泌不全診断のための <sup>13</sup> C 標識混合中性脂肪を用いた呼吸消化吸収試験法の開発とその臨床対応	膵臓	14：8-15，1999.
馬場忠雄，宇田勝弘	糞便検査—脂肪染色—	日本臨牀	748：178-179，1999.
宮坂京子，船越顕博	コレシストキニン (CCK) と膵機能	総合臨牀	48:1649-1656,1999.
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	28：598-605，1999.
宮坂京子，船越顕博	加齢と消化，吸収	化学と生物	37：368-374，1999.
船越顕博	パンクレアティックポリペプチド (PP) —基礎的事項を中心に	日本臨牀	755：349-352，1999.
丸山勝也，高橋久雄， 奥山啓二，横山 顕， 中村雄二，黒田真理， 石井裕正	アルコール代謝酵素の多型性とアルコール性膵炎の関連	肝胆膵	40：97-106，2000.



## 単行本

著者名	題名	書名	編集者名	発行社名(発行地名)	発行西暦年号, 頁
Ogawa M, Hirota M, Nozawa F, Okabe A, Shibata M, Kuwata K	Relationship between plasma concentrations of cytokine modulators and multiple organ failure in acute pancreatitis.	5th world congress on trauma, shock, inflammation and sepsis.	Faist E	Monduzzi Editore (Bologna)	2000, 575-578.
Shibata M, Hirota M, Okabe A, Ogawa M	High incidence of infections complications in severe acute pancreatitis.	5th world congress on trauma, shock, inflammation and sepsis.	Faist E	Monduzzi Editore (Bologna)	2000, 589-592.
小川道雄		新・侵襲とサイトカイン 生体脂肪と生体破壊という語刃の剣		メジカルセンス (東京)	1999, 1-153.
小川道雄	侵襲と生体反応	知っておきたい侵襲キーワード	小川道雄	メジカルセンス (東京)	1999, 10-13.
小川道雄	重症急性膵炎	KEY WORD 2000-2001 肝胆膵	小俣政男, 兼松孝之, 加嶋敬	先端医学社 (東京)	1999, 122-123.
小川道雄	急性膵炎重症化の体液性因子	消化器疾患 Ver. 2 -State of arts II・肝・胆・膵	玉熊正祝, 石井裕正	医歯薬出版 (東京)	1999, 162-166.
広田昌彦, 小川道雄	急性膵炎	知っておきたい侵襲キーワード	小川道雄	メジカルセンス (東京)	1999, 36-39.
大槻 眞	慢性膵炎	今日の治療方針 1999年版	多賀須幸男, 尾形悦郎	医学書院 (東京)	1999, 451-452.
大槻 眞	急性膵炎により急性発症した糖尿病性ケアドーシスの1例	症例に学ぶ糖尿病合併症専門医のみるポイント46	河盛隆造, 神田勤, 他	メジカルビュー社 (東京)	1999, case46 : 1-6.
永塩秀和, 大槻 眞	消化吸收障害	肝・胆・膵フロンティア 8 慢性膵炎	沖田極, 神代正道, 他	診断と治療社 (東京)	2000, 62-68.
本田秀和, 大槻 眞	血中・尿中の膵酵素と酵素インヒビター	図説消化器病シリーズ1 消化器疾患の臨床検査	川崎寛中	メジカルビュー社 (東京)	2000, 172-183.
加嶋 敬	ルミナルフィードバック調節機構 ネガティブフィードバック調節機構	KEY WORD 2000-2001, 肝胆膵	小俣政男, 兼松隆之, 加嶋敬	先端医学社 (東京)	1999, 256-257.
早川哲夫, 他	慢性膵炎	別冊 医学のあゆみ 消化器疾患 Ver. 2	玉熊正祝, 他	医歯薬出版 (東京)	1999, 519-523.
石黒 洋 早川哲夫	膵導管細胞	KEY WORD 2000-2001 肝胆膵	小俣政男, 他	先端医学社 (東京)	1999, 167-168.

著者名	題名	書名	編集者名	発行社名(発行地名)	発行西暦年号, 頁
松野正紀 畠山勝義 兼松隆之		消化器外科手術のための解剖学 小腸・大腸, 肛門部疾患, 肝臓・胆嚢・胆道系, 膵臓・脾臓	松野正紀, 畠山勝義, 兼松隆之	メジカルビュー社 (東京)	1999, 1-152.
池井 聡	臓器不全の特殊療法 プロテアーゼインヒビター療法	知っておきたい侵襲キーワード	小川道雄	メジカルセンス (東京)	1999, 202-205.
白鳥敬子	モニターペプチド	KEY WORD 2000-2001 肝胆膵	小侯政男ら	先端医学社 (東京)	1999, 244-245.
神津知永 白鳥敬子 竹内 正	新しい慢性膵炎の臨床診断基準	別冊・医学のあゆみ: 消化器疾患—state of arts (Ver. 2), II. 肝・胆・膵	玉熊正悦ら	医歯薬出版 (東京)	1999, 241-245.
吉田雅博 高田忠敬 安田秀喜	急性重症膵炎の治療とIVR	消化器疾患のIVR, 肝膵疾患のIVR治療	税所宏光, 江原正明	メジカルビュー社 (東京)	1999, 154-159.
船越顕博 宮坂京子	CCK-releasing peptide	KEY WORD 2000-2001 肝胆膵	小侯政男, 兼松隆之, 加嶋敬編	先端医学社 (東京)	1999, 118-119.
若林英之 船越顕博 井口東郎	膵臓癌—新しい治療戦略III 膵癌切除術の新しい考え方	消化器病セミナー 76		へるす出版 (東京)	1999, 121-132.
馬場忠雄	膵ポリペプチド (Pancreatic polypeptide (PP))	KEY WORD 2000-2001 肝胆膵	小侯政男, 兼松隆之, 加嶋敬	先端医学社 (東京)	1999, 154-155.

厚生省特定疾患対策研究事業  
難治性膝疾患に関する調査研究班  
平成11年度研究報告書

平成12年3月31日 印刷・発行

発行者 厚生省特定疾患対策研究事業  
難治性膝疾患に関する調査研究班  
班長 小川道雄  
熊本市本荘1-1-1  
熊本大学医学部第二外科教室内  
TEL：096-373-5212