

IL-10 を用いた急性膵炎に対する遺伝子治療

研究報告者 松野正紀
東北大学第一外科

共同研究者 武田和憲 渋谷和彦 砂村真琴
三上幸夫

要旨：Balb/c 雄性マウスを用い、以下の4群に分けてマウス IL-10 遺伝子導入による急性膵炎の治療効果を検討した。A群：無処置マウス，B群：セルレイン膵炎のみ作成したもの，C群：コントロールベクター投与群，セルレイン膵炎を作成したもの，D群：IL-10 遺伝子導入ベクターを投与後，セルレイン膵炎を作成したもの。

血清 IL-10 値はA，B，C群が測定感度以下であったのに対し，D群のみで $6080 \pm 2181 \text{pg/ml}$ と上昇していた。血清 p-amylase 値は，B，C，D群はA群より高値を示したものの，B，C，D群では有意差を認めなかった。組織学的にはB，C，D群の膵炎の程度はいずれも軽く，明らかな差は認められなかった。

以上より，IL-10 遺伝子導入によるセルレイン膵炎の治療効果は現段階では認められず，より重症の膵炎モデルにおける治療効果の検討が必要と考えられた。

背 景

IL-10 はマクロファージ等から放出される抗炎症性サイトカインであり，単球/マクロファージ系における炎症性サイトカインや活性酸素の産生を抑制することが知られている。また，ラットセルレイン膵炎において，IL-10 の投与が膵組織の変化を軽減し，血清 TNFmRNA レベルを低下させることが知られている¹⁾。

目 的

マウス急性膵炎モデルにおいて，IL-10 遺伝子導入による治療効果を検討する。

対象と方法

1) IL-10 遺伝子導入アデノウイルスベクター

本実験では IL-10 遺伝子を導入するためにアデノウイルスをベクターとして使用した。癌研究会分子生物治療部門（現札幌医大）の濱田洋文先生より，CA promoter を有するマウス IL-10 遺伝子を組み込んだ組換えアデノウイルスベクター（AxCAmIL-10）と CA promoter を有する Lac-Z 遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクター（AxCALac-Z）の提供を受けた。

2) アデノウイルスベクターを用いた膵癌細胞への遺伝子導入

In vitro での IL-10 遺伝子導入を評価するために、ヒト膵癌細胞株 ASPC-1 を用いた。ASPC-1 1×10^6 個に 1, 10MOI の AxCAmIL-10 を 1 時間感染させ、48 時間培養後の上清中の IL-10 濃度をマウス IL-10 ELISA キットを用いて測定した。コントロールベクターである AxCALac-Z を 10MOI, 1 時間感染させたものと、全く処置を加えていないものを比較対照とした。

3) In vivo における IL-10 遺伝子の導入と急性膵炎の作成

6 w 齢 Balb/c 雄性マウスを用い、以下の 4 群に分けて検討を加えた。

A 群：コントロールマウス（無処置のもの）

B 群：セルレイン $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ を 1 時間おきに 6 回腹腔内投与し、急性膵炎を作成したもの。

C 群：コントロールベクター（AxCALac-Z）を 10^7 pfu 腹腔内投与後、72 時間後にセルレイン膵炎を作成したもの。

D 群：AxCAmIL-10 を 10^7 pfu 腹腔内投与後、72 時間後にセルレイン膵炎を作成したもの。

セルレイン初回投与の 7 時間後に屠殺し採血、膵組織も摘出し、血清 p-amylase, 血清 IL-10, 膵乾湿重量比、組織学的検討を行い評価した。

結 果

1) In vitro（膵癌細胞）における IL-10 の発現

AxCAmIL-10 を 10MOI, 1 時間感染させたものは $1.706 \pm 0.06 \text{ pg}/\text{cell}$, 1 MOI, 1 時間感染させたものは $0.207 \pm 0.022 \text{ pg}/\text{cell}$, AxCALac-Z を 10MOI, 1 時間感染させたものは $0.00023 \pm 0.000014 \text{ pg}/\text{cell}$, 全く処置を加えていないものは測定感度以下であった（図 1）。

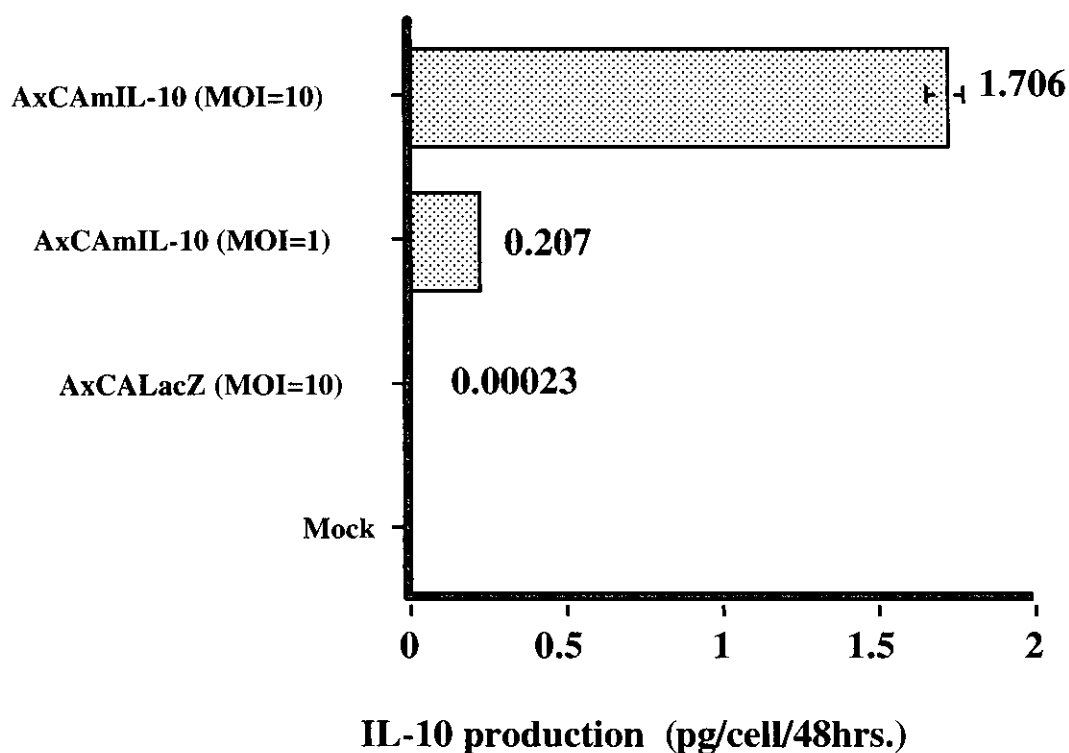


図 1. 膵癌細胞株 ASPC-1 における感染後の IL-10 産生量

2) In vitro におけるアデノウイルス感染の確認

AxCALac-Z を投与したマウスの腹腔内に X-gal 染色を行ったところ、腹腔内は染色陽性であり、ウイルスの感染が確認された。

3) 血清 p-amylase

血清 p-amylase 値は A 群 1554 ± 478 IU / l, B 群 4824 ± 3309 IU / l, C 群 3583 ± 2557 IU / l, D 群 7602 ± 4139 IU / l と B, C, D 群は A 群より高値を示したものの、B, C, D 群では有意差を認めなかった (図 2)。

4) 血清 IL-10

血清 IL-10 値は A, B, C 群が測定感度以下であったのに対し、D 群のみで 6080 ± 2181 pg / ml と上昇していた。

5) 膵乾湿重量比

膵乾湿重量比は C, D 群のみで測定したが、C 群 4.8 ± 1.4 , D 群 6.8 ± 1.1 と有意差はないものの D 群のほうが高い傾向が認められた。

6) 組織学的変化

組織学的には B, C, D 群の膵炎はいずれも軽度の浮腫性膵炎であり、各群間に明らかな差は認められなかった (図 3)。

考 察

Norman らはマウスセルレイン膵炎モデルにおいて、異種であるヒト IL-10 遺伝子を plasmid と

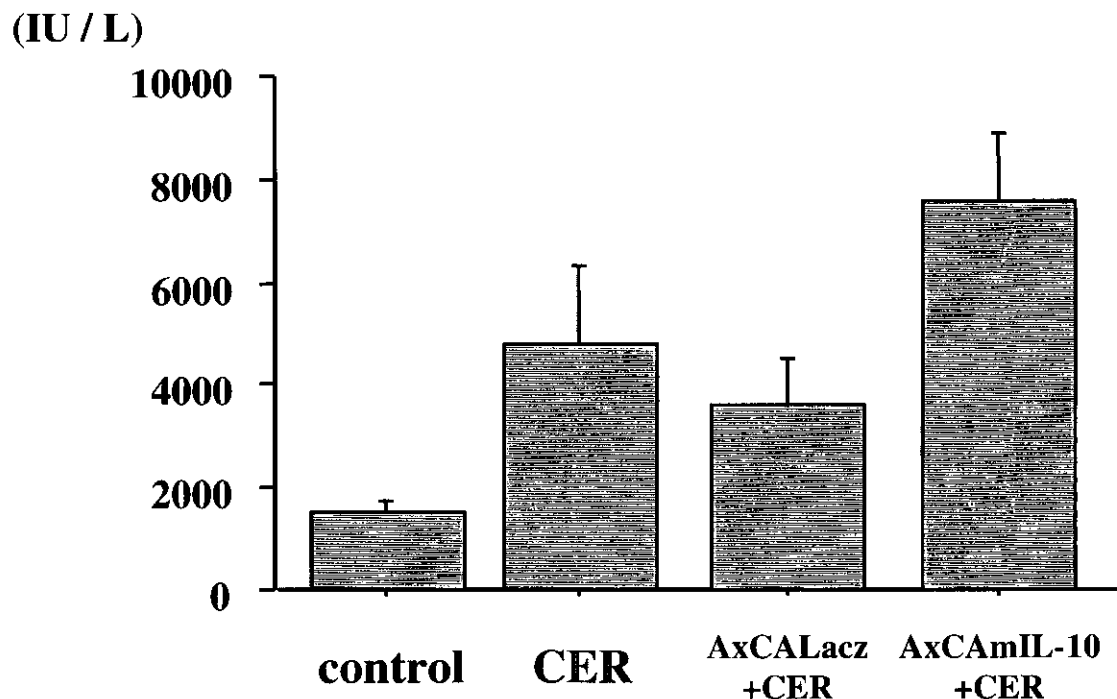


図 2. 血清アミラーゼ値 (CER: セルレイン)

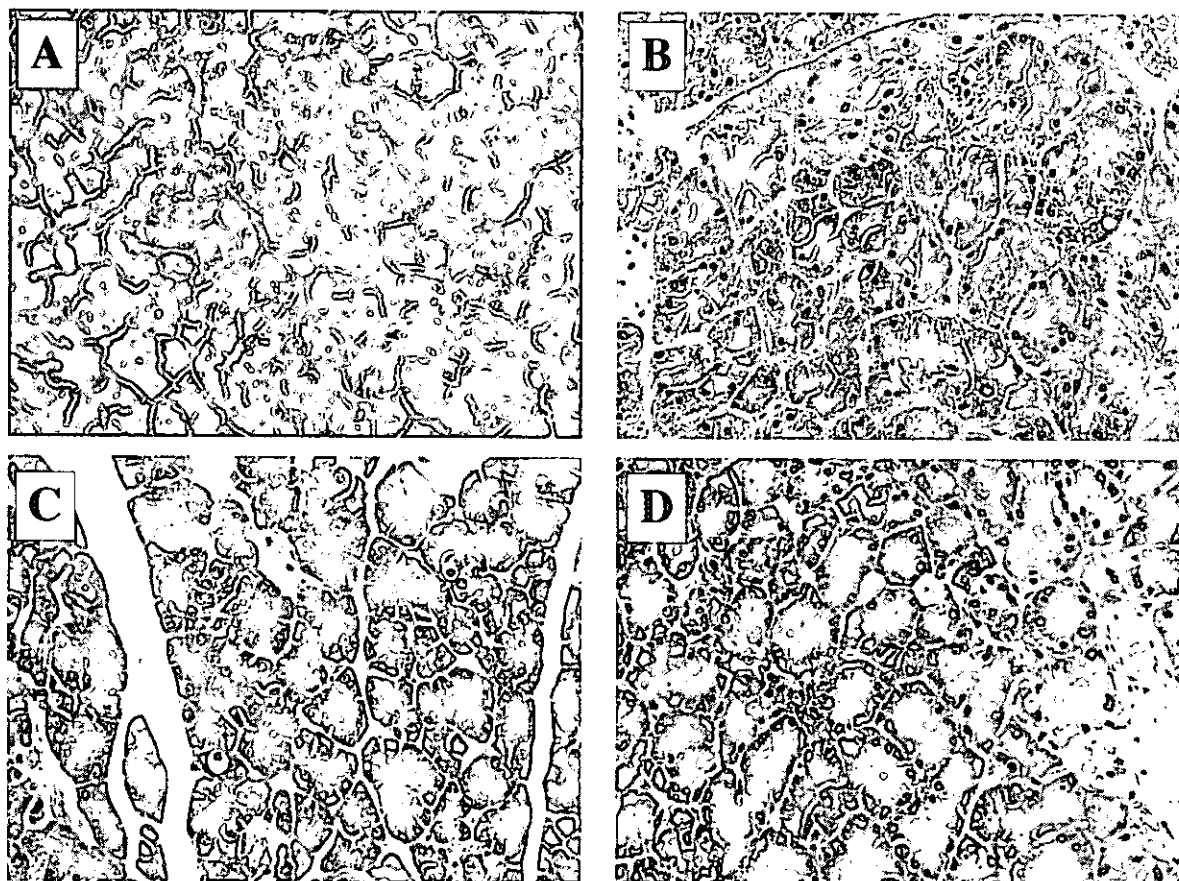


図3. 各群における膵の組織学的変化

cationic liposome をベクターとして導入し、遺伝子の発現の確認と組織学的に膵炎が改善したことを報告している²⁾。

しかし、本実験では同種であるマウス IL-10 遺伝子の導入がなされているにもかかわらず、急性膵炎の治療効果は现阶段では認められなかった。その要因としては、本実験で作成したセルレイン膵炎が軽度であったため、効果に差が出なかったのではないかと考えられる。実際血清 IL-10 値はセルレイン膵炎を作成したのみの群では上昇が認められておらず、病理学的には軽度の浮腫性変化のみである。彼らの使用したマウスと系が異なることも要因の一つとしてあげられるが、今後はより重症の急性膵炎モデルにおける治療効果の検討が必要であると考えている。

参 考 文 献

- 1) Rongione AJ, Reber HA, McFadden DW, et al. Interleukin 10 reduces the severity of acute pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 1997; 112: 960-7.
- 2) Denham W, Norman J, et al. Transient human gene therapy: a novel cytokine regulatory strategy for experimental pancreatitis. *Ann Surg* 1998; 227: 812-20.

ラットセルレイン急性膵炎重症化モデルにおける 低体温療法の重症防止効果についての検討

研究報告者 岡 正 朗

山口大学第二外科

共同研究者 上 野 富 雄

要旨：ラットセルレイン急性膵炎重症化モデルにおいて、中等度低体温療法を行い、その重症防止効果について検討を行った。その結果、低体温療法を施行しなかった群では膵腺房間が浮腫状に拡大し、腺房細胞構築の破壊と炎症細胞浸潤が観察された。一方、低体温導入群では、腺房細胞構築が保たれており、炎症細胞浸潤をわずかに認めるのみであった。今回の検討では、重症化モデルにおいて、低体温導入の有無で組織学的な変化が生じることが判明した。

はじめに

急性膵炎を重症化させる機序としては確証が得られたものはなく、膵逸脱酵素やサイトカインといった種々の因子と感染などが複雑に絡んでいるとされる。いずれにしても、ある一連のカスケードが進行することによって、一部の急性膵炎が重症化するものと推察される。その一連のカスケード現象に関与している主体は、細胞内、細胞外いずれであっても“酵素”であろうと思われる。酵素反応には至適温度があることは明白であり、低体温療法を導入することで、一連の酵素カスケードが抑制されるのではないかと考え、本研究を開始した。

方 法

Wistar系雄性ラット（体重220–250g）にセルレイン（50 μ g/kg）を1時間毎に計4回筋注し、初回セルレイン筋注後、6時間目にlipopolysaccharide30mg/kgを腹腔内に投与し、急性膵炎重症化モデルを作製した¹⁾。

初回セルレイン筋注後3.5時間目に、気管内挿管し全身麻酔を行った。麻酔導入直後の単純な体温低下を防ぐため、全例、導入中は加温板を用い加温した。低体温導入群は、初回セルレイン筋注後4時間後から氷嚢を用いた直接冷却と、空調と氷コップを用いた間接冷却にて約30分で直腸温が32°Cになるように調節した。低体温非導入群は、直腸温が37°Cを保つよう加温し調節した。

初回薬剤投与7.5時間後に採血し、膵酵素として血清アミラーゼ、リパーゼ、フォスフォリパーゼA2を、サイトカインとして血中IL-1、IL-6、TNF- α 、CINCを測定した。12時間後に膵、肺、肝、腎の臓器摘出を行い、病理組織像を検討した。

結 果

膵酵素およびサイトカインについては現在、検討中である。病理組織学的には、低体温導入群では、腺房細胞構築が比較的保たれており、炎症細胞浸潤をわずかに認める像が観察された(図1)。低体温非導入群では膵腺房間が浮腫状に拡大し、腺房の構築の破壊と炎症細胞浸潤を認めた(図2)。肺、肝、腎の病理組織像は両群間に差を認めなかった。

考 察

低体温療法は感染症を誘発するとされ、SIRS 対策としては敬遠されてきた経緯があるが、核温を 33.9~32°C に保つ中等度低体温療法は、成長ホルモン、L-arginine、グルタミン酸、亜鉛などを補充することで、SIRS の病態をかなりの期間、その病態の進行を止めることが出来ると期待されている²⁾。しかし中等度低体温療法は脳蘇生の一環として既に行われている³⁾ものの、SIRS 対策としてはほとんど行われていないのが現状である。急性膵炎に対する低体温療法は、1960年代に実験的^{4,5)}、臨床的⁶⁾にその有用性を認めている報告が散見されるが、追試がなされていない。一方、現在の全身集中管理は当時とは趣がかなり異なっていることから、急性膵炎を重症化させる一連の酵素カスケードを低体温により抑制することで、重症化の防止が出来ないかといった観点から、本研究に着手した。

今回の検討では、ラットセルレイン急性膵炎重症化モデルにおいて、低体温導入の有無で、膵腺房細胞の組織学的変化が異なることが判明した。中等度低体温療法における復温の問題は、今後解決すべき課題であるが、血中膵酵素、サイトカインが体温低下につれてどのように変動するかも検討する予定である。

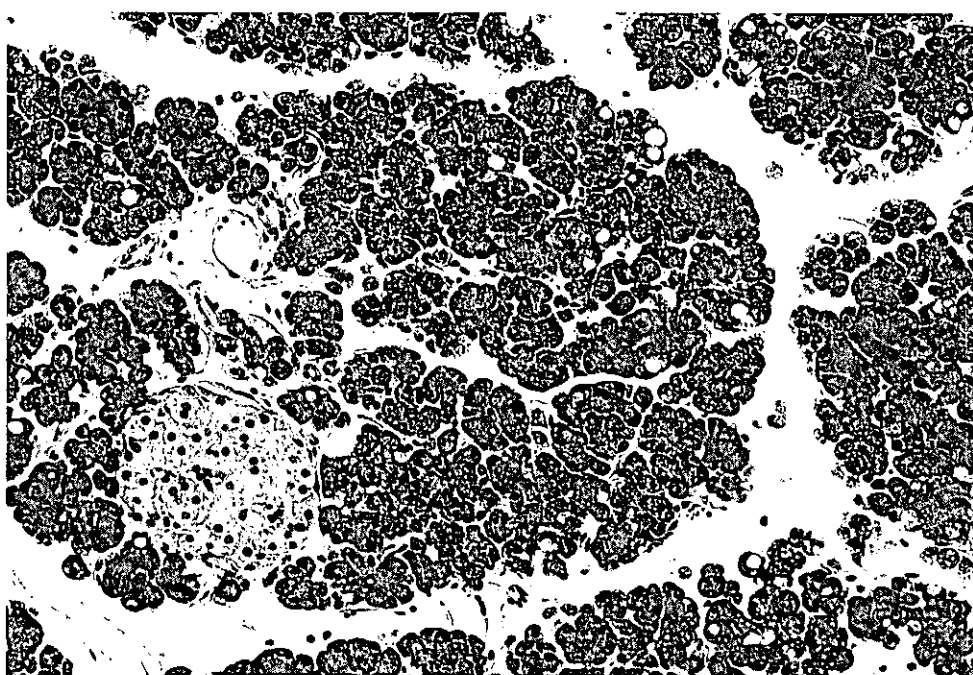


図 1

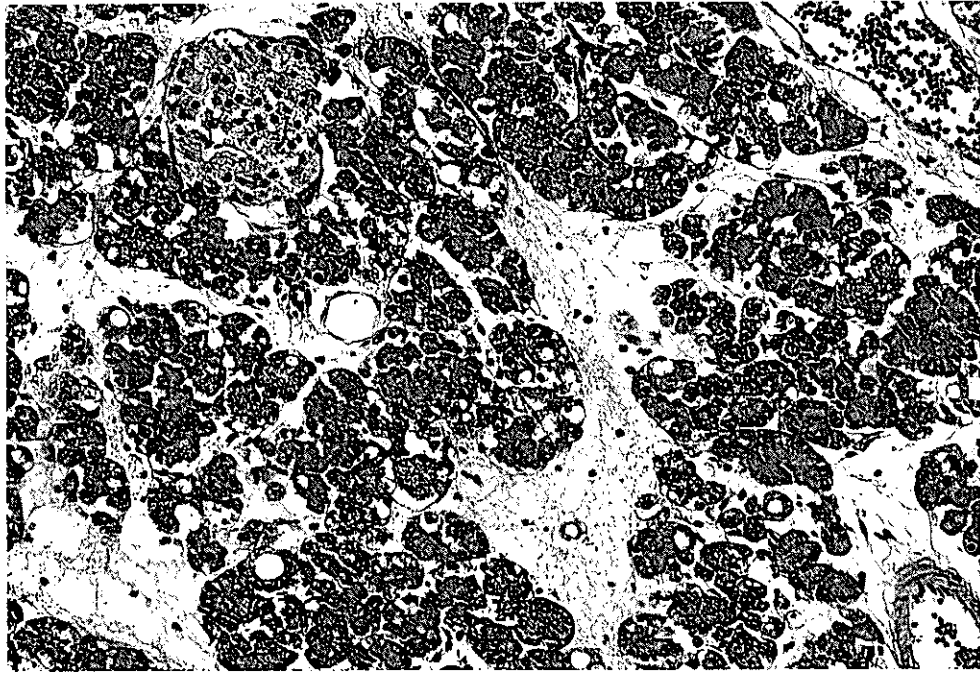


図 2

参 考 文 献

- 1) Sugita H, Yamaguchi Y, Ikei S, et al. Enhanced expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC) by bronchoalveolar macrophages in cerulein-induced pancreatitis rats. *Dig Dis Sci* 1997 ; 42 : 154-60.
- 2) 林 成之, 木下浩作, 徐 成夫, 他. SIRS 対策としての低体温療法. *救急医学* 1996 ; 20 : 1117-20.
- 3) Marion DW, Penrod LE, Lelsey SF, et al. Treatment of traumatic brain injury with moderate hypothermia. *N Engl J Med* 1997 ; 336 : 540.
- 4) Irving FE, Richard R, Roy GA, et al. Effect of hypothermia on experimental pancreatitis. *Arch Surg* 1961 ; 82 : 281-4.
- 5) Eichelter P. Influence of hypothermia on the course of experimental pancreatitis. *Arch Surg* 1967 ; 94 : 280-5.
- 6) Seaborn AR, Abraham GC. Hypothermia in the treatment of acute pancreatitis. report of two cases. *JAMA* 1967 ; 201 : 825-7.

重症急性膵炎における免疫機能解析と治療への応用

研究報告者 小 泉 勝

塩釜市立病院内科

共同研究者 下瀬川 徹 佐藤 晃彦

東北大学第三内科

要旨：急性膵炎患者の末梢血より単核球を分離し、lipopolysaccharide (LPS) 刺激に対する nuclear factor- κ B (NF- κ B) 活性応答を検討した。発症 2 週後の時点で活性応答が低下していた症例は、その後の経過中に敗血症を続発した。末梢単核球 NF- κ B 活性応答が、患者の免疫能を反映し、重症感染症続発の予知指標となる可能性が示唆された。

背景と目的

重症急性膵炎における重症感染症の続発は、生命予後を規定する大きな要因であるが未だ克服されていない。また、現状では、感染症続発のリスクを評価しうる指標も確立されていない。重症急性膵炎時には、末梢血中リンパ球数の減少や単核球のサイトカイン産生能低下が報告されており^{1,2)}、感染発症機序には、患者自身の感染防御能の低下も関与するものと推測される。

転写因子 NF- κ B は、多種刺激により活性化されると速やかに核内に移行し、特定の遺伝子プロモーターに結合することにより、様々な免疫応答を調節している³⁾。その応答は、迅速かつ鋭敏であり、細胞の刺激応答性を評価する有用な指標と考えられる。

我々は、実験モデルを用いた検討により、急性膵炎においても、NF- κ B 活性化が病態形成に関与する可能性を明らかにしている⁴⁻⁶⁾。今回、急性膵炎の臨床症例について、末梢血より得られた単核球の LPS 刺激に対する NF- κ B 活性応答を定量し、その後の経過との関連について検討した。

方 法

対象：1999. 3月から1999. 12月までに急性膵炎の診断にて当科に入院し、2週間以上の加療を行った9症例を対象とし、以下の検討を行った。発症2週の時点で重症感染症の合併が明らかなものは除外した。重症感染症は厚生省の急性膵炎重症度判定基準中に基づき、白血球増多を伴う38°C以上の発熱に血液培養陽性やエンドトキシンの証明、あるいは腹腔内膿瘍の認められるものと定義した。

性別：男性6例，女性3例

年齢：平均38.4才（27～61才）

入院時重症度（厚生省判定基準）：重症7例，中等症2例

成因：アルコール5例，胆石2例，不明2例

方法：

発症2週目に末梢血より採血し、特殊試験管（cell preparation tube；Becton Dickinson）を用いて

単核球(リンパ球+単球)を分離した。分離した単核球成分を均等二分し、既報の方法に従い⁴⁾、一方からは即座に核蛋白回収を行った(A)。他方は RPMI 培養液中にて 1 時間 LPS100ng/ml 濃度で刺激した後に核蛋白を回収した (B)。これらの核蛋白について NF- κ B 活性を Gel shift 法により定量し、活性比 (B/A) をもって応答性と評価した。

結 果

経過中 3 例が重症感染症を続発し、うち 2 例が死亡した。発症 2 週後の採血で、白血球数増多やリンパ球分画の低下を認めた症例に予後不良例が多かったが、必ずしも予後を反映するには至らなかった。単核球分画は予後と相関がなかった(表 1)。重症感染症を続発した 3 症例は、いずれも発症 2 週時点の NF- κ B 活性応答が低値を示した (表 1)。

3 例のうち、軽快例では、経過中 NF- κ B 応答性も改善増強した。一方、予後不良例では、低応答が遷延していた (図 1, 2)。

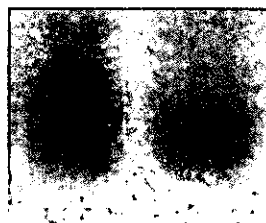
考 察

単球/マクロファージ系細胞は、細菌感染に対して重要な免疫応答の役割を担っている⁷⁾。急性肺炎患者から発症 2 週後に採取した末梢血単核球では、予後不良例において NF- κ B 活性応答が低下していた。末梢血単核球 NF- κ B 活性応答は、患者の免疫能を反映し、重症感染症続発や生命予後の予知指標となりうる可能性が示唆された。有意差検定およびカットオフ値設定のためには、さらに検討を重ねる必要がある。

表 1

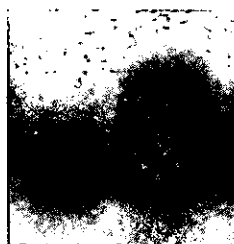
症例	性別	年齢	成因	入院時 重症度	発症2週後			NF- κ B 活性応答	重症感染症続発	転帰
					白血球数 (/ μ l)	リンパ球 (%)	単球 (%)			
1	F	61	胆石	重症	16,000	1	4	0.46	敗血症、感染性脾嚢胞	死亡
2	M	42	アルコール	重症	9,300	20	8	0.40	敗血症、MRSA肺炎	死亡
3	F	29	不明	重症	10,600	8	5	1.67	敗血症、MRSA胆嚢炎	軽快
4	M	39	不明	重症	9,400	17	10	3.30	なし	軽快
5	M	30	アルコール	重症	4,500	65	9	5.82	なし	軽快
6	F	37	アルコール	重症	3,700	27	13	7.15	なし	軽快
7	F	27	アルコール	重症	7,500	24	4	6.82	なし	軽快
8	M	50	アルコール	中等症	9,600	21	5	2.78	なし	軽快
9	M	31	胆石	中等症	4,700	24	9	2.94	なし	軽快

(a)



刺激 前 後

(b)



刺激 前 後

図1. LPS 刺激に対する NF- κ B 活性応答末梢血単核球の NF- κ B 活性を LPS 刺激 (100ng/ml, 1時間) 前後で比較した。

(a) 反応不良例; (表1. 症例3) (b) 反応良好例; (表1. 症例7)

症例 1	肺炎(3週)	感染性臍嚢胞(6週)	死亡(23週)
NF- κ B活性応答	0.46(2週) →	1.72(4週) →	2.55 (21週)
症例 2	MRSA肺炎(3週)	敗血症(3週)	死亡(7週)
NF- κ B活性応答	0.40(2週) →	1.30 (4週)	
症例 3	MRSA肺炎(3週)	胆嚢炎,敗血症(4週)	軽快退院(14週)
NF- κ B活性応答	1.67(2週) →	3.85 (4週) →	5.20(5週)

図2. 重症感染症を続発した3症例の経過と NF- κ B 活性応答の推移

参 考 文 献

- 1) Mariagrazia G, Jason JS, Michael JL. NF- κ B and Rel : Participants in multiform transcriptional regulatory system. *Int Rev Cytol* 1993 ; 143 : 1-62.
- 2) Curley PJ, et al. Reduction in circulating levels of CD4-positive lymphocytes in acute pancreatitis : relationship to endotoxin, interleukin 6 and disease severity. *Br J Surg* 1993 ; 80 : 1312-5.
- 3) Volk HD, Thieme M, Heym S, et al. Alterations in function and phenotype of monocytes from patients with septic disease-predictive value and new therapeutic strategies. *Behring Inst Mitt* 1991 ; 88 : 208-15.
- 4) Satoh A, Shimosegawa T, Fujita M, et al. Inhibition of nuclear factor-kappa B activation improves the survival of rats with taurocholate pancreatitis. *Gut* 1999 ; 44 : 253-8.
- 5) Satoh A, Shimosegawa T, Masamune A, et al. Ascitic fluid of experimental severe acute pancreatitis modulates the function of peritoneal macrophages. *Pancreas* 1999 ; 19 : 268-75.
- 6) Masamune A ; Shimosegawa T ; Kimura K A, et al. Specific induction of adhesion molecules in human vascular endothelial cells by rat experimental pancreatitis-associated ascitic fluids. *Pancreas* 1999 ; 18 : 141-50.
- 7) Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor : A pleiotropic cytokine and therapeutic target. *Ann Rev Med* 1994 ; 45 : 491-503.

重症急性膵炎におけるサイトカインの治療的意義

研究報告者 白鳥敬子

東京女子医科大学消化器内科

共同研究者 清水京子 神津知永 久田生子

林直諒

要旨： Interleukin (IL)-11 は造血系および免疫系に作用するサイトカインである。前回、我々はマウスセルレイン膵炎で IL-11 が膵組織中の tumor necrosis factor (TNF)- α の抑制を介して膵炎を改善することを報告した。本研究では、致死的な重症急性膵炎モデルであるコリン欠乏性エチオニン (CDE) 膵炎における IL-11 の効果について検討した。CD-1 雌性マウスに CDE 食を 3 日間連日投与し重症急性膵炎を作成した。CDE 食開始直後より IL-11 を 12 時間毎に 4 日間連日投与し 7 日間の生存率を比較した。また、血中膵酵素と組織学的変化についても検討した。IL-11 投与群では非投与群に比べて有意に生存率が改善した。血中膵酵素の上昇は IL-11 投与群で有意に抑制された。また、組織学的には CDE 食投与により膵臓の広汎な浮腫、壊死、炎症細胞浸潤が認められたが、IL-11 投与群ではこれらの変化が改善した。以上より、IL-11 は急性膵炎の重症化を阻止するのに有効な治療法であると考えられた。

はじめに

Interleukin (IL)-11 は巨核球の増殖、分化を刺激し、血小板増多作用のあるサイトカインである¹⁾。また、放射線肺臓炎²⁾、虚血性腸炎³⁾、感染症による腸粘膜障害⁴⁾、敗血症性ショックによる死亡率^{5,6)}などを改善する抗炎症作用があることが報告されている。前回、我々はマウスのセルレイン膵炎モデルを用いた実験で IL-11 投与により血清学的、組織学的に膵炎の重症化が抑制され、この機序として組織中の tumor necrosis factor- α の遺伝子発現を抑制が関与していることを報告した⁷⁾。本研究では、さらに致死的な重症壊死性膵炎モデルであるコリン欠乏性エチオニン (CDE) 膵炎を用いて、IL-11 の膵炎に対する有効性について検討した。

方 法

CD-1 雌性マウスを 12 時間絶食後、CDE 食を 3 日間投与し膵炎を作成した。CDE 食開始直後より IL-11 (10 μ g) を 12 時間毎に 4 日間連日皮下投与した。膵炎作成 7 日目までの生存率、血中膵酵素、膵組織学的変化について経時的に検討した。

結 果

膵炎作成後 7 日間の生存率は約 60% であったが、IL-11 投与群では約 90% 以上に増加した (Fig. 1)。血中アミラーゼ、リパーゼ濃度は膵炎作成 2 日目より上昇し、3 日目にピークとなり、以後低下した。

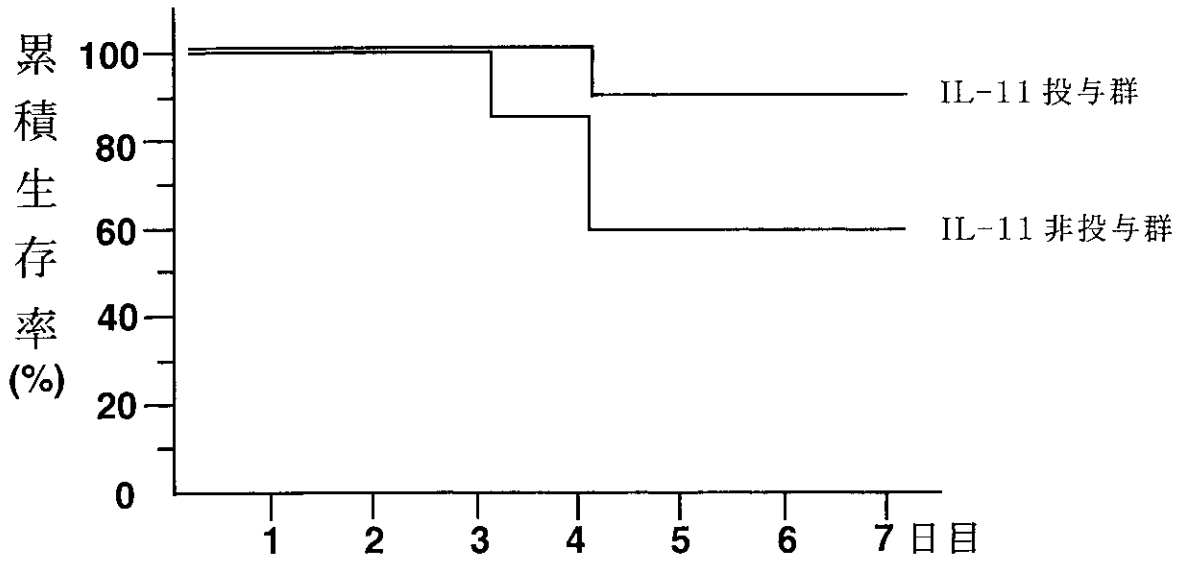


Fig. 1. IL-11 投与群と非投与群における生存率の推移

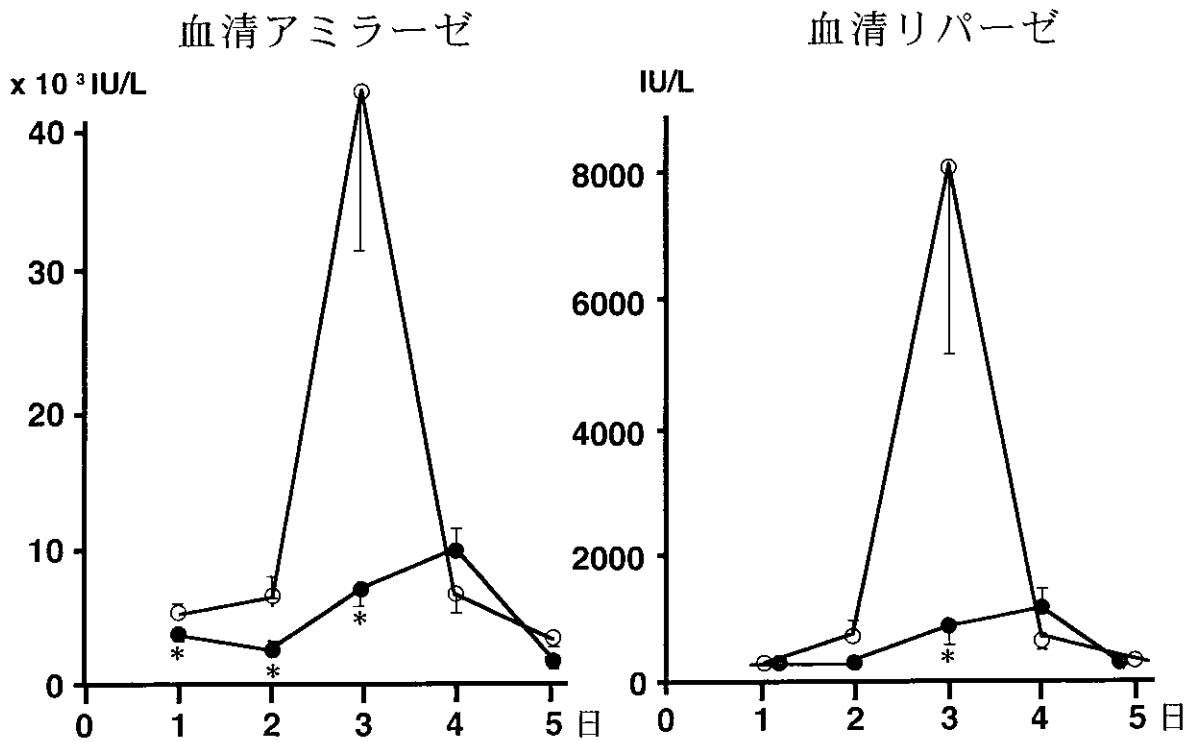


Fig. 2. 膵炎作成後5日目までの血中アミラーゼ, リパーゼ濃度の変化

○—○ : IL-11 非投与群
 ●—● : IL-11 投与群
 * : P < 0.05 vs IL-11 非投与群

IL-11 投与群では 2 日目と 3 日目の膵酵素の上昇を有意に抑制した (Fig. 2)。組織学的には 1 日目より膵の浮腫、炎症細胞浸潤、壊死が認められ、3 - 5 日目には広範囲にび漫性に浮腫、炎症細胞浸潤、壊死が進展した。IL-11 投与群では炎症細胞浸潤、壊死、浮腫が著明に改善した (Fig. 3)。

考 察

前回のマウスのセルレイン膵炎における検討で、IL-11 の前投与により血中膵酵素の上昇が抑制され、組織学的にも発症早期の膵浮腫、炎症細胞浸潤、出血が改善したことを報告した⁷⁾。また、IL-11 による膵炎の重症化の抑制の機序として、組織中の TNF- α の産生の低下が関与している可能性があると考えられた⁷⁾。今回の実験では、セルレイン膵炎よりさらに重症で致死的な膵炎モデルである CDE 膵炎を用いて、IL-11 の効果を検討したところ、前回と同様の IL-11 の投与量で血清学的、組織学的に膵炎の改善

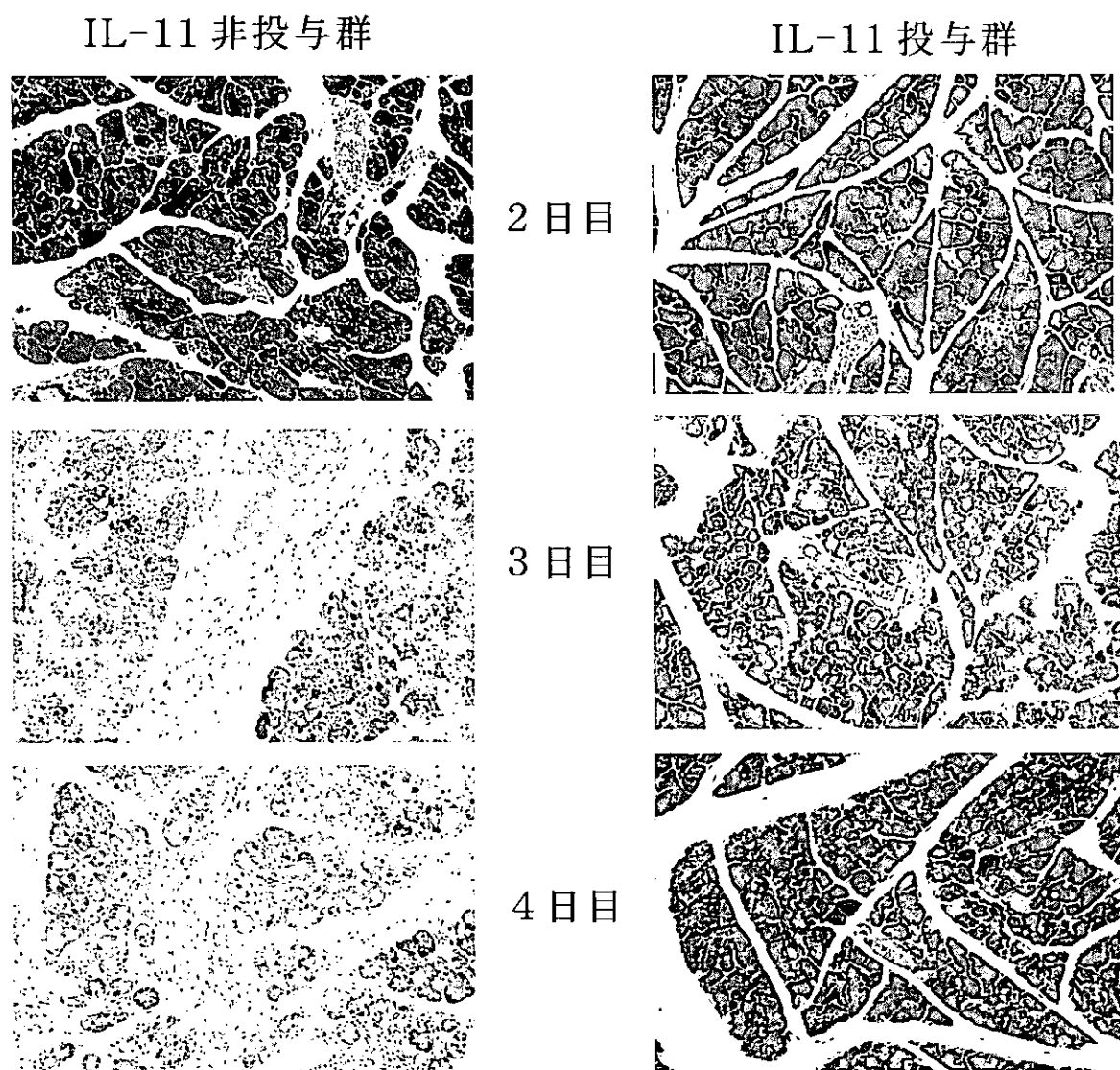


Fig. 3. IL-11 投与群と非投与群の膵組織像の比較

が認められ、生存率も有意の向上した。また、セルレイン肺炎における前投与実験では血清学的、組織学的に肺炎早期にのみ有効であったが、CDE肺炎で肺炎発症早期から1日2回12時間毎にIL-11を投与することにより生存率が増加したことから、IL-11は重症急性肺炎の救命率を向上させるのに有用な治療法であると考えられる。また、IL-11の投与により、虚血性腸炎³⁾や感染症による腸粘膜障害⁴⁾、敗血症性ショックやエンドトキシンショック⁵⁻⁶⁾対しても生存率を上昇させ、感染症による腸粘膜障害に対しても抗炎症作用があることが報告されている。以上より、IL-11は重症急性肺炎による多臓器不全やショックに対しても効果が期待できる。今後、IL-11が重症急性肺炎の致死率を改善させた機序について検討を続ける予定である。

参 考 文 献

- 1) Bruno E, Briddell R, Cooper R, Hoffman R. Effects of recombinant IL-11 on human megakaryocyte progenitor cells. *Exp Hematol* 1991; 19: 378-85.
- 2) Redlich CA, Gao X, Rockwell S, Kelley M, Elias JA. IL-11 enhances survival and decreases TNF production after radiation-induced thoracic injury. *J Immunol* 1996; 157: 1705-10.
- 3) Du XX, Liu Q, Yang Z, Orazi A, Rescorla Fj, Grosfeld JL, Williams DA. Protective effects of interleukin-11 in a murine model of ischemic bowel necrosis. *Am J Physiol* 1997; 272: G545-52.
- 4) Castagliuolo I, Kelly C, Qiu BS, Nikulasson ST, Lamont JT, Pothoulakis C. IL-11 inhibits *Clostridium difficile* toxin A enterotoxicity in rat ileum. *Am J Physiol* 1997; 273: G333-G41.
- 5) Barton BE, Shortall J, Jackson JV. Interleukin 6 and 11 protect mice from mortality in a staphylococcal enterotoxin-induced toxic shock model. *Infect Immun* 1996; 64: 714-8.
- 6) Misra BR, Ferranti TJ, Donnelly LH, Erickson JE, Schaub RG, Keith JC. Recombinant human interleukin-11 prevents hypotension in LPS-treated anesthetized rabbits. *J Endotoxin Res* 1996; 3: 297-305.
- 7) Shimizu K, Shiratori K, Sawada T, Kobayashi M, Hayashi N, Saotome H, Keith JC. Recombinant human interleukin-11 (IL-11) decreases severity of acute necrotizing pancreatitis in mice. *Pancreas* (in press).

膵障害における炎症性サイトカインの関与について

研究報告者 真 辺 忠 夫

名古屋市立大学第一外科

共同研究者 長谷川 正 光 竹 山 廣 光

要旨：重症急性膵炎患者の血液，ドレナージ液中の各種 mediator の経時推移を測定，及び急性膵炎後に生じた膵嚢胞内容液中の各種 mediator を測定した。重症急性膵炎患者では開腹，洗浄で急速に各種の mediator は低下したが，術後にはアミラーゼやトリプシン，PSTI が減少傾向にあるのに比して炎症性サイトカインは明らかな減少傾向を示さなかった。膵嚢胞液中では，炎症性サイトカインが極めて高いものや，通常100倍程度といわれるトリプシンと PSTI の比が遥かに高いものが存在しており，いわば炎症の準備状態であり，更に血球成分などにわずかな刺激が加わることにより，極めて容易に炎症を起こし，発作を繰り返していると考えられた。

はじめに

我々は，膵液に少量の血液が混和すると，膵液単独に比べてトリプシン基質の分解反応の活性化を示すこと，その反応は IL-6, IL-8 の存在下により亢進すること。薄いトリプシン溶液と血液を混和すると炎症性サイトカイン産生されることを報告した。すなわち，自然の状態では PSTI による抑制を受けないトリプシンは血球成分と反応することによりサイトカインを産生させる。一方でサイトカイン存在下では血球成分が刺激されより多くのトリプシノーゲンを活性化してトリプシンが産生される。そしてこの2つの反応が連鎖的に続く事により炎症が持続したり，時には亢進に関与していることが考えられる。

そこで今回は膵障害とサイトカインの関連を探るために以下の観察を行った。

- A) 重症急性膵炎患者の血液，ドレナージ液中の各種 mediator の経時推移を測定する。
- B) 急性膵炎後に生じた，膵仮性嚢胞内容液中の各種 mediator を測定する。

測定方法

膵液，嚢胞液，血液は3000rpm，5分間遠心分離した上清を測定まで -78°C にて保存し検体とした。IL-6, IL-8 は東レ社製キットを用い ELISA 法にて測定した。トリプシン，PSTI は RIA 法，アミラーゼは吸光度法にて測定した。

症 例

- A) 重症急性膵炎患者

症例 A-1 54歳男性

3月2日 上腹部痛にて発症。急性膵炎の診断で近くの総合病院に入院治療開始。

- 3月3日 乏尿，意識障害出現。
 3月4日 02：00当院 ICU へ転院。
 3月4日 13：35ドレナージ術施行。
 26日間 ICU 管理の後一般病棟へ。
 5月28日 大腸穿孔，腹腔内膿瘍に対しドレナージ術施行。
 7月6日 腹腔内出血に対し開腹止血術施行。
 7月10日 死亡退院。

この症例の術前状態を示す（図1）。臨床徴候2項目，血液検査丸1が1項目，丸2が6項目陽性で，画像所見はCTグレードは4ないし5の典型的な重症例であった。

血中及びドレナージ液中の IL-6，IL-8 の変化を示す（図2）。

B) 膝仮性嚢胞患者

症例B-1 66歳男性

1997年6月11日 膝体尾部切除（mucinous cystadenoma）。

10月14日 左上腹部に induration 触知。

12月11日 左上腹部痛出現。

12月12日 腹部CTにて cystic lesion を指摘され，16日疼痛増強，腫瘍増大にて緊急入院となった。

A 臨床徴候 ① ショック症状 (+)，
 ① 神経症状 (+)

B 血液検査 ① BUN 57 mg/dl

② Ca 3.4 mg/dl

② FBS 603 mg/dl

② PaO₂ ≤ 60mmHg

② LDH 1307 U/l

② T.P. 5.0mg/dl

② PT 65.7%

C 画像所見

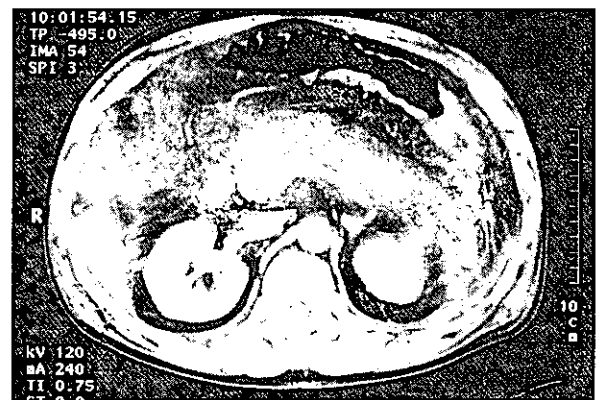
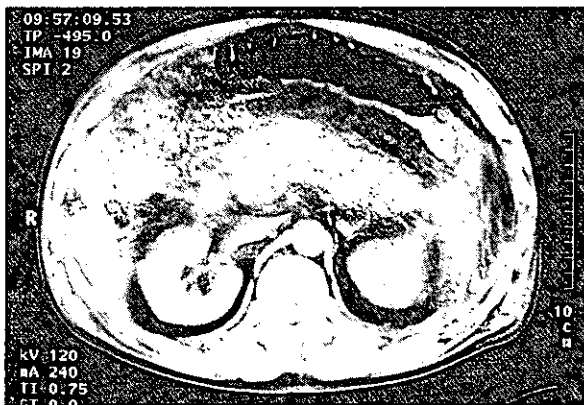


図1. 術前状態（症例A-1）

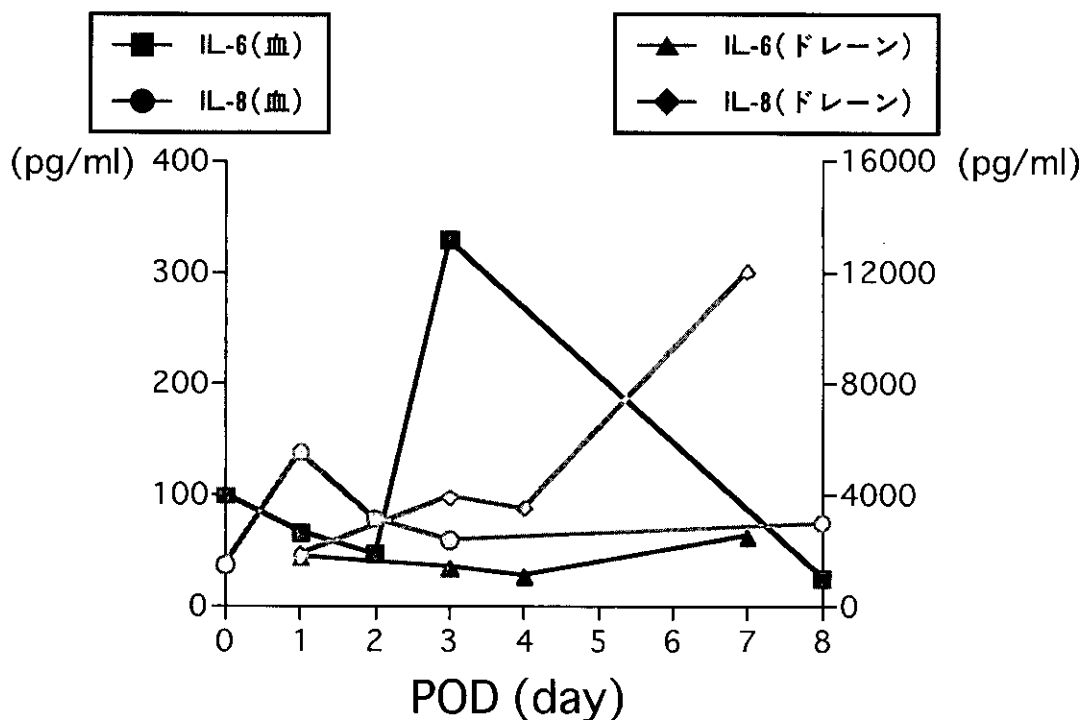


図2. 血中及びドレーン液中のサイトカインの変化 (症例A-1)

初回穿刺時の上部消化管造影を示す(図3)。穿刺前の血中サイトカインはIL-6は0, IL-8は3, IL-1 β は0, TNF- α は13.1であり, 翌日の血中サイトカインはIL-6は0, IL-8は6, IL-1 β は0, TNF- α は12.7であって, 低値で変動はみられない。一方穿刺液中のサイトカインはIL-6は466, IL-8は1920, IL-1 β は83.2, TNF- α は29.6と高値を示していた。この症例では翌月再度穿刺を必要としたが, その時もIL-6は420, IL-8は3860と高値を示しIL-1 β は測定限界以下となったが, TNF- α は29.2と同程度の値を示した。

症例B-2 21歳男性

1997年8月16日 強度の上腹部痛, 背部痛, 全身倦怠感出現。

8月19日 急性膵炎の診断にて他院入院, 保存的治療にて症状軽快するも, 胃後面～膵周囲～左下腹部にかけての巨大膵仮性嚢胞遺残がみられた, 11月1日退院。

11月19日 膵炎再発, 他院入院。

12月1日 退院。

1998年1月5日 再度発作あり。

1月27日 膵仮性嚢胞の診断にて入院。

2月4日 膵嚢胞空腸吻合術, 25日退院。

入院時のMRIを示す(図4)。先に示した範囲, 前腎傍腔からダグラスまで続く異常所見が認められる。術前の血液中サイトカインはIL-6は2.67, IL-8は60.6, IL-1 β は0, TNF- α は38.9であり, 手術時に採取した嚢胞液中のサイトカインはIL-6は9.3, IL-8は701, IL-1 β は46.4, TNF- α は63.3であった。

症例B-3 33歳男性

ビール10本の飲酒歴があり、アルコール性急性膵炎後に膵仮性嚢胞発症、腹痛背部痛のため入院手術となった。

入院時のCTを示す(図5)。3ヶ所にシストを認める。膵空腸端側吻合術(DuVal変法)施行。IL-6、IL-8はそれぞれ200、6300と280、2200と3600、1600であった。

症例B-4 52歳男性

ビール2本の飲酒歴があり、アルコール性膵炎、膵石症に加え膵仮性嚢胞による腹痛背部痛のため入院手術となった。

入院時のCTを示す(図6)。尾部頭側にシストを認める。膵空腸端側吻合術(DuVal変法)施行。IL-6、IL-8はそれぞれ0、23であった。

症例B-5 54歳男性

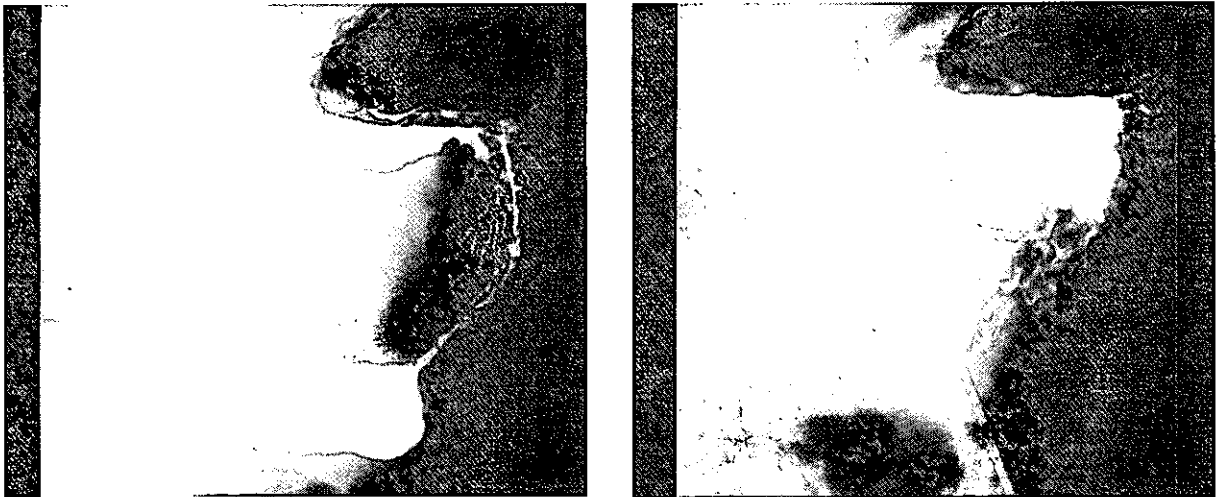


図3. 初回穿刺時上部消化管造影(症例B-1)



図4. 入院時MRI(症例B-2)

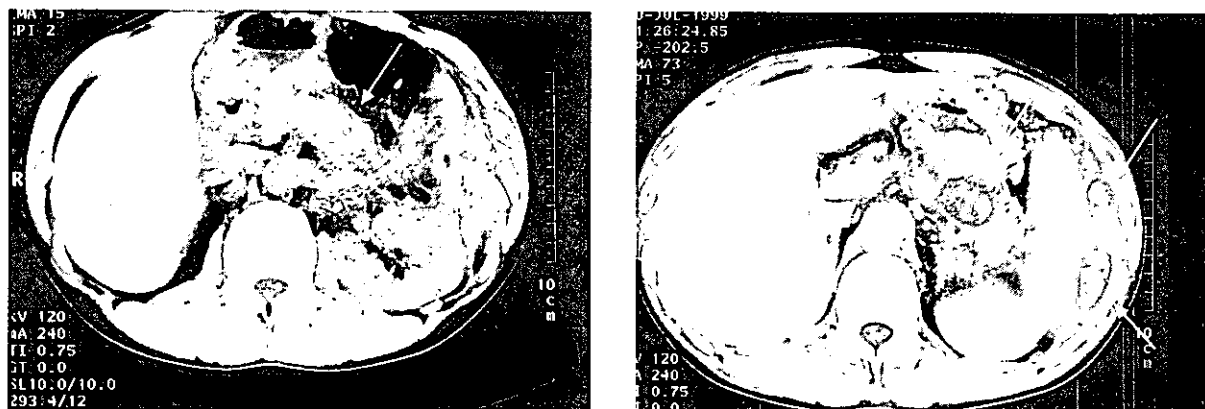


図 5 . 入院時 CT (症例 B - 3)



図 6 . 入院時 CT (症例 B - 4)

ビール 2 本の飲酒歴があり、胃潰瘍で入院しクリッピング施行。CT で臍頭部に腫瘤を指摘されていた。黄疸が出現、同部に 5 cm の腫瘤を認め入院手術となった。

入院時の所見を示す (図 7)。他の画像診断でも同部に 5 cm の腫瘤を認める。嚢胞胃吻合施行。IL-6、IL-8 はそれぞれ 38、1600 であった。

結 果

サイトカイン (IL-6、IL-8) 測定値に加えトリプシン、PSTI、アミラーゼの測定結果を示す (表 1)。

考 察

良好な経過を辿った PD 術後患者 7 人の術後 7 日目の腹水中トリプシンは 500、PSTI は 200、アミラーゼは 120 前後であり、この 5 症例ではどの症例においても非常に高値であり、嚢胞が臍に関係したものであることが示唆される。炎症性サイトカインについても、臍液と血液の混和によるトリプシン基質の分