

図1. 持続動注開始日と転帰

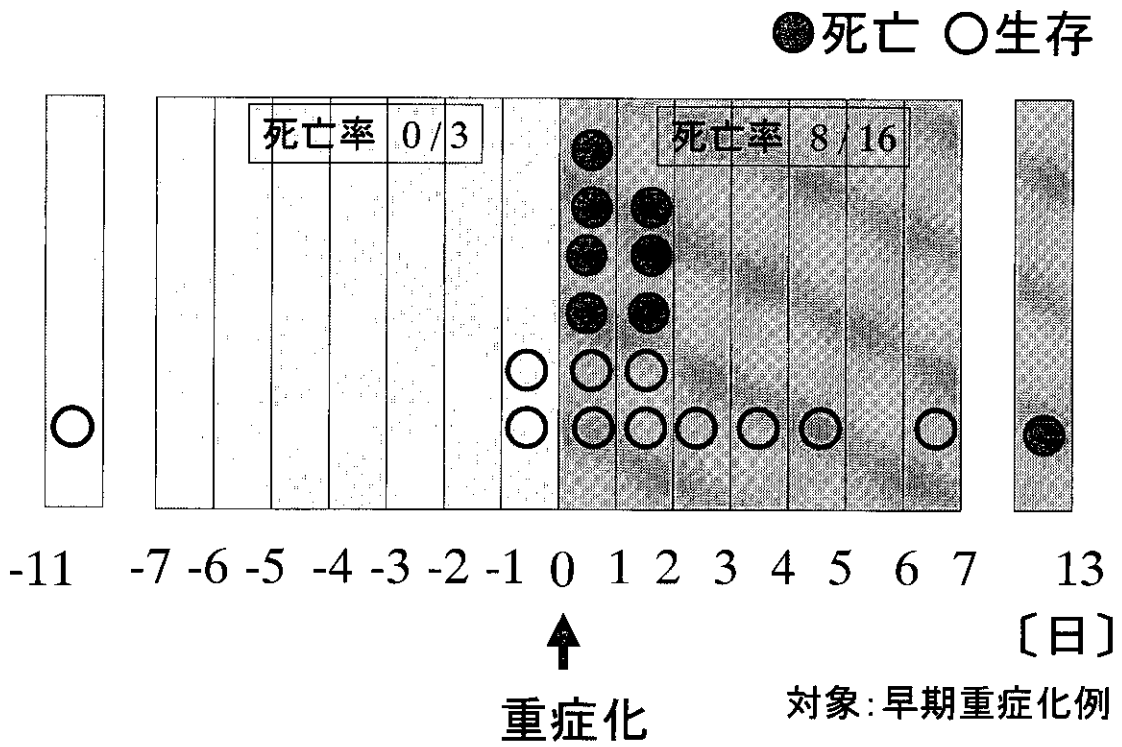


図2. 血液浄化法開始日と転帰

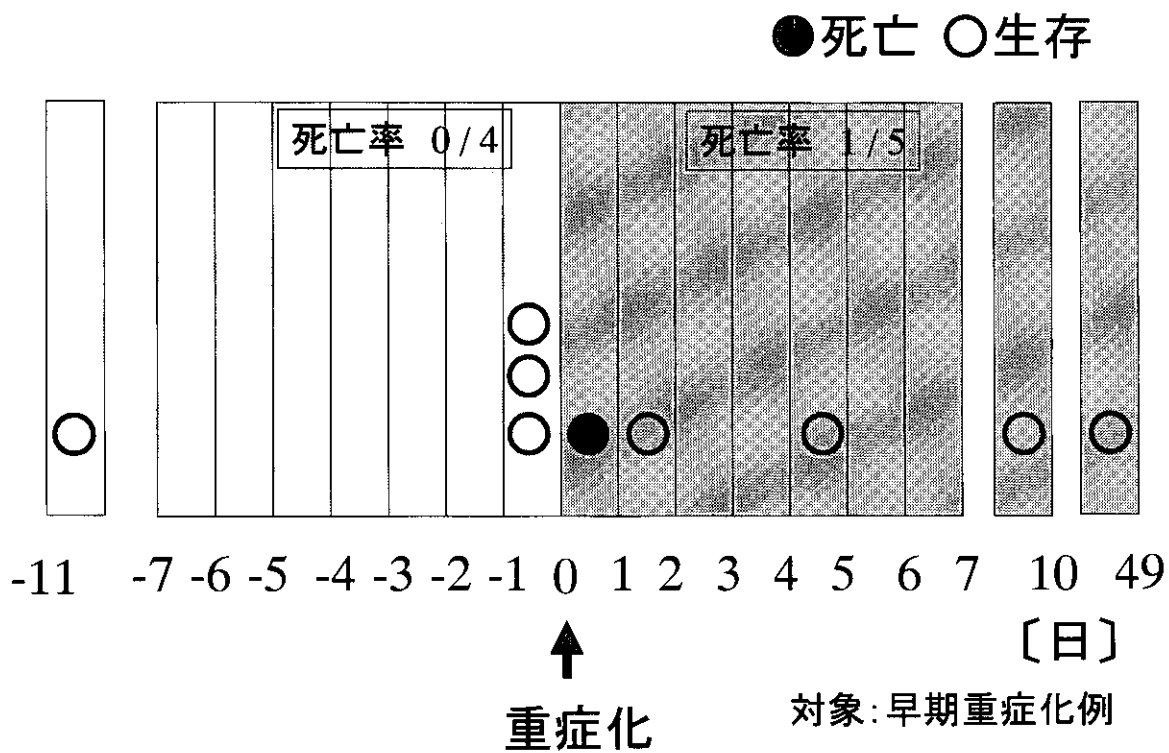


図3. SDD 開始日と転帰

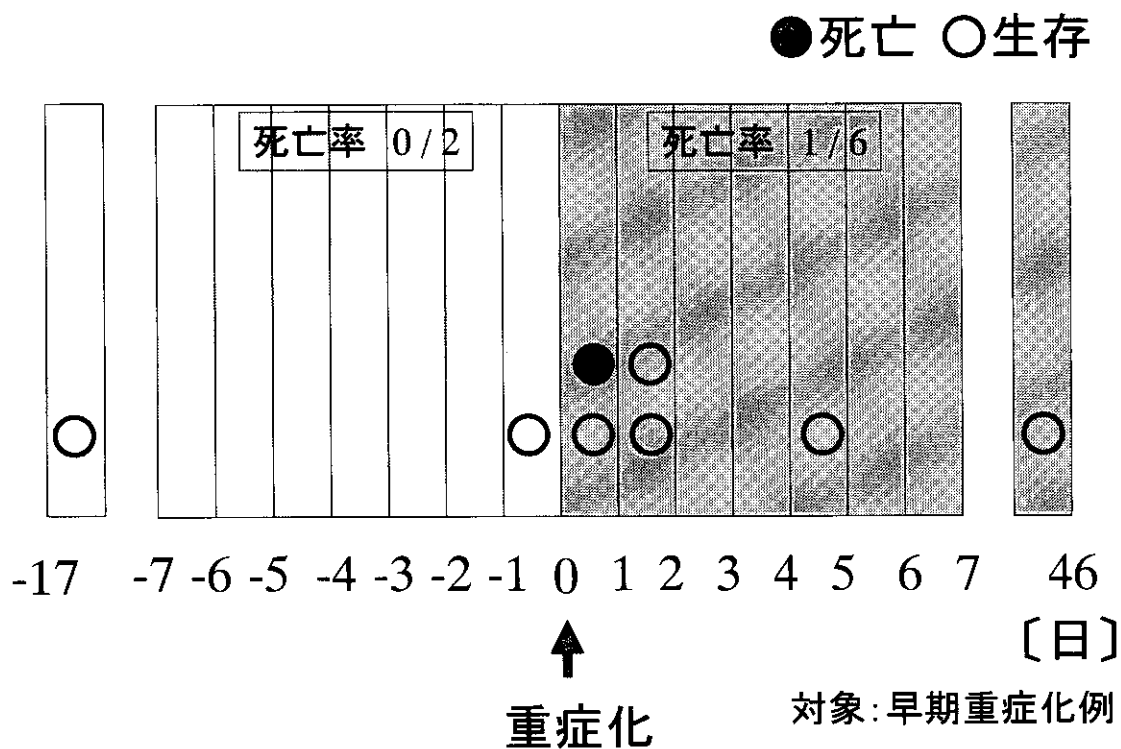


図4. オクトレオチド開始日と転帰

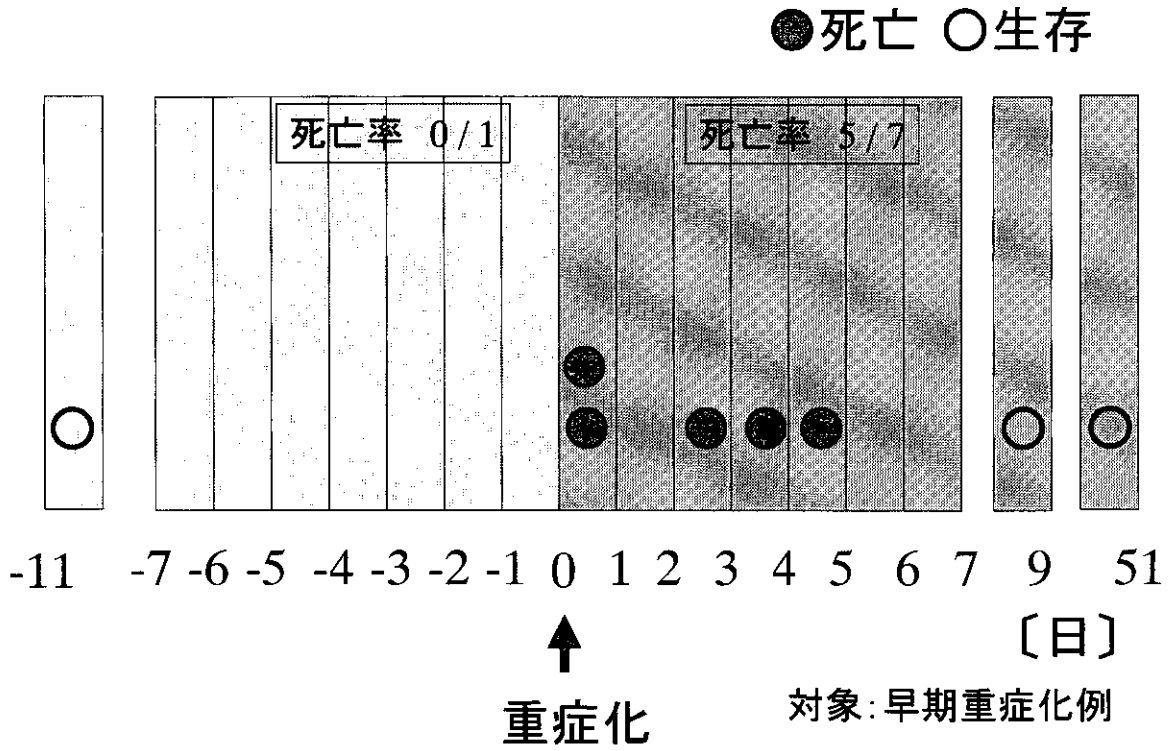


図5. ステロイド開始日と転帰

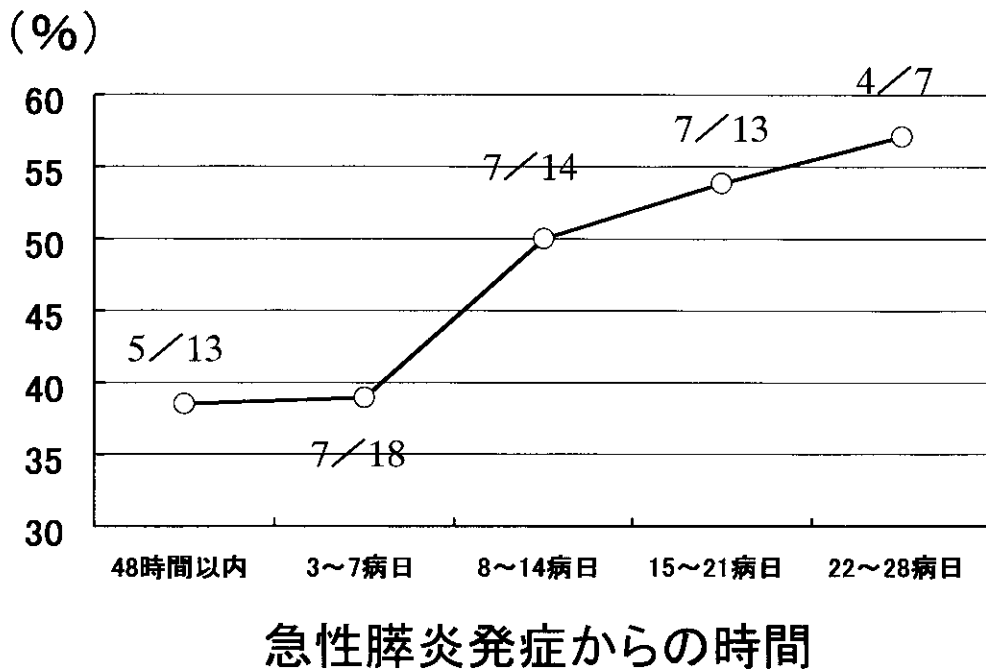


図6. 早期重症化例—感染症の有無と死亡率

療が実施された症例は、その後重症化することになっても全例生還できた。

また、なんらかの感染症の併存は早期重症化例の死亡率を著しく悪化させ、発症からの時間が長く、かつ感染症が併存する症例の死亡率はより高率であった（図6）。

ま と め

今時の急性肺炎調査票は項目数約800にのぼる詳細なものであり、各基幹病院・関連施設でのデータ入力が難渋したことが想定され、平成12年1月8日までの回収率は約18%であり、また項目別の回答率も僅少であった。このため、疫学解析は困難であり今回は早期重症化例のうち特殊治療別の死亡率・特殊治療の開始日・感染と死亡率に主眼を置き解析を行った。特殊治療は早期重症化例のなかでもより重症者に実施されるという bias がかかり、いずれの治療法がとられた症例も死亡率は高値であった。特殊治療の開始日と死亡率の検討では、症例数が少ないものの、各種特殊治療は重症化する以前に実施できれば重症化後も全例生還していた。これは、特殊治療を重症化までに実施できれば死亡率低減効果が期待できることを示唆するが、費用効果比から急性肺炎の全例に特殊治療を施すことは妥当ではない。従って、重症化の然るべき予知法を開発し、その精度を上げることが最大急務と考えられた。なお、感染症の併存は早期重症化例の死亡率を著しく悪化させ、発症からの時間が長い程その傾向が強かった。これは、早期重症化例では、感染症を併発しないように工夫し、併発した場合は長引かせないことが肝要であることを示す。

早期重症化対策としては臨床成績・検査成績・治療内容・病状の経過などを詳細に調査し、早期重症化例に対する治療指針を作成することが目標であるが、平成11年度での調査票の回収率・回答率は低値であり調査票の最終的なデータ統合の後、再検討する必要がある。

急性膵炎の後期重症化例に対する対策に関する研究

松野正紀

東北大学第一外科

大槻 眞

産業医科大学第三内科

跡見 裕

杏林大学医学部第一外科

加嶋 敬

京都府立医科大学第三内科

岡 正朗

山口大学医学部第二外科

岡元和文

熊本大学救急部・集中治療部

原口 義座

国立病院東京災害医療センター

中村 光男

弘前大学第三内科

小川 道雄

熊本大学第二外科

本小委員会では、「早期重症化例の対策」小委員会と共同で、重症急性膵炎の早期および後期の重症化の実態を調査するとともに、その対策を指針としてまとめることを目的としている。

昨年度は実態調査のための調査票を作成したが、本年度はこの調査票を用いて平成7年から平成10年までの急性膵炎症例の全国集計を行っている。次年度に集計結果をまとめ、治療指針を作成する予定である。

今後のまとめの分担は

- (1) 後期重症化症例のアウトライン (大槻 眞)
- (2) 死亡症例の解析 (大槻 眞)
- (3) 重症化症例の画像 (CT) の推移 (跡見 裕)
- (4) 重症化症例の検査成績の推移 (中村光男)
- (5) 早期治療が後期重症化に及ぼす影響 (加嶋 敬)
- (6) 特殊治療が後期の重症化の有無に及ぼす影響 (岡元和文)
- (7) 後期重症化症例の外科的治療 (原口義座)
- (8) 感染の合併と後期重症化 (岡 正朗)
- (9) 後期重症化の対策 (治療指針作成) : (松野正紀, 小川道雄)

で行う予定である。

内視鏡的乳頭処置に関する研究

跡見 裕 杏林大学第一外科	中野 哲 大垣市民病院	早川 哲夫 名古屋大学第二内科
明石 隆吉 熊本地域医療センター内科	税所 宏光 千葉大学第一内科	白鳥 敬子 東京女子医科大消化器内科
竹田 喜信 大阪医科大学第二内科	真辺 忠夫 名古屋市立大学第一外科	小川 道雄 熊本大学第二外科

要旨：急性膵炎症例調査の中間集計（352例）での胆石性膵炎126例と ERCP 後膵炎24例について分析した。胆石性膵炎（23%）、ERCP 後膵炎（29%）ではアルコール性膵炎（40%）と比べ重症例が少なかった。胆石性膵炎では胆石存在部位は胆嚢のみ39%、総胆管61%で、乳頭部結石嵌頓は14%にみられた。19%に急性胆管炎を合併し重症例が多かった。半数に処置的 ERCP が行われた。胆道系あるいは膵感染症に対する手術が31例に施行されたほか、持続動注療法や血液浄化療法が重症例に対し行われた。重症例のみ27例中4例が死亡した。ERCP 後膵炎のうち、17例は診断的 ERCP が、7例は内視鏡的乳頭切開術が行われていた。乳頭切開の方が重症の傾向があった。軽症、中等症例では全例で保存的治療が行われ死亡例はなかったが、重症7例中2例が死亡した。

本委員会では(1)胆石性急性膵炎の病態と治療成績を検討し、特に内視鏡的治療の有用性について評価すること、および(2)ERCP 後膵炎の発生頻度と病態を検討することを目的としている。

(1)については、本研究班での急性膵炎症例調査に組み入れて施行した。(2)については、次年度に班員施設および関連施設へのアンケートにより、ERCP および関連手技（内視鏡的乳頭切開術、内視鏡的乳頭バルーン拡張術）の早期合併症に関して、急性膵炎を中心に調査する予定である。調査内容は ERCP および関連手技の施行例数、合併症（急性膵炎、胆管炎、出血、穿孔）の発生頻度・重症度などとする。

今年度報告書では、急性膵炎症例調査の中間集計（352例）での胆石性膵炎・ERCP 後膵炎の分析結果を述べる。なお最終集計の分析結果は次年度に行う予定である。

1. 急性膵炎の成因と重症度

急性膵炎症例調査中間集計の352例の成因別内訳は胆石性126例（36%）が最も多かった（表1）。次いでアルコール性109例（31%）、特発性46例（13%）、ERCP 後膵炎24例（7%）であった。アルコール性膵炎のほとんどが男性であったのに対し、胆石性、ERCP 後膵炎では男女比がほぼ1：1であった。

急性膵炎の重症度について検討すると、胆石性膵炎（23%）、ERCP 後膵炎（29%）ではアルコール性膵炎（40%）とくらべて重症例が少なかった。死亡率は胆石性膵炎では3%と低かったが、アルコール性膵炎（11%）、ERCP 後膵炎（8%）ではやや高かった。

2. 胆石性膵炎の検討

胆石性膵炎126例中、重症度の記載があった118例について検討した。胆石存在部位は胆嚢のみ39%、総胆管61%であった（表2）。重症例では軽症、中等症よりもむしろ総胆管結石の頻度が低かった。死亡

4例のうち3例は、胆嚢にのみ胆石を認めた。乳頭部結石嵌頓は14%にみられた。重症度別の嵌頓の頻度に差を認めなかった。急性胆管炎の合併を19%に認めた。胆管炎合併例は重症化しやすい傾向がみられた。

胆石性膵炎の治療として、ERCP（おもに内視鏡的乳頭切開術）が118例中58例に行われた（表3）。胆道系あるいは膵感染症に対する手術が31例に施行されたほか、持続動注療法や血液浄化療法が重症例に対し行われた。軽症、中等症では死亡例はなかったが、重症例では27例中4例（15%）が死亡した。ERCP施行例の死亡率は全症例で2%、重症例で10%と低かったのに対し、手術（重症例で17%）、持続動注療法（33%）、血液浄化療法（43%）施行例の死亡率は高かった。

3. ERCP 後膵炎の検討

24例の ERCP 後膵炎のうち、17例は診断的 ERCP が、7例は治療的 ERCP（すべて内視鏡的乳頭切開術）が行われていた（表4）。治療的 ERCP 症例の方が重症の傾向があった。急性膵炎に対する治療は24例中22例で保存的手段がとられた（表5）。軽症、中等症例では全例で、保存的治療が行われた。重症例では7例中5例で保存的治療が、2例で血液浄化療法、持続動注療法が行われた。軽症、中等症では死亡例がなかったが、重症膵炎7例中2例が死亡した。

表1. 急性膵炎—成因別男女比と重症度

成因	症例数	男	女	軽症	中等症	重症
胆石性	126 (4)	56	58	74	17	27 (4)
アルコール性	109 (12)	103	3	45	17	41 (12)
特発性	46 (5)	26	18	23	7 (1)	14 (4)
ERCP 後	24 (2)	11	13	13	4	7 (2)
その他	47 (8)	32	14	24 (1)	2	14 (7)
計	352 (31)	228	106	179 (1)	47 (1)	103 (29)

() : 死亡例

表2. 胆石性膵炎—胆石存在部位と重症度

	軽症	中等症	重症	計
	(74例)	(17例)	(27例)	(118例)
胆石存在部位				
胆嚢	21	7	17 (3)	45 (3)
総胆管	19	6	2 (1)	27 (1)
胆嚢+総胆管	30	5	9	44
乳頭部嵌頓	13	1	3 (1)	17 (1)
急性胆管炎	9	3	10 (1)	22 (1)
			(死亡4)	(死亡4)

胆石性膵炎 126 例のうち重症度が記載された 118 例のみを検討した。() : 死亡

表 3. 胆石性膵炎—治療法

	軽症 (74例)	中等症 (17例)	重症 (27例)	計 (118例)
ERCP	41	7	10 (1)	58 (1)
PTGBD	1	1	2	4
手術	15	4	12 (2)	31 (2)
持続動注療法	0	1	3 (1)	5 (1)
血液浄化療法	0	0	7 (3)	8 (3)
			(死亡 4)	(死亡 4)

胆石性膵炎 126 例のうち重症度が記載された 118 例のみを検討した。治療法の重複を含む。() : 死亡

表 4. ERCP 後膵炎—診断・治療的 ERCP と重症度

	軽症	中等症	重症	計
診断的 ERCP	11	2	4 (1)	17 (1)
治療的 ERCP	2	2	3 (1)	7 (1)
計	13	4	7 (2)	24 (2)

() : 死亡例

表 5. ERCP 後膵炎—治療法

	軽症	中等症	重症	計
血液浄化療法+持続動注	0	0	1 (1)	1 (1)
血液浄化療法	0	0	1	1
手術	0	0	0	0
保存的治療	13	4	5 (1)	22 (1)
計	13	4	7 (2)	24 (2)

() : 死亡例

各個研究 I

— 實驗研究 —

急性膵炎進展に及ぼす慢性膵障害の影響

研究報告者 跡 見 裕
杏林大学第一外科

共同研究者 中 島 正 暢 阿 部 展 次 杉 山 政 則

要旨：急性膵炎発生の基盤として慢性膵炎が存在する場合には腸内細菌の腸管外移行による敗血症の重篤化が示唆される。その仮説を実証するために慢性膵障害ラットモデルを用い、膵管内胆汁酸注入後の microbial translocation (MT) の発生機序につき検討を加えた。ストレプトゾトシン投与慢性膵障害ラットに膵管内胆汁酸注入した群では高度の浮腫性出血性膵炎が発症し、2時間後には腸内細菌の高頻度で遠隔に認められる移行が確認された。大動脈中の β -D グルカンは対照群と膵障害群では有意差はなかったがエンドトキシンの検討では膵障害群で高値を示した。

背 景

急性膵炎の致死率は依然として高く、その要因は感染からの敗血症と引き続く多臓器不全によるものと考えられている^{1,2)}。感染の発症と敗血症の進展には microbial translocation (MT) が関与すると考えられ、そのコントロール次第では救命率の向上が期待できるとの報告がみられるようになってきた^{3,4)}。一方、慢性膵障害を合併している膵での急性炎症性変化における MT に関しては報告が少ない。当教室では侵襲後の MT の機序に関する検討を行ってきたが^{5,6)}、今回はストレプトゾトシン投与ラットを用いて急性膵炎発症後の MT に関する検討を行った。

目 的

ストレプトゾトシン投与慢性膵障害ラットを用いて膵管内胆汁酸注入による急性炎症性変化惹起後の MT に関する検討を行う。

方 法

雄性 Wistar 系ラットを用いストレプトゾトシン45mg/kgを腹腔内注入し、4週間後に実験に供した。3 Fr チューブを経十二指腸的膵管内へカニューレーションし対照群は生理食塩水、急性壊死性膵炎群は5%タウロコール酸 (TCA) を0.5ml/body 注入し、2時間後にペントバルビタール麻酔下で開腹、大動脈採血、諸臓器摘出を行い、既報の如くに MT の実際を検討した。

結 果

両群間の体重、空腹時血糖、膵湿重量および膵/体重比に有意な差を認めなかった (体重; TCA 群

423.2 g vs. 対照群421.4, 空腹時血糖; 129.6mg/dl vs. 139.4, 脾湿重量1.663 g vs. 1.450, 脾/体重比 0.0039 vs. 0.0034)。胆汁酸注入直後より脾には出血性炎症性変化が出現。2時間後に摘出した腸間膜リンパ節, 肝, 肺, 脾の培養結果では対照群では1/4検体に *Corynebacterium bovis*, *Enterococcus faecalis* *E. coli* などの菌移行が認められ, 急性壊死性脾炎群では5/6検体に同種の菌移行を認めた(表1)。大動脈血中のエンドトキシンは対照群 13.9 ± 1.2 pg/mlに対し急性壊死性脾炎群では 31.4 ± 10.7 と高値を示したが, β -D グルカンは対照群 21.4 ± 9.1 pg/mlに対し急性壊死性脾炎群では 17.5 ± 7.0 と有意差を認めなかった(表2)。

表1. 諸臓器に認められる bacterial translocation

		MLN	肝	肺	脾
control	No. 1	<i>C. b.</i>	<i>E. f.</i>	<i>C. b.</i>	<i>E. coli</i> <i>E. f.</i>
	2	(-)	<i>E. f.</i>	(-)	(-)
	3	(-)	(-)	(-)	(-)
	4	(-)	(-)	(-)	(-)
STZ	No. 1	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	<i>C. b.</i>	(-)	(-)	(-)
	3	<i>C. b.</i> <i>C. r.</i>	(-)	(-)	<i>C. r.</i>
	4	<i>C. r.</i>	(-)	(-)	<i>K. p.</i>
	5	<i>C. b.</i> <i>C. r.</i>	<i>E. f.</i>	(-)	(-)
	6	<i>C. r.</i>	<i>K. p.</i>	(-)	(-)

MLN: mesenteric lymph node

C. b.; *Corynebacterium bovis*, *K. p.*; *Klebsiella pneumoniae*
E. f.; *Enterococcus faecalis*, *C. r.*; *Corynebacterium renale*,

表2. 大動脈血中のエンドトキシン, β -D グルカンの推移

	エンドトキシン (pg/ml)	β -D グルカン (pg/ml)
Control n=4	13.9 ± 1.2	21.4 ± 9.1
STZ n=6	31.4 ± 10.7	17.5 ± 7.0

考 察

最近の報告では急性膵炎の致命的要因には endogenous infection や真菌の移動を含む microbial translocation が高度に関与していることが知られてきている。それに対して実験的には膵管内タウロコール酸注入壊死性膵炎では非吸収性抗生剤を注腸しておくことと膵炎の程度と bacterial translocation が軽減するとの報告から始まり最近では adjuvant selective decontamination (SD) などの治療が奏効するとの臨床的な研究も行われている^{1,8)}。特に SD が行われた50例では膵壊死部へのグラム陰性菌の感染が有意に抑制でき、(8% vs 33%: *Pseudomonas aeruginosa*, *E coli*) 膵壊死にグラム陰性菌を認める場合は死亡率15倍となる報告は SD の重要性を示唆するものとする。

また、慢性膵障害を基盤に急性膵炎の発症時あるいは進展過程に認められる MT に関する検討は行われていなかった。今回の検討では STZ 投与ラットにおいて急性膵炎惹起後には高度の腸内細菌移行が遠隔臓器にも確認され、エンドトキシンの高値を認めた。この理由のひとつとして STZ 投与ラットにおいては神経障害による過剰な腸管内容貯留が起こってくるということが考えられる。われわれは他のストレスを負荷した場合の菌移行も確認しているが、高血糖をきたすこのモデルでは代謝性の二次的変化が菌移行の推進因子になるものと考えられ、膵の繊維化を主とする WBN/Kob ラットなどを用いた別の実験系で同様の検討を行う必要もあると考える。

結 語

以上の実験結果から膵管内胆汁酸注入急性膵炎モデルにおいては慢性膵障害群では、大動脈中の高エンドトキシン値を呈し、多種で高度の bacterial translocation が確認された。炎症惹起後2時間では真菌移動の指標である β -D グルカンの値には有意な変化は認められなかった。

参 考 文 献

- 1) Bittner R, Block S, Buchler M, et al. Pancreatic abscess and infected pancreatic necrosis. Different local septic complications in acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1987; 32: 1082-7.
- 2) Widdison AL, Karanja ND. Pancreatic infection complicating acute pancreatitis. *Br J Surg*. 1993; 80, 148-54.
- 3) Marrota F. Bacterial translocation in the course of acute pancreatitis: beneficial role of nonabsorbable antibiotics and lactitol enemas. *Digestion* 1996; 57: 446-52.
- 4) Goris RJA, Bebbler IPT, Mollen RMH, et al. Does selective decontamination of the gastrointestinal tract prevent multiple organ failure? *Arch Surg* 1991; 126, 561-5.
- 5) 中島正暢, 新川 定, 茂木瑞弘 他. 糖尿病に認められる bacterial translocation と腸管の cytoprotection. *Cytoprotection & biology* 1999; 17: 45-7.
- 6) 中島正暢, 茂木瑞弘, 杉山政則, 他. 栄養管理から見た bacterial translocation—糖尿病による低栄養について—. *日本腹部救急医学会雑誌* 1999; 19: 961-5.
- 7) Luiten EJT, et al. Differential prognosis of gram-negative versus gram-positive infected and sterile pancreatic necrosis: results of a randomized trial in patients with severe acute pancreatitis treated with adjuvant selective decontamination. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 811-6.

重症急性膵炎の遠隔臓器障害における II 型 PLA₂ の役割

研究報告者 大 槻 眞

産業医科大学第三内科

共同研究者 木 原 康 之 中 村 早 人 本 田 秀 和

賈 冬 梅 吉 川 裕 之

要旨：本研究では自然発症的に II 型 PLA₂ が特異的に欠損している C57BL/6J マウスにコリン欠乏エチオニン含有飼料を投与して壊死性急性膵炎を作製し、急性膵炎の重症化に及ぼす II 型 PLA₂ の関与を検討した。C57BL/6J マウスでは膵炎作製後の血清アミラーゼ活性が対照に比し有意に低値であったし、膵腺房細胞の壊死脱落、炎症細胞浸潤、出血が対照に比し軽度であった。さらに、C57BL/6J マウスの肺胞壁厚、肺の MPO 活性および血中 PLA₂ 活性が対照に比し有意に低値であったことから、II 型 PLA₂ が急性膵炎の進展・増悪および肺障害の発症に関与している可能性が示唆された。

目 的

急性膵炎は良性疾患であるが、一度重症化すると膵周囲臓器だけではなく、遠隔主要臓器も障害され、呼吸不全、循環不全、腎不全や重症感染症、出血傾向など、様々な合併症をきたし多臓器不全の末、死の転帰をとることがあることから、救命率を高めるためには急性膵炎の重症化機序を解明しなければならない。敗血症あるいは多臓器不全患者の II 型 PLA₂ 活性は高値であることが知られている¹⁾。さらに、壊死性急性膵炎患者では II 型 PLA₂ 高値が持続するし²⁾、急性膵炎に呼吸不全あるいは腎不全を合併した場合には II 型 PLA₂ 濃度が高値となることから³⁾、II 型 PLA₂ が急性膵炎の重症化に重要な役割を果たしていると考えられる。

C57BL/6J マウスは小腸内 PLA₂ 活性が著明に低値であることが報告されている⁴⁾。本研究では急性膵炎の重症化における II 型 PLA₂ の関与を明らかにするために、C57BL/6J マウスに実験的に壊死性急性膵炎モデルであるコリン欠乏エチオニン膵炎 (CDE 膵炎) を作製し、膵および肺の生化学的、組織学的変化および血中 PLA₂ 活性を検討した。

方 法

雌性 C57BL/6J マウス (体重 20–22 g) の膵臓、十二指腸を摘出し、acid guanidium-phenool chloroform 法 (AGPC 法) を用いて RNA を抽出し、I 型 PLA₂ および II 型 PLA₂ mRNA の発現を検討した。さらに、雌性 C57BL/6J マウスにコリン欠乏エチオニン含有飼料を 3 日間投与し、急性膵炎を作製した (CDE 膵炎)⁵⁾。対照として雌性 C3H/HEJ マウス (体重 19–22 g) を用いた。投与開始 1 日後、2 日後、3 日後に採血し、膵湿重量、膵臓および肺の組織学的変化、血清アミラーゼ活性、肺のミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性および血清 PLA₂ 活性を検討した。

結 果

膵臓における I 型 PLA₂mRNA の発現は C57BL/6J マウスおよび C3H/HEJ マウスで認められたが、II 型 PLA₂mRNA の発現は両マウスともに認められなかった。一方、十二指腸における I 型 PLA₂ mRNA の発現は両マウスともに認められなかったが、II 型 PLA₂mRNA の発現は C3H/HEJ マウスでは認められたが、C57BL/6J マウスでは認められなかった (図 1)。

C57BL/6J マウスおよび C3H/HEJ マウスの膵湿重量は CDE 膵炎作製後、経時的に増加したが、両群間で差は認められなかった。C57BL/6J マウスの血清アミラーゼ活性は膵炎作製 3 日後に軽度増加したが、対照に比し有意に低値であった。C3H/HEJ マウスの膵臓は膵炎作製 3 日後に出血、膵腺房細胞の壊死脱落、小葉への炎症細胞浸潤が認められたが、C57BL/6J マウスの膵組織所見は作製前に比し変化が認められなかった (図 2)。

C3H/HEJ マウスの肺胞壁は膵炎作製 3 日後に肥厚が認められたが、C57BL/6J マウスの肺胞壁厚に変化はみられなかった (図 2)。C57BL/6J マウスの肺の MPO 活性は膵炎作製 1 日後から増加したが、膵炎作製 3 日後まで対照に比し低値であった。

C3H/HEJ マウスの血中 PLA₂ 活性は膵炎作製 3 日後に膵炎作製前に比し有意に増加したが、C57BL/6J マウスの血中 PLA₂ 活性の上昇は認められず、対照に比し有意に低値であった (図 3)。

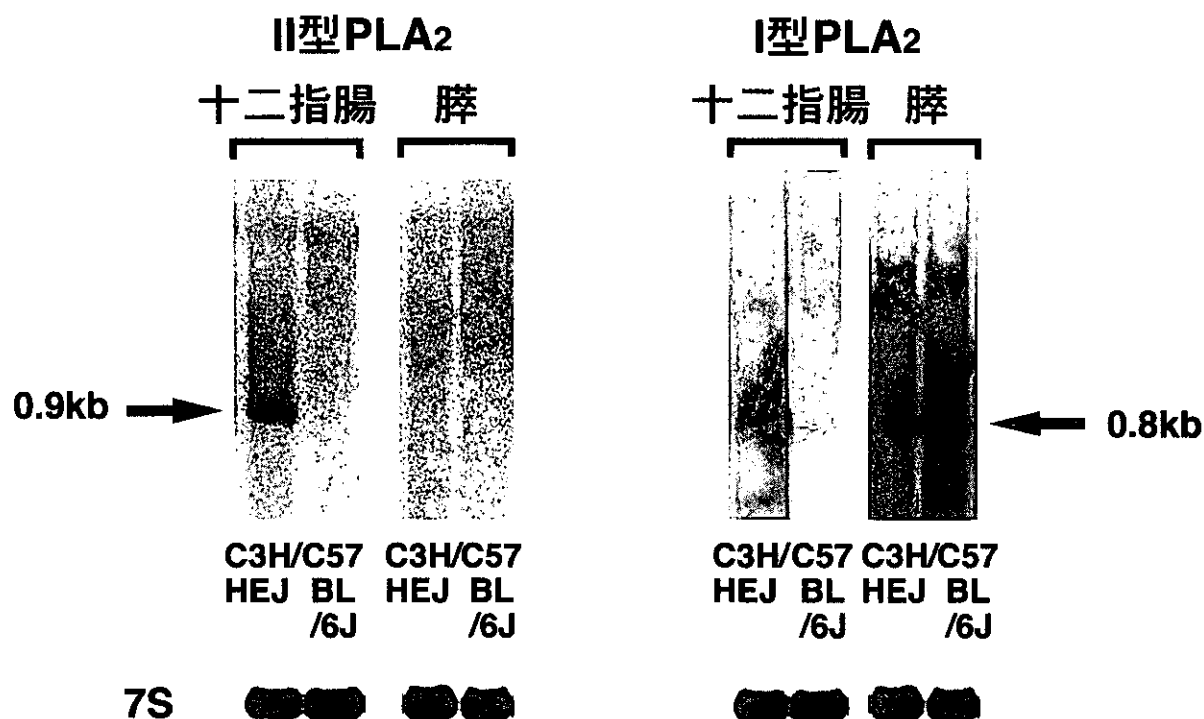


図 1. C57BL/6J および C3H/HEJ マウスの膵臓、十二指腸における I 型 PLA₂ および II 型 PLA₂mRNA の発現

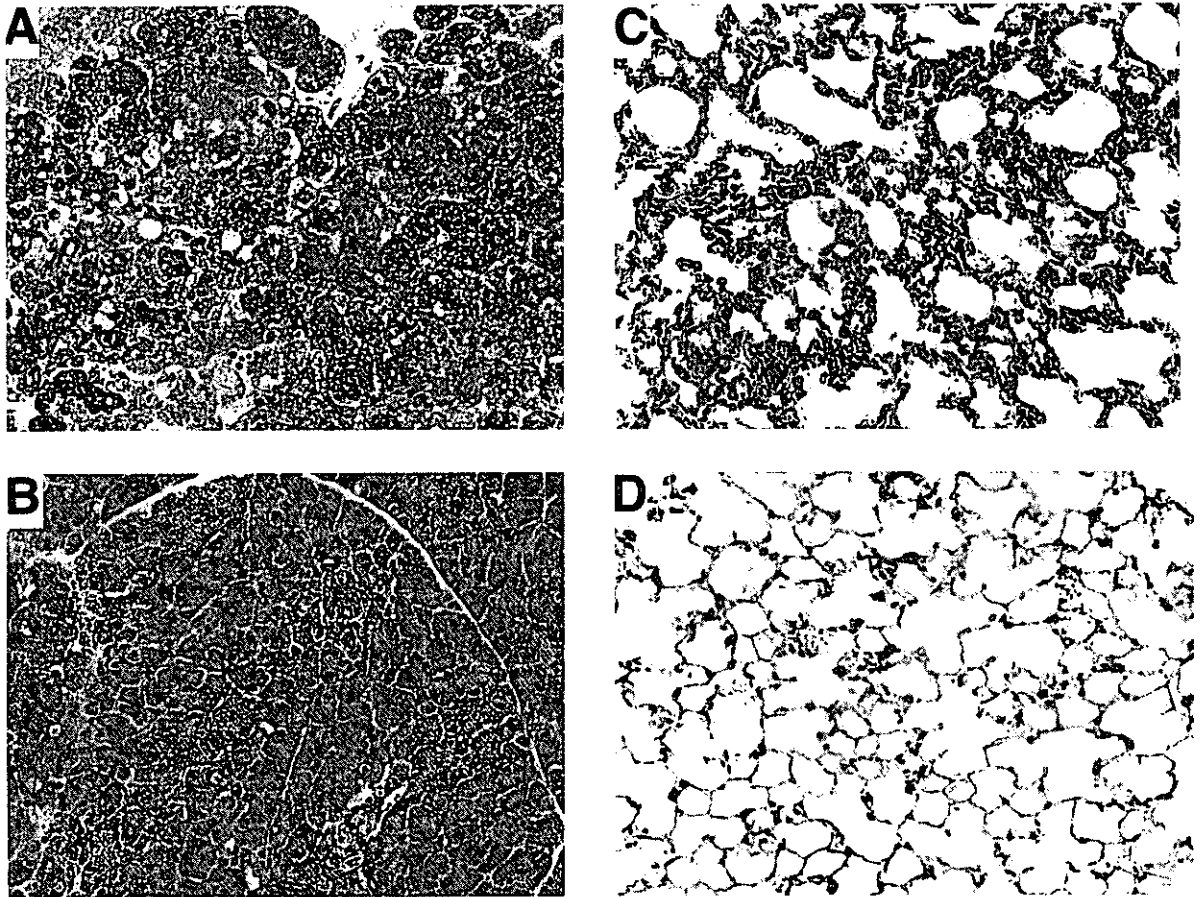


図 2. CDE 脾炎作製 3 日後の組織像 (HE 染色)

A : C3H/HEJ マウス, 脾, B : C57BL/6J マウス, 脾
 C : C3H/HEJ マウス, 肺, D : C57BL/6J マウス, 肺

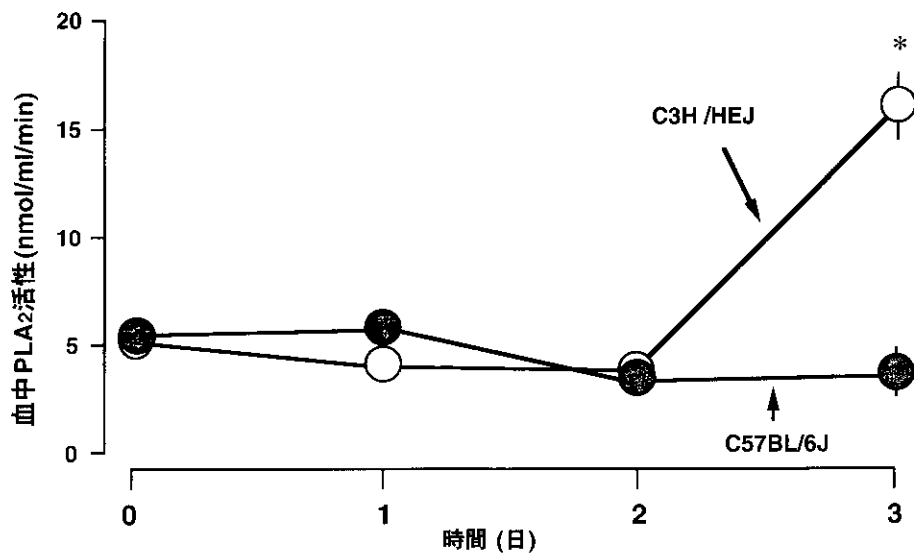


図 3. CDE 脾炎作製後の血中 PLA₂ 活性の経時的変化

* : $P < 0.05$

考 察

急性膵炎患者の I 型 PLA₂ 濃度は発症早期にのみ高値で、膵炎の重症度と相関は認められないが、壊死性急性膵炎患者の II 型 PLA₂ 濃度は浮腫性急性膵炎患者に比し膵炎発症後も高値が持続する³⁾。さらに、ラットセルレイン膵炎では II 型 PLA₂ 活性と I 型 PLA₂ 活性に差がみられないが、ラットタウロコール酸膵炎では、II 型 PLA₂ 活性が I 型 PLA₂ 活性に比し有意に高値となるし^{6,7)}、ラットタウロコール酸膵炎に PLA₂ 阻害剤を投与すると膵の組織学的変化は軽度になることが報告されている⁷⁾。

C57BL/6J マウスは小腸内 PLA₂ 活性が著明に低値であることが報告されている⁴⁾。本研究では C57BL/6J マウスの膵臓に I 型 PLA₂mRNA の発現が認められたが、十二指腸における II 型 PLA₂ mRNA の発現が認められなかったことから、C57BL/6J マウスは自然発症的に II 型 PLA₂ が特異的に欠損したマウスであることが確認された。われわれは C57BL/6J マウスにセルレインおよび LPS を用いて急性壊死性膵炎 (Cn+LPS 膵炎) を作製すると膵炎早期の血清アミラーゼ活性は低値であり、壊死性膵炎像が明らかに軽度であったことを報告した⁸⁾。本研究ではコリン欠乏エチオニン含有飼料を C57BL/6J マウスに投与し、急性壊死性膵炎を作製したが、Cn+LPS 膵炎と同様の結果が得られた。さらに、C3H/HEJ マウスの血中 PLA₂ 活性は CDE 膵炎作製後に上昇したが、C57BL/6J マウスの血中 PLA₂ 活性は対照に比し有意に低値であったことから、II 型 PLA₂ が壊死性急性膵炎への進展に関与していると考えられた。

多臓器不全あるいは全身性炎症反応症候群 (systemic inflammatory response syndrome ; SIRS) を合併した急性膵炎患者の死亡率は高率になることから、急性膵炎の重症化は膵局所の炎症が遠隔臓器に波及することで惹起される。呼吸不全、腎不全あるいは SIRS を合併した急性膵炎患者の血中 II 型 PLA₂ 濃度が高値であることから⁹⁾、II 型 PLA₂ は重症急性膵炎に合併する臓器不全あるいは SIRS の発症に関与していると考えられる。マウス CDE 膵炎では膵炎作製 3 日後に肺胞壁の肥厚がみられ、肺の MPO 活性は高値を示すが、C57BL/6J マウスでは膵炎作製後に肺胞壁の肥厚はみられず、肺の MPO 活性が対照に比し低値を示したことから、II 型 PLA₂ が急性膵炎に合併する肺障害の発症に関与している可能性が示唆された。

結 語

自然発症的に II 型 PLA₂ が特異的に欠損している C57BL/6J マウスに実験的に急性壊死性膵炎を作製すると、対照に比し膵の組織学的変化は軽度で、血清アミラーゼ活性、肺胞壁厚、肺の MPO 活性および血中 PLA₂ 活性が低値であったことから、II 型 PLA₂ が急性膵炎の進展・増悪および肺障害の発症に関与している可能性が示唆された。

参 考 文 献

- 1) Green JA, Smith GM, Buchta R, Lee KY, Ho LA, Rajkovic IA, Scott KF. Circulating phospholipase A₂ activity associated with sepsis and septic shock is indistinguishable from that associated with rheumatoid arthritis. *Inflammation* 1991 ; 15 : 355-67.
- 2) Nevalainen TJ, Gronroos JM, Kortesoja PT. Pancreatic and synovial type phospholipase A₂ in serum samples from patients with severe acute pancreatitis. *Gut* 1993 ; 34 : 1133-6.

- 3) Gronroos JM, Nevalainen TJ. Increased concentrations of synovial-type phospholipase A₂ in serum and pulmonary and renal complications in acute pancreatitis. *Digestion* 1992; 52: 232-6.
- 4) Kennedy BP, Payette P, Mudgett J, Vadas P, Pruzanski W, Kwan M, Tang C, Rancourt DE, Cromlish WA. A natural disruption of the secretory group II phospholipase A₂ in inbred mouse strains. *J Biol Chem* 1995; 270: 22378-85.
- 5) Lombardi B, Estes LW, Longnecker DS. Acute hemorrhagic pancreatitis (massive necrosis) with fat necrosis induced in mice by DL-ethionine fed with a choline-deficient diet. *Am J Pathol* 1975; 79: 465-80.
- 6) Uhl W, Schrag HJ, Schmitter N, Nevalainen TJ, Aufenanger J, Wheatley AM, Buchler MW. Pathophysiological role of secretory type I and II phospholipase A₂ in acute pancreatitis: an experimental study in rats. *Gut* 1997; 40: 386-92.
- 7) Uhl W, Schrag HJ, Schmitter N, Aufenanger J, Nevalainen TJ, Buchler MW. Experimental study of a novel phospholipase A₂ inhibitor in acute pancreatitis. *Br J Surg* 1998; 85: 618-23.
- 8) 大槻 眞, 木原康之, 中村早人, 山口泰三, 吉川裕之. II型PLA₂ノックアウトマウスにおける急性膵炎重症化機序の検討. 厚生省特定疾患重点研究事業 重症急性膵炎の救命率を改善するための研究班平成10年度研究報告書. 1999: 86-90.
- 9) Hietaranta A, Kemppainen E, Puolakkainen P, Sainio V, Haapiainen R, Peuravuori H, Kivilaakso E, Nevalainen T. Extracellular phospholipase A₂ in relation to systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and systemic complications in severe acute pancreatitis. *Pancreas* 1999; 18: 385-91.

血管内皮細胞障害の機序の検討 —血管内皮細胞単層培養系での透過性亢進抑制—

研究報告者 島 崎 修 次
杏林大学救急医学

共同研究者 村 田 厚 夫 武 田 多 一

要旨：in vitro での血管内皮細胞障害実験系を確立し，血管透過性亢進の機序を検討した。そして，その系を用いて将来臨床応用可能と考える薬物による血管透過性亢進を制御の可能性について検討を行った。今年度は，ATP や PKC に着目し，細胞内情報伝達系の関与についての知見を得た。

血管内皮細胞の細胞骨格に関与する ATP や PKC 刺激作用は，本実験系で血管内皮細胞のバリア機能の維持，あるいは刺激に影響することが示唆された。重症肺炎の病態の一つに血管内皮細胞透過性亢進があることから，ATP の投与は重症肺炎の病態修飾，ひいては重症治療に応用可能であることが期待された。

1. はじめに

侵襲（重症肺炎・外傷・重症感染症・重症熱傷・ショックなど）に対する生体反応の中，血管透過性亢進は，その病態の因子として極めて重要である。しかし，血管透過性亢進のメカニズムやその有効な治療法については，未だに解明されておらず，研究・開発の途上にあると考えられる。

ATP は侵襲を受けた生体において血管透過性亢進を抑制したり，浮腫の形成を抑制する効果があることが報告されているが，詳細な作用機序は不明である。

一方，protein kinase C (PKC) は，血管内皮細胞の形態や機能に変化を司る重要な情報伝達機構を担っていることが知られている。

本研究では，毛細血管壁の構造をシミュレートした，培養血管内皮細胞単層における透過性を測定する実験系を用い，ATP の血管内皮細胞単層の透過性に対する作用と，その作用における PKC の関与についての検討を行った。

2. 方 法

- ① HUVEC を co-culture chamber のフィルター膜上に培養し，単層を作成した。
- ② FITC でラベルした70kDa のデキストランと種々の濃度の薬剤を添加して，4 時間後に培養単層の下に透過した FITC-デキストラン濃度を測定し，細胞単層の透過性とした。
- ③ 10^{-7} ～ 10^{-3} M の ATP を培養液に加え，透過性の変化を検討した。
- ④ PKC 刺激剤としては，PMA を用い，また細胞膜透過性の PKC 阻害剤である myristoylated PKC 19-27 を用いた。

3. 結 果

図1に示すように ATP 添加により培養血管内皮細胞単層の透過性は ATP の濃度依存性に低下した。PKC 刺激剤である PMA 添加により培養血管内皮細胞単層の透過性は図2のように濃度依存性に低下した。

図3は myristoylated PKC 19-27 を含む培養液に ATP を添加した場合の透過性の変化であるが、ATP による培養血管内皮細胞単層の透過性抑制作用は myristoylated PKC 19-27 により阻害された。

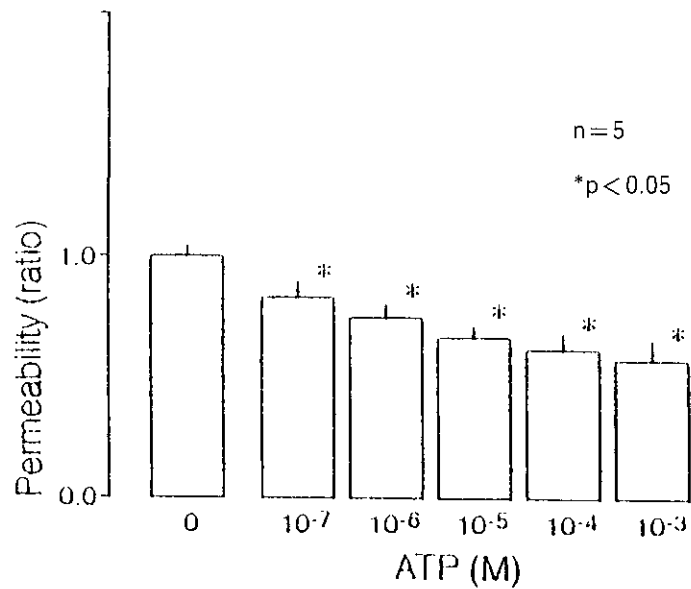


図 1

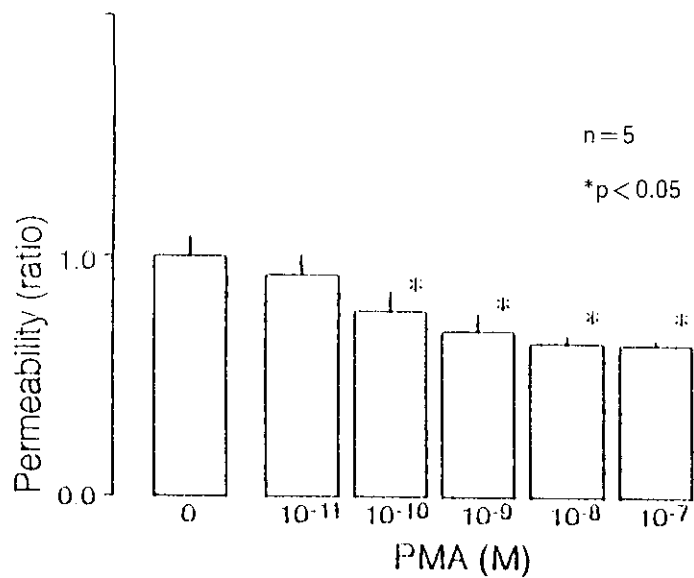


図 2

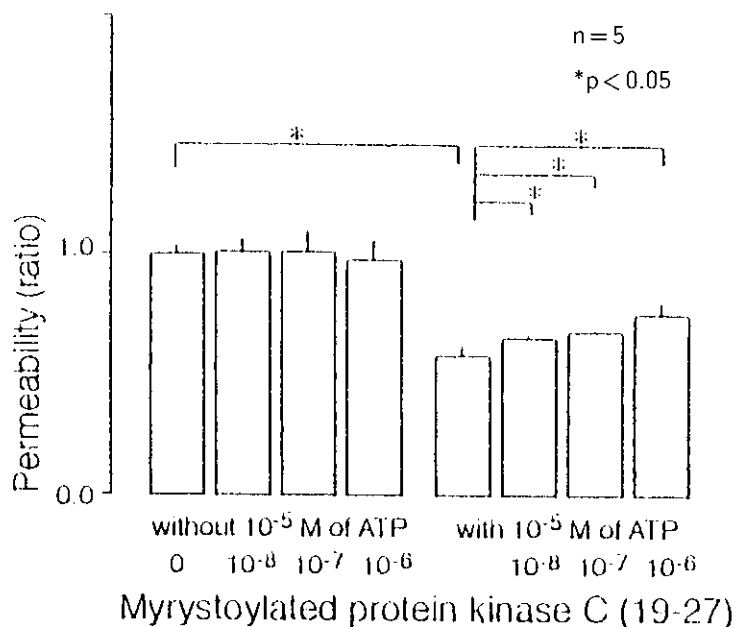


図 3

4. 考 察

これらのことから、血管内皮細胞が、細胞外 ATP の刺激を受けて、その形態や機能を変化させることが判明した。しかし、それが細胞障害を示唆するのか、細胞機能の活性化を示すのかは今のところ不明である。

今回の結果からは、ATP の作用として、培養血管内皮細胞単層の細胞間隙を狭小化して内皮細胞のバリア機能を刺激するのではないかと考えられた。

ATP や PKC の作用として、血管内皮細胞の細胞骨格の変化が起これるとすれば、basic FGF などによる PKC 刺激作用と同様の機序が想定された。細胞内 ATP 濃度が mM 単位であれば、障害を受けた一つの血管内皮細胞から放出されるであろう ATP が周囲に存在する別の血管内皮細胞と反応して、血管内皮細胞単層のバリア機能を維持する方向に働く可能性がある。

これらのことから、血管内皮細胞透過性亢進が病態の中心にある障害に対して ATP などの臨床的投与の可能性が示唆された。

以上の結果は 5th International Conference of Trauma, Shock, Sepsis and Immune Consequence (March, 2000, Munich, Germany) で発表した。