

作製6週以後、経過とともに膠原線維は減少し、膵腺房細胞の脂肪置換が進行する<sup>5)</sup>。一方、WBN/Kobラット<sup>7)</sup> およびOLETEラットでは膵の線維化が持続する。TGF- $\beta$  1はマウス遊離膵腺房細胞の増殖を抑制するし<sup>9)</sup>、TGF- $\beta$  1を膵に過剰発現させたトランスジェニックマウスの膵腺房は脂肪置換することが報告されている<sup>10)</sup>。オレイン酸膵管内注入膵炎モデルラットの膵では膠原線維が認められる膵炎作製2週後からTGF- $\beta$  1 mRNAの発現が認められ、膠原線維が減少し、膵腺房細胞の脂肪置換が進行する12週齢までTGF- $\beta$  1 mRNAの過剰発現が持続する<sup>5)</sup>。一方、WBN/Kobラット<sup>7)</sup> およびOLETFラットの膵ではTGF- $\beta$  1 mRNAの発現が一過性であったことから、TGF- $\beta$  1は細胞外基質の産生を刺激することで膵線維化を惹起するが、線維化が生じた後もTGF- $\beta$  1の発現が持続すると膵腺房細胞の再生を抑制し、膵実質の脂肪置換や脱落を惹起する可能性が示唆された。

### 参 考 文 献

- 1) Van Laethem JL, Deviere J, Resibois A, Rickaert F, Vertongen P, Ohtani H, Cremer M, Miyazono K, Robberecht P. Localization of transforming growth factor  $\beta$  1 and its latent binding protein in human chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1995; 108: 1873-81.
- 2) Slater SD, Williamson RC, Foster CS. Expression of transforming growth factor  $\beta$  1 in chronic pancreatitis. *Digestion* 1995; 56: 237-41.
- 3) Gress TM, Müller-Pillasch F, Lerch MM, Friess H, Büchler M, Berger HG, Adler G. Balance of expression of genes coding for extracellular matrix proteins and extracellular matrix degrading proteases in chronic pancreatitis. *Z Gastroenterol* 1994; 32: 221-5.
- 4) Kennedy RH, Bockman DE, Uscanga I, Choux R, Grimaud JA, Sarles H. Pancreatic extracellular matrix alterations in chronic pancreatitis. *Pancreas* 1987; 2: 61-72.
- 5) Tashiro M, Kihara Y, Nakamura T, Yamaguchi T, Yoshikawa Y, Ogami Y, Otsuki M. Serial changes of TGF- $\beta$  1 and extracellular matrix mRNA in oleic acid-induced pancreatitis in rats. *Int J Pancreatol* 1998; 23: 276.
- 6) Sparmann G, Merkord J, Jaschke A, Nizze H, Jonas L, Lohr M, Liebe S, Emmrich J. Pancreatic fibrosis in experimental pancreatitis induced by dibutyltin dichloride. *Gastroenterology* 1997; 112: 1664-72.
- 7) Su SB, Motoo Y, Xie MJ, Miyazono K, Sawabu N. Expression of transforming growth factor-beta in spontaneous chronic pancreatitis in the WBN/Kob rat. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 151-9.
- 8) Van Laethem JL, Robberecht P, Resibois A, Deviere J. Transforming growth factor  $\beta$  promotes development of fibrosis after repeated courses of acute pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 1996; 110: 576-82.
- 9) Logsdon CD, Keyes L, Beauchamp RD. Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$  1) inhibits pancreatic acinar cell growth. *Am J Physiol* 1992; 262: G364-8.
- 10) Sanvito F, Nichols A, Herrera PL, Huarte J, Wohlwend A, Vassalli JD, Orci L. TGF- $\beta$  1 overexpression in murine pancreas induces chronic pancreatitis and, together with TNF- $\alpha$ , triggers insulin-dependent diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 217: 1279-86.

## アルコール性慢性膵炎における QT dispersion のコンピュータ解析

研究報告者 加 嶋 敬

京都府立医科大学第3内科

共同研究者 阪 上 順 一 片 岡 慶 正 白 井 憲 子  
十 亀 義 生 光 吉 蘭 子 井 本 雅 美

**要旨：**アルコール性慢性膵炎患者は年率死亡率が高く、短命であることが知られており<sup>1)</sup>、その死因として膵炎自体は意外と少ないことも注視に値する。他方、アルコール常飲者では慢性膵炎を併存するものに死亡率が高く<sup>2)</sup>、アルコール依存症では突然死が有意に多いことも報告されている。今回、近年注目されている心電図を用いた心臓突然死の予測法としてのQT dispersion (QTD) 解析を新規に開発されたコンピュータ解析ソフトを用いて検討した。その結果、アルコール性慢性膵炎、アルコール依存症で有意なQTD, QTcDの延長を認めた。アルコール性慢性膵炎、アルコール依存症ではQT intervalにあたえるRR intervalの影響が等しく低下しており、自律神経系のQT intervalへの影響が低下していることが想定された。アルコール性関連疾患に突然死が多いことは、元来低血糖による死亡が多いのではないかと想定されてきたが、その報告はあまりに少ない<sup>3)</sup>。今回の報告ではアルコール性膵炎はアルコール依存症同様、心臓突然死のリスクとなる可能性を示唆するものであり、今後の疫学的研究の蓄積が待たれる。

### 目 的

近年、体表心電図を用いた突然死の予測として、QTDの測定が注目されてきた。今回、アルコール性慢性膵炎が突然死のリスクになるかに着眼し、アルコール性慢性膵炎のQTDの解析を行い、健常人、アルコール依存症と比較検討することを目的とした。

### 対 象 と 方 法

AP群 (アルコール性慢性膵炎群60.5±9.63歳, M/F; 12/2), AD群 (アルコール依存症群59.4±9.01歳, M/F; 32/4), NC群 (健常人コントロール群59.2±11.79歳, M/F; 50/6) の3群に対し、最大 (Max)・最小 (Min) の activation time (AT), activation recovery interval (ARI), recovery time (RT), QT interval, QTc interval並びにそれらの dispersion を計測した。データは Transforming Application Software Version 1.00で personal computer に入力し、QT Detection Software Version 1.00で自動解析した。

## 成 績

QTD, QTcD は AP 群 ( $55.71 \pm 13.72\text{ms}$ ,  $59.86 \pm 12.23\text{ms}$ )・AD 群 ( $56.83 \pm 17.92\text{ms}$ ,  $63.92 \pm 22.26\text{ms}$ ) において NC 群 ( $40.91 \pm 13.35\text{ms}$ ,  $42.47 \pm 13.42\text{ms}$ ) に比し有意な延長を示した (それぞれ  $P < 0.001$ ) (図 1, 2)。AT, ARI, RT 並びにその dispersion に関しては 3 群間に有意な変動はみられなかった (図 3 - 5)。Least squares method による RR - QT 一次相関では, AD 群 :  $y = 99.98X + 306.5$ ,  $r = 0.646$ ,  $P < 0.001$ , AP 群 :  $y = 98.2X + 297.6$ ,  $r = 0.664$ ,  $P < 0.001$ , NC 群 :  $y = 146.3X + 265.3$ ,  $r = 0.765$ ,  $P < 0.001$  であり, AD 群・AP 群において, regression inclination の有意な低値 ( $P < 0.05$ ) と regression coefficient の低値を認めた (図 6)。

## 結 論

アルコール性慢性膵炎, アルコール依存症で有意な QTD, QTcD の延長を認めた。この一因として, 自律神経系の QT interval への影響が低下していることが想定された。アルコール性膵炎はアルコール依存症同様, 突然死のリスクとなる可能性が危惧され, 今後の疫学的研究の蓄積が待たれる。

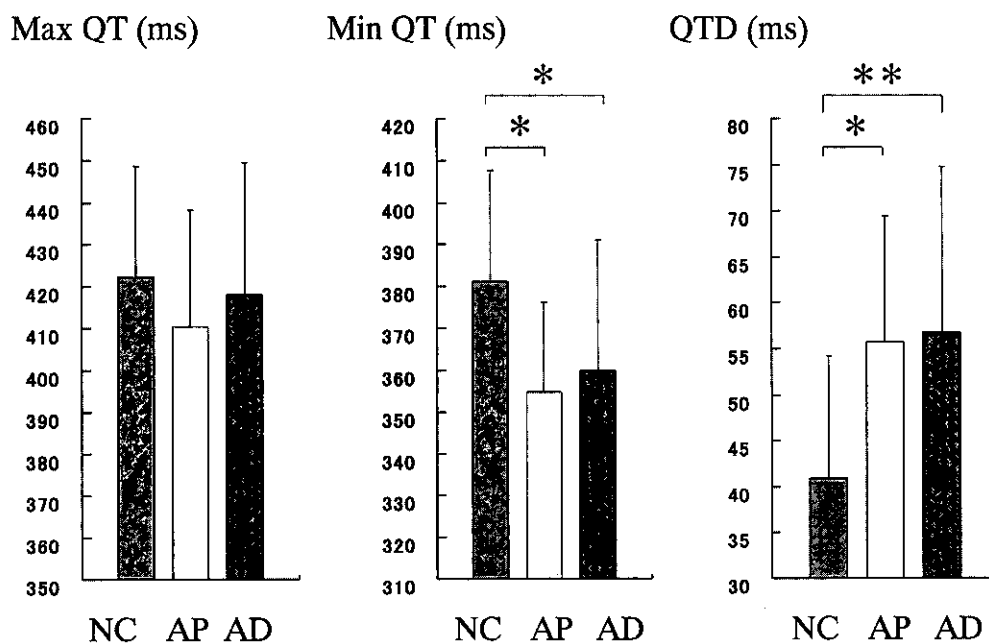


図 1. QT interval と QT dispersion \*  $P < 0.01$ , \*\*  $P < 0.001$

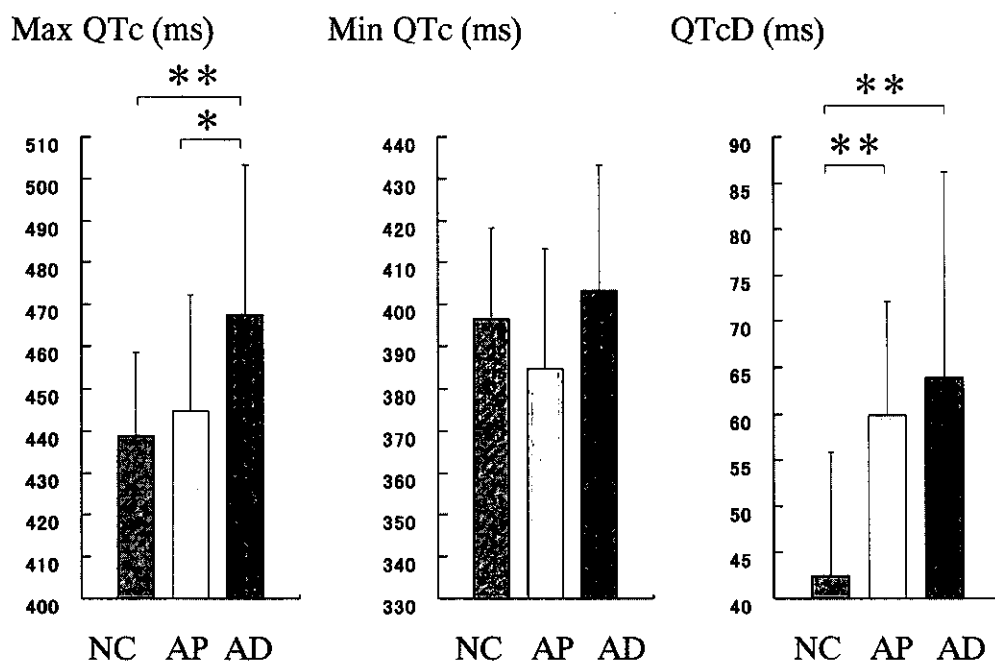


図 2. QTc interval と QTc dispersion \* P < 0.05, \*\* P < 0.001

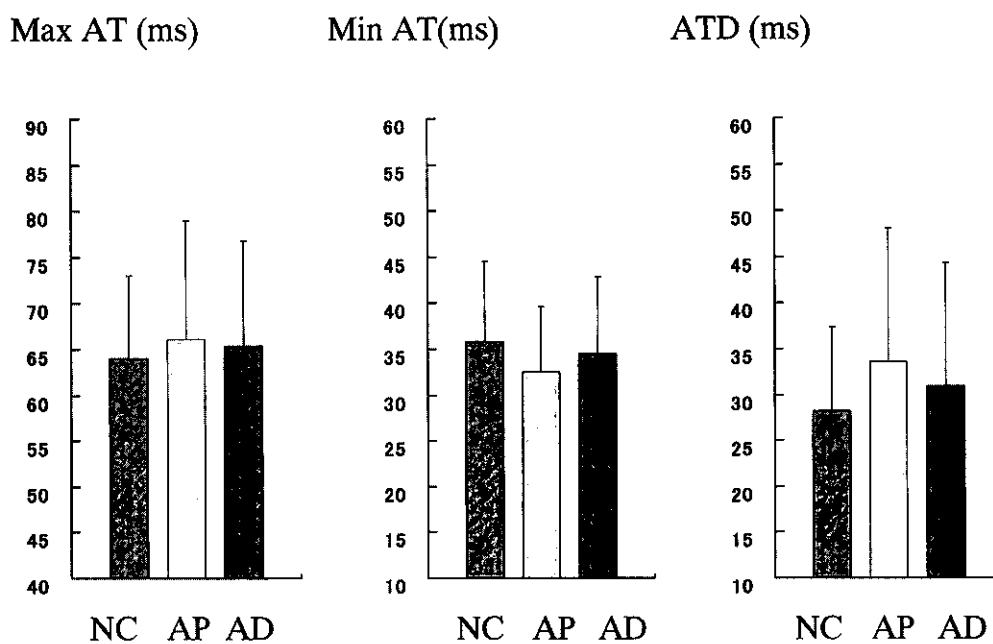


図 3. AT interval と AT dispersion

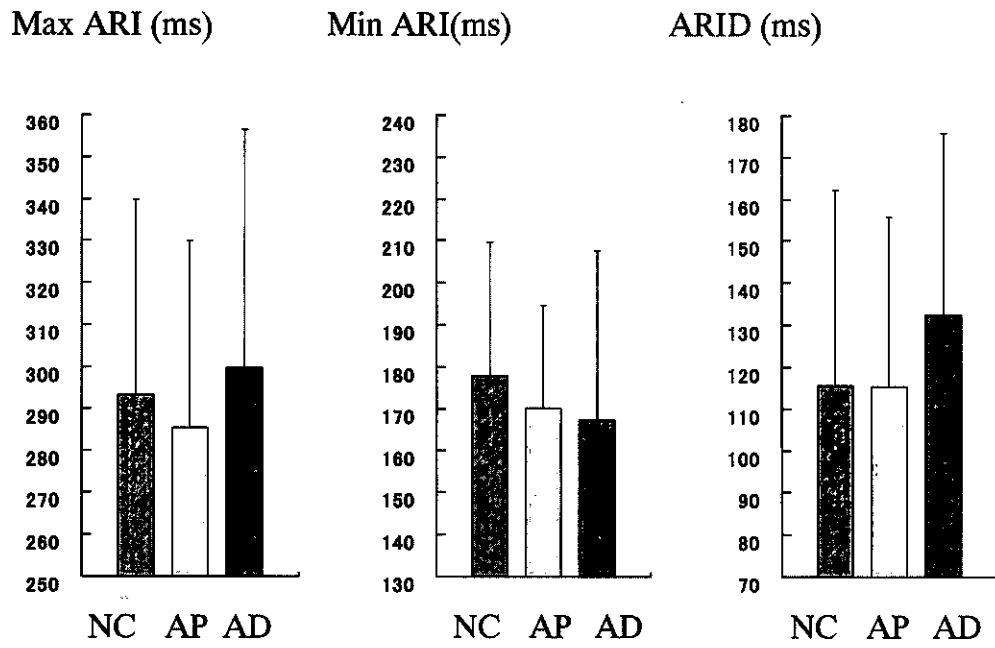


図 4. ARI interval と ARI dispersion

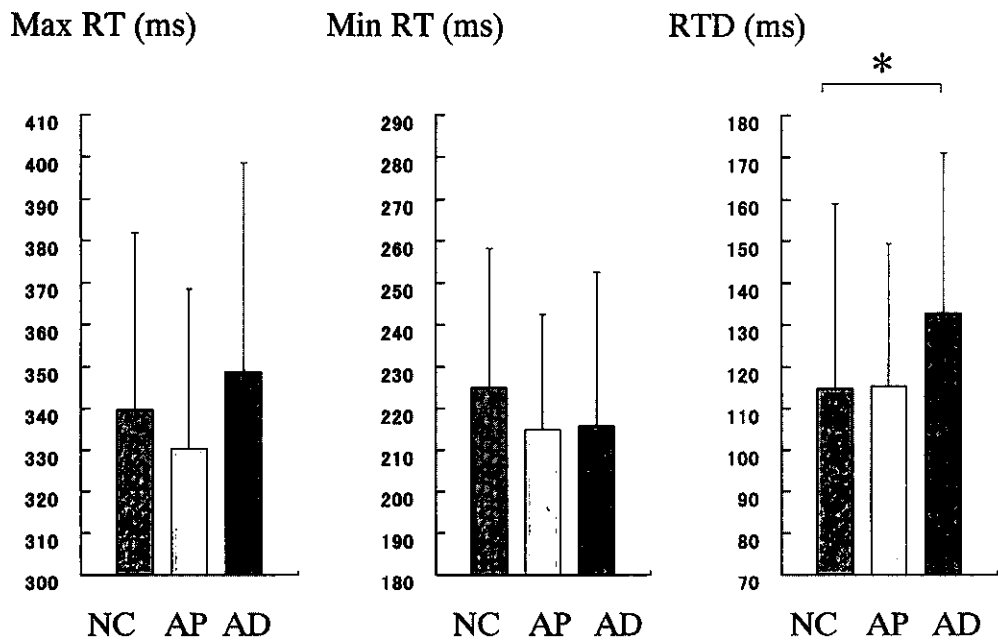


図 5. RT interval と RT dispersion

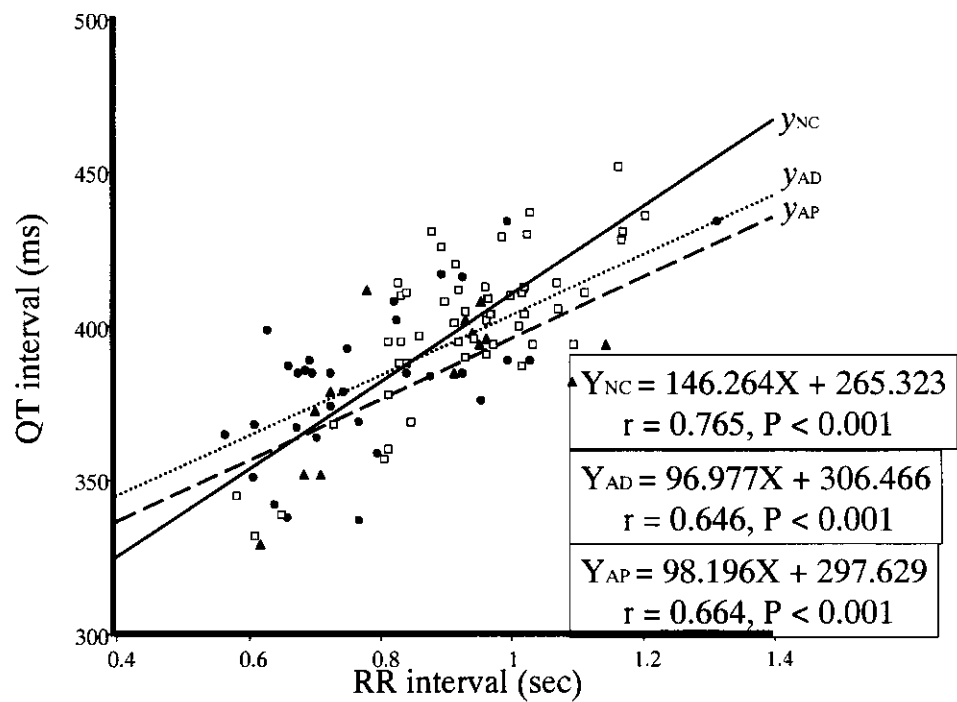


図 6. RR interval と QT interval の一次相関

#### 参考文献

- 1) Worning H. Chronic pancreatitis pathogenesis, natural history and conservative treatment. Clin Gastroenterol 1984 ; 13 : 871-94.
- 2) Feuerlein W, Kufner H, Flohrschutz T. The mortality rate of alcoholic patients 4 years after inpatient treatment. Versicherungsmedizin 1995 ; 47 : 10-4.
- 3) Denmark LN. The investigation of beta-hydroxybutyrate as a marker for sudden death due to hypoglycemia in alcoholics. Forensic Sci Int 1993 ; 62 : 225-32.

## 慢性膵炎に対するインターベンショナル治療

研究報告者 税 所 宏 光

千葉大学第一内科

共同研究者 石 原 武 山 口 武 人

**要旨：**有症状の慢性膵炎に対して、体外衝撃波結石破碎療法（以下 ESWL）、内視鏡治療の適応基準を確立することを目的として、当科における治療成績を検討した。ESWL、内視鏡治療を施行した慢性膵炎患者80例（男性71例，女性9例，平均年齢46.6歳）を対象とした。80例中73例（91.3%）は主膵管内に膵石を認めた。このうち63例に対して ESWL を施行した。ESWL は平均6.2回施行し，ESWL 単独で破碎片の排出が認められたのは49.2%（31/63）であった。内視鏡治療を追加することにより77.8%（49/63）で膵石の完全排石が得られた。

主膵管狭窄に対する狭窄解除は膵石症例の33例，非膵石症例の7例の計40例に対し施行した。バルーン拡張術，一時的なステント留置では慢性膵炎の進行に伴い再狭窄する例が多いため，可能な限りステントを留置継続することが必要と考えられた。

### 目 的

有症状の慢性膵炎に対して，体外衝撃波結石破碎療法（以下 ESWL），内視鏡治療の適応基準を確立することを目的として，当科における治療成績を retrospective に検討した。

### 対 象

当科において ESWL，内視鏡治療を施行した有症状の慢性膵炎患者80例（男性71例，女性9例，平均年齢46.6歳）を対象とした。成因はアルコール性55例，特発性19例，副甲状腺機能亢進症3例，その他3例である。

### 方 法

全例，急性炎症が消退するまでは絶食，安静とし，補液，蛋白分解酵素阻害剤，鎮痛剤の投与を適宜行い，保存的に加療した。その後，膵管造影（ERP）を施行した。

膵管像から膵石透亮像の有無，主膵管狭窄の有無の判定を行った。主膵管内に膵石を認めた症例には，ESWL，内視鏡治療を施行した。尾側の膵管拡張を伴う主膵管狭窄に対しては，内視鏡的に狭窄解除を施行した。

## 1) ESWL

ESWL 装置はピエゾ効果方式の EDAP 社製 LT-1, LT-2 を使用した。膀胱に対するフォーカシングは超音波映像下もしくは X 線透視下に行い、破砕片が 3 mm 以下になるのを目標に碎石を施行した。衝撃波に伴う疼痛対策として適宜、鎮痛剤 (diclofenac sodium 25 or 50mg, pentazocine 15mg), 鎮静剤 (hydroxyzine 25mg, diazepam 5 or 10mg) を投与した。

## 2) 内視鏡治療

膀胱に対する内視鏡治療としては、主膀胱管内の膀胱石を直接把持して排石するバスケット採石術、および膀胱への内視鏡処置具の挿入をスムーズに施行する目的で膀胱口切開を施行した。内視鏡治療の対象は、膀胱像にて膀胱石が主膀胱内にあり、バスケット鉗子で把持できる膀胱石症例である。膀胱石が主膀胱内に嵌頓し、尾側膀胱管が造影されない症例や、膀胱石の大部分が分枝膀胱管内に位置し、一部が主膀胱内に露出している症例は内視鏡治療の適応から外された。一方、膀胱石の乳頭側に主膀胱管狭窄が認められる症例であっても、後述するバルーン拡張術により狭窄解除を施行した後にバスケット採石術を施行した。

主膀胱管狭窄に対する内視鏡治療としては、バルーンカテーテル (Olbert balloon catheter : balloon 径 8 mm, balloon 長 2 cm) によるバルーン拡張術、および経鼻膀胱管ドレナージチューブ (ハナコ社製 : 外径 6 Fr, 7.2Fr) 留置術、プラスチックステント (Boston scientific 社製 : Solopass stent 10Fr., Olympus 社製 : Tilde stent 10Fr.) 留置術を施行した。このうち経鼻膀胱管ドレナージチューブは、主膀胱管狭窄が高度であり一期的に膀胱管ステント留置が困難な症例に対し、ブジー効果を期待して短期間留置する目的と、ESWL と併用して狭窄より尾側の破砕片の流出を促す目的に用いられた。狭窄解除以外にも、ESWL のフォーカシングの際に X 線非陽性膀胱石に対してチューブ造影により膀胱石の位置を知る目的にも施行された。

## 結 果

80 例中 73 例 (91.3%) に主膀胱管内の膀胱石を認めた。膀胱管内に膀胱石を認めなかった 7 例 (8.7%) は全例、頭部主膀胱管に狭窄があり、尾側膀胱管の拡張像を呈していた。一方、膀胱石症 73 例のうち 47 例 (64.4%) にも主膀胱管狭窄が併存していた。

73 例の膀胱石症例のうち 63 例に対して ESWL を施行した。ESWL にて膀胱石の照準合わせができない 10 症例に対しては内視鏡治療を選択した。ESWL は平均 6.2 回施行し、膀胱石の破砕は 71.4% (45/63) で良好に認められた。ESWL 単独で破砕片の自然排出が認められたのは 49.2% (31/63) であり、32 例は排石が不完全であった。ESWL にて排石が不完全であった症例、および排石が認められても症状が持続する症例 (計 36 例) に対し内視鏡治療を追加した。内視鏡治療の内訳は、バスケット採石 36 例、膀胱管口切開 16 例、経鼻膀胱管ドレナージチューブ留置 26 例、バルーン拡張 5 例、膀胱管ステント留置 14 例であった。内視鏡治療を追加することにより 36 例中 24 例 (66.7%) で膀胱石の完全排石が得られた。

内視鏡単独治療となった 10 例の治療内容の内訳は、バスケット採石 10 例、膀胱管口切開 9 例、経鼻膀胱管ドレナージチューブ留置 10 例、バルーン拡張 5 例、膀胱管ステント留置 7 例であった。膀胱石の完全排石は 4 例 (40%) で可能であり、疼痛症状の改善は 8 例 (80%) に認められた (表 1)。

主膀胱管狭窄に対する狭窄解除は膀胱石症の 33 例、非膀胱石症の 7 例の計 40 例に対し施行した。内訳は、経鼻膀胱管ドレナージチューブ留置 40 例、バルーン拡張 15 例、膀胱管ステント留置 28 例であった。



表1. 膵石の治療成績

	排石		疼痛改善	
	完全	不完全	あり	なし
ESWL 単独 n=63	31(49.2%)	32(50.8%)	27(42.9%)	36(57.1%)
ESWL 内視鏡治療併用 n=36	24(66.7%)	12(33.3%)	33(91.7%)	3(8.3%)
内視鏡治療単独 n=10	4(40.0%)	6(60.0%)	8(80.0%)	2(20.0%)

非膵石症例5例の主膵管狭窄に対しバルーン拡張術の効果を検討したが、平均87.3日にて再狭窄による症状再燃が全例で認められた。膵管ステントも3ヶ月以内に抜去した場合、平均1130日で12症例中9例(75%)に再狭窄による症状再燃が認められた。一方、膵液うっ滞兆候に留意しつつ膵管ステントを留置し続けた16例では、症状再燃は2例(12.5%)に認められたのみであった。

## 考 察

膵石治療に対しては、本邦ではESWLを治療の第一選択と位置付ける報告が多い<sup>1)</sup>。当科においても有症状の膵石症患者にはESWLを優先し、排石不良例に対し内視鏡治療を追加している<sup>2)</sup>。ESWLによる膵石の破碎効果は76~100%と良好な成績が報告されている。膵液通過障害の原因が膵石のみによる場合、ESWL単独でも膵石の消失、症状の軽減が期待できる。しかしながら膵石よりも乳頭側に主膵管狭窄が存在する場合、破碎片の排出が不良となることが多く、報告でもESWL単独での自然排石率は38~75%程度である。

主膵管内の遺残膵石に対しては内視鏡的処置を追加することにより対応している。内視鏡治療の利点としては、狭窄解除が講じられること、治療期間を短くすることができる点が挙げられる。膵石症の膵管は狭窄や屈曲を伴うことが多く、バスケット鉗子を膵石部位まで挿入できなかつたり、膵石を逆に尾側に押し込んでしまう結果になったり、現時点における膵石の内視鏡単独治療は必ずしも良好な成績が得られていない。しかしながら、バルーン拡張術を併用することにより狭窄を伴う膵石症例に対してもバスケット嵌頓を回避しながら採石が可能となっており、内視鏡処置具の進歩とともに内視鏡治療の成績も向上することが期待される。

狭窄解除に関しては、バルーン拡張術、一時的なステント留置では慢性膵炎の進行に伴い再狭窄する例が多いため、可能な限りステントを留置継続することが必要と考えられる。ステントの問題点としては、閉塞、感染、逸脱、迷入などがあるが、自験例ではいずれも保存的に軽快し、重篤なものはみられていない。ステント内腔は留置後比較的早期に閉塞することが指摘されているが、経験上、ステントが閉塞しても直ちに膵管閉塞症状(膵液うっ滞、症状再燃)を起こすとは限らず、これはステントと膵管壁の間隙を膵液が流れることによりドレナージ効果が持続するものと考えられる。ステント留置患者では、月1回の外来通院時に腹部症状、血液検査、腹部超音波検査によりステント閉塞兆候を常にチェッ

クシ、閉塞所見が認められた場合にはステント交換を行うことにより長期間のステント留置が可能であった。

## ま と め

有症状の慢性膵炎に対する現時点における治療方針のシェーマを示す（図1）。食事制限，補液，蛋白分解酵素阻害剤により加療を開始し，急性炎症が消退した時点にて膵管造影を施行する。適宜，腔内超音波検査（IDUS）を併用し主膵管内の膵石の有無を判別する。主膵管内に膵石を認めた場合，ESWLを第一選択とする。平均6回の治療により破碎片の有無を検討し，排石が不十分な場合，内視鏡治療を追加する。膵管内に膵石を認めない場合，主膵管狭窄があれば内視鏡的に狭窄解除を試みる。内視鏡治療としては膵石除去目的に，バルーン拡張術，バスケット採石術を施行し，主膵管狭窄が併存する場合，経鼻膵管ドレナージチューブ留置，膵管ステントによる狭窄解除を試みる。治療が奏効した場合も慢性膵炎の進行による症状再燃を予防するため禁酒を徹底させ，経過観察を行う。

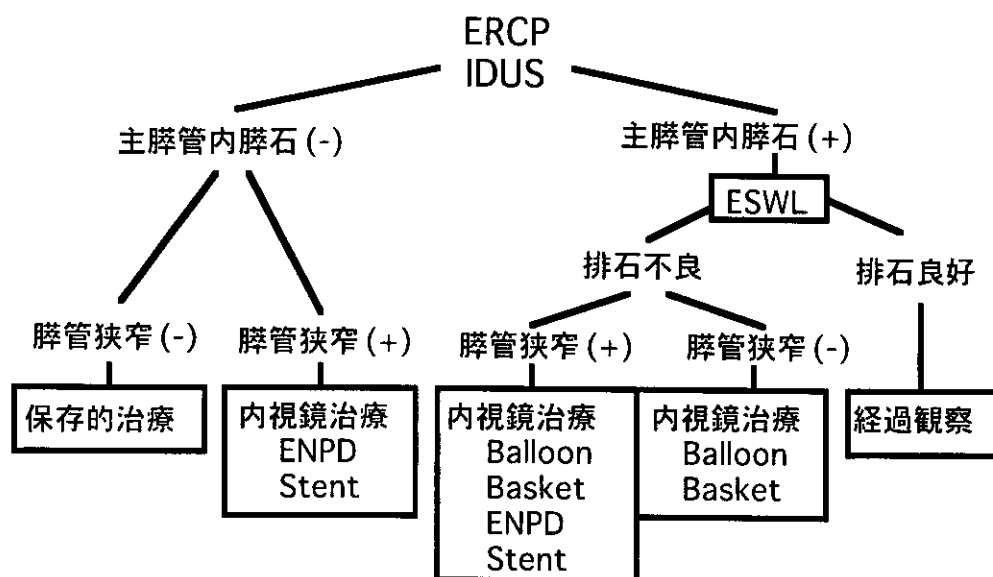


図1

## 参 考 文 献

- 1) Ohara H, Hoshino M, Hayakawa T, et al. Single application extracorporeal shock wave lithotripsy is the first choice for patients with pancreatic ducts stones. Am J Gastroenterol 1996 ; 91 : 1388-94.
- 2) 土屋正一，山口武人，露口利夫，他．膵石の体外衝撃波結石破碎療法（ESWL）と内視鏡治療の併用について，胆と膵 1996 ; 17 : 1003-7.

## 慢性膵炎の悪化要因の検討

研究報告者 須田 耕一

順天堂大学病理学第一

共同研究者 高瀬 優 福村 由紀 和泉 元喜  
熊坂 利夫 鈴木 不二彦 阿部 寛  
細川 義則

**要旨：**慢性膵炎の悪化するものとして慢性アルコール性膵炎と慢性閉塞性膵炎を、余り悪化しないものに先天性総胆管拡張症とアルコール性肝硬変症の膵組織の変化を取り上げ、慢性膵炎の悪化要因を検討した。その結果、膵管の閉塞と筋線維芽細胞の混在した小葉間線維化が、その要因と考えられた。

### はじめに

慢性膵炎ないし慢性膵障害には、悪化する、または進行するものと、余り悪化しない、または進まないもの<sup>1)</sup>とが知られている。

そこで、今回、両者を比較し慢性膵炎の悪化要因を検討した。

### 方 法

悪化、または進行する慢性膵炎・膵障害として慢性アルコール性膵炎23切除例（平均年齢47.8歳）および膵頭部癌15切除例（平均64.5歳）における尾側膵、ならびに余り悪化、または進行しないものとして先天性総胆管拡張症の剖検または切除膵5例（40日、2歳、および成人3例；平均30.6歳）およびアルコール性肝硬変症の剖検膵16例（小葉間線維化例除く；平均48.5歳）を対象とした。

膵組織片は、慢性アルコール性膵炎切除膵より5-10個を、膵頭部癌の尾側膵から1-3個を、また先天性総胆管拡張症とアルコール性肝硬変症の膵組織からそれぞれ3-10個と3-4個を切り出し、ホルマリン固定、パラフィン包埋を行い通常の方法でHE染色、エラスティカ・ワンギーソン染色を行った。免疫染色は、 $\alpha$ 平滑筋アクチン $\alpha$  smooth muscle actin ( $\alpha$  SMA)、コラーゲン Type I, IIIおよびbcl-2に対して施行した。

### 結 果

23例の慢性アルコール性膵炎では、いずれも小葉間線維化を認め、小葉が結節性を示していた。うち7例は外分泌組織の著明な脱落を認め、代わって線維化の小葉内進展を含め著しい小葉間線維化、塊状の線維化が認められた。膵頭部癌尾側膵組織15例中13例に慢性閉塞性膵炎に相当する小葉間・小葉内線維化を認め、7例には著しい実質の脱落と線維化を認めた。慢性アルコール性膵炎ならびに慢性閉塞性

膵炎では、いずれも線維化部分に一致して筋線維芽細胞のマーカーである  $\alpha$  SMA の発現を認めた (図 1)。

先天性総胆管拡張症では 5 例中 4 例に膵管周囲ならびに小葉間に線維化を認めたが、実質の著しい脱落・線維化は認められなかった。小葉間の線維化部分はコラーゲン Type I, III に陽性を示すも  $\alpha$  SMA に陰性であった。これに対し、膵管周囲のそれは  $\alpha$  SMA に陽性で (図 2) かつ膵管周囲紡錘形細胞にアポトーシスのインヒビターである bcl-2 の発現も認められた (図 3)。

アルコール性肝硬変症では、16 例中 11 例の膵組織に小葉内線維化が比較的びまん性にみられ、 $\alpha$  SMA が陽性を示した。

## 考 察

著しい実質の脱落・線維化からなる進行した慢性膵障害を慢性アルコール性膵炎では 23 例中 7 例に、慢性閉塞性膵炎では 13 例中 7 例に認められたのに対し、先天性総胆管拡張症ならびにアルコール性肝硬変症の膵組織ではいずれにも認められなかった。

このことより、前者の 2 疾患が悪化する、または進行する慢性膵炎に相当し、後 2 者が余り進行しないものであった。前者に共通するものとして、膵管閉塞がその成因にあり<sup>2,3)</sup>、線維化が小葉間に認められた (表 1)。膵管閉塞は、慢性アルコール性膵炎では蛋白栓・膵石が、また慢性閉塞性膵炎では腫瘍によるものであった。小葉間線維化は先天性総胆管拡張症でもみられたが、 $\alpha$  SMA が前 2 者のそれに陽性であったのに対し陰性であった。このことより、 $\alpha$  SMA 陽性、すなわち筋線維芽細胞が混在した小葉間線維化が悪化要因と考えられた。先天性総胆管拡張症では  $\alpha$  SMA 陽性の膵管周囲に bcl-2 陽

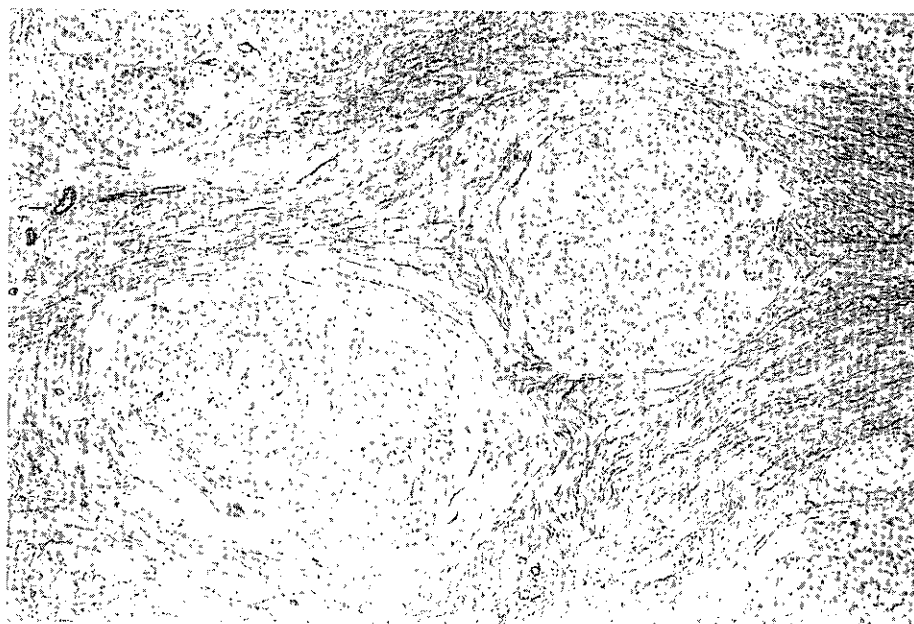


図 1. 慢性アルコール性膵炎切除膵 (51 歳, 男)

小葉間線維化部分に一致して  $\alpha$  平滑筋アクチン ( $\alpha$  SMA) が発現している。

$\alpha$  SMA に対する免疫染色, x100

性の紡錘形細胞が認められた。したがって、膵管周囲の筋線維芽細胞は apoptosis を起こさずに線維化が持続しているのに対し、小葉間の筋線維芽細胞は恐らく apoptosis により消失し<sup>4)</sup>、線維化が持続しない可能性が示唆された。



図 2. 先天性総胆管拡張症切除膵（29歳，女）

- a. 膵管周囲と小葉間に線維化が認められる。  
HE 染色，x50
- b.  $\alpha$  SMA の発現が膵管周囲にみられるが小葉間には陰性である。  
 $\alpha$  SMA に対する免疫染色，x50

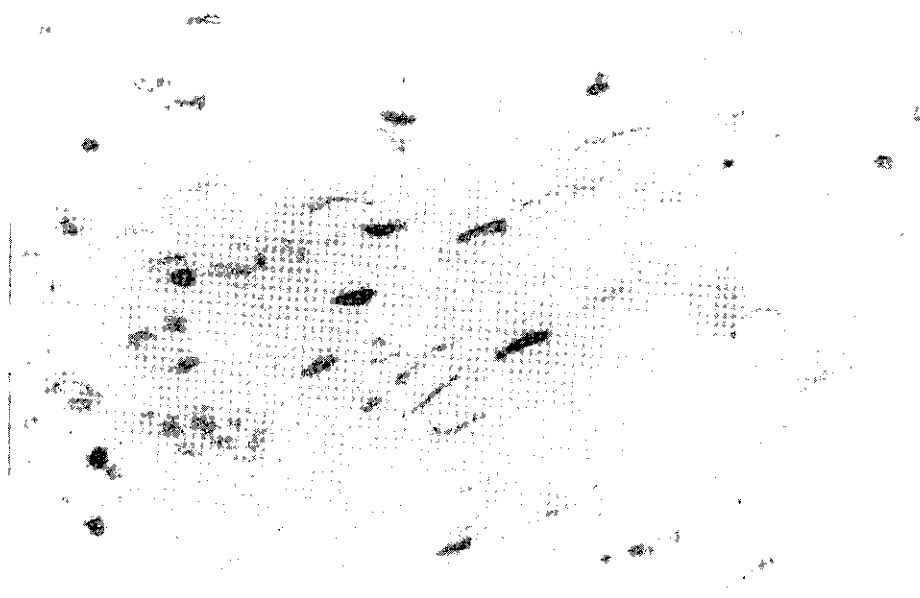


図 3. 先天性総胆管拡張症切除膵 (26歳, 女)  
膵管周囲の紡錘形細胞に bcl-2 が発現している。  
bcl-2 に対する免疫染色, x640

表 1. 各種疾患・病態における膵線維化の分布, 膵管閉塞,  
および  $\alpha$ 平滑筋アクチン ( $\alpha$  SMA) の発現

疾患・病態	膵線維化の分布			膵管閉塞	小葉間線維化における $\alpha$ SMA の発現
	小葉間	小葉内	塊状		
慢性アルコール性膵炎	+	(+)	(+)	+	+
慢性閉塞性膵炎	+	+	(+)	+	+
先天性総胆管拡張症	+	-	-	+、-	-
アルコール性肝硬変症	-	+	-	-	...

( )、進行例

## ま と め

慢性膵炎の悪化要因として、膵管の閉塞と筋線維芽細胞の混在した小葉間線維化が考えられた。

## 参 考 文 献

- 1) Klöppel G, Maillet B. The morphological basis for the evolution of acute pancreatitis into chronic pancreatitis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1992 ; 420 : 1-4.
- 2) Sarles H, Sarles JC, Camatte R, et al. Observations on 205 confirmed cases of acute pancreatitis, recurring pancreatitis and chronic pancreatitis. *Gut* 1965 ; 6 : 545-59.
- 3) Suda K, Takase M, Takei K, et al. Histopathologic and immunohistochemical studies on the mechanism of interlobular fibrosis of the pancreas. *Arch Pathol Lab Med* 2000 ; 124 : 1302-5.
- 4) Darby I, Skalli O, Gabbiani G.  $\alpha$ -Smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. *Lab Invest* 1990 ; 63 : 21-9.

## 慢性膵炎の病態における CFTR の関与

研究報告者 早川哲夫

名古屋大学第二内科

共同研究者 成瀬 達 北川 元二 石黒 洋  
 洪 繁 水野 伸匡 吉川 俊之  
 中島 守夫 鈴木 厚 山本 明子  
 汪 幼学 濱田 広幸 金 春香  
 馬淵 龍彦 鈴木 康史 横畑 幸司  
 嶋野 祥子 藤木 理代 近藤 孝晴

**要旨：**慢性膵炎における CFTR 遺伝子異常および CFTR・クロライド・チャンネルの機能異常の関与をヒトの慢性膵炎および  $\Delta F$  マウスを用いて検討した。

1. 我々が経験したアルコール性および非アルコール性の慢性膵炎症例（確診例）においては、欧米で見られるような CFTR 遺伝子異常は見られなかった。
2. エタノールによる膵導管細胞からの水分泌の増強は、 $\Delta F$  マウスから単離した小葉間膵管では見られなかった。

### 目 的

欧米では、特発性慢性膵炎患者の一部で嚢胞性線維症の原因遺伝子である CFTR (cystic fibrosis transmembrane regulator) の変異が見られる<sup>1,2)</sup>。国内でもいくつかの施設で解析が始められており、慢性膵炎患者の少数にイントロン 8 の多型が見られたという報告がある<sup>3)</sup>。

今回は、当科および関連施設で経験したアルコール性および特発性の慢性膵炎患者（確診例）において CFTR の変異の有無を検討した。

また、CFTR は、上皮細胞において cAMP 依存性  $Cl^-$  チャンネルとして機能し、膵導管細胞の  $HCO_3^-$  分泌に重要な役割を果たしていると考えられている<sup>4)</sup>。われわれは、前年度までに、飲酒後の血中濃度に相当する 0.3~1 mM のエタノールが、膵導管細胞からの水分泌および  $Cl^-$  分泌を増強させることを報告してきた<sup>5)</sup>。今回は、この過分泌が CFTR  $Cl^-$  チャンネルを介しているか否かを検討した。

### 方 法

#### 1. 慢性膵炎における CFTR 遺伝子解析

(1) 対象は、CFTR 遺伝子解析に関するインフォームドコンセントが得られたボランティアとした。慢性膵炎確診例 52 名（28~85 歳，男性 45 例，女性 7 例，アルコール性 40 例，特発性 12 例）および定期健康



20 CFTR mutations

E60X            R117H  
 R334W        R347P  
 A455E        ΔI507  
 ΔF508        G542X  
 G551D        R553X  
 621+1G>T  
 1078delT  
 R1162X  
 S1251N  
 W1282X  
 N1303K  
 1717-1G>A  
 2183AA>G  
 3659delC  
 3849+10kbC>T



図1. 欧米で多く見られる CFTR mutation

*CFTR* gene

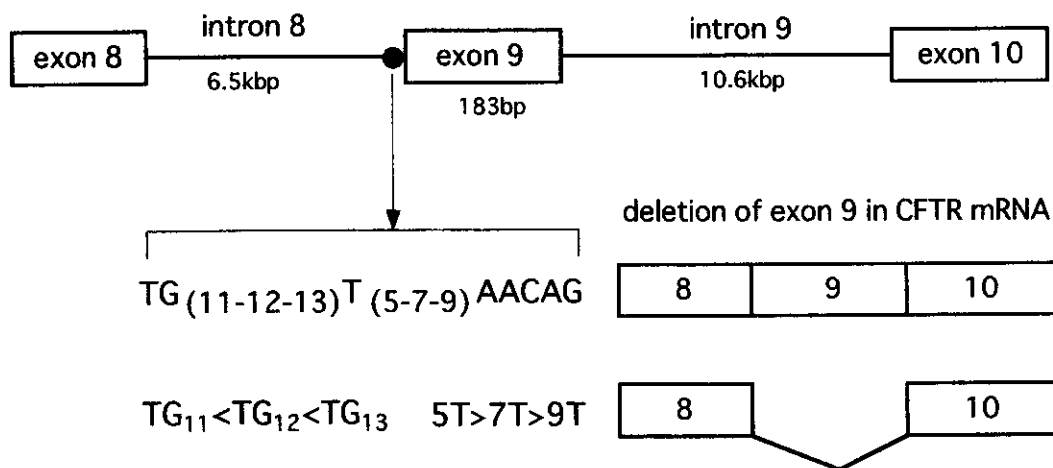


図2. ポリ T 配列と TG repeat の解析

診断で疾病がなく性および年齢が対応（±3歳）した健常ボランティア108名（男性99例，女性9例）について検討した。欧米で多く見られる20種類の変異の検出（図1）およびイントロン8のポリT配列とTG repeatの解析を行った。ポリT配列については短いほど，TG repeatについては長いほど，エクソン9の欠失が起こりやすいと考えられている（図2）。

## (2) 解析方法

### A. CFTR 遺伝子異常の検出

- ①全血から抽出したDNA50-100ngをテンプレートに用いる。
- ②キット（AstraZeneca社）のプロトコールに従い，PCRを行う。図1に示すように，このキットは20種類の遺伝子異常を検出し，ヨーロッパではCFTR遺伝子異常の約80%を診断できる。
- ③3%のアガロースゲルで電気泳動し，バンドを検出する。

### B. イントロン8のポリT配列の検出

forward primer 5'-TAA TGG ATC ATG GGC CAT GT-3'

reverse primer

5T用 5'-CCC CAA ATC CCT GTT AAA AAC-3'

7T用 5'-CCC CAA ATC CCT GTT AAA AAA AC-3'

9T用 5'-CCC CAA ATC CCT GTT AAA AAA AAA C-3'

の各々の primer set を用い，アニーリング温度64℃でPCRを行う。

### C. イントロン8のTG repeatの解析

forward primer 5'-TAA TGG ATC ATG GGC CAT GT-3'

reverse primer 5'-CAA CCG CCA ACA ACT GTC CT-3'

## 2. ΔFマウス膵導管細胞からの水分泌に対するエタノールの作用

### (1) ΔFマウスの飼育

ヒト嚢胞線維症（CF）で最も多くみられるΔF508変異CFTRをC57BL/6マウスに導入したΔFマウスを用いた。ΔFマウスは，ソウル延世大学薬理学Dr. M. G. Leeより供与を受け，名古屋大学医学部動物実験施設で繁殖させた。4週令でPCRにてゲノタイプを決定した。

### (2) 単離小葉間膵管の作成

7～9週令のホモ接合体（ΔF/ΔF），ヘテロ接合体（+/ΔF），ワイルドタイプ（+/+）のマウスから，膵を摘出し，コラゲナーゼで処理した後，実体顕微鏡下で小葉間膵管を単離した。この膵管を一昼夜培養すると，両端が閉じて分泌液が貯留した状態となった。

### (3) 水分泌量の測定

単離膵管を倒立顕微鏡上で37℃にて表層灌流し，CCDカメラで明視野像を1分間隔で取得した。管腔内容積の変化率から1分間ごとの水分泌量を求め，膵管上皮の単位上皮表面積当たりで表した。

## 結 果

### 1. 慢性膵炎におけるCFTR遺伝子解析

#### A. CFTR 遺伝子異常の検出

慢性膵炎確診例52名，健常ボランティア108名ともに検出されなかった。

#### B. イントロン8のポリT配列の検出（図3）

5 T / 7 T の多型は、慢性膵炎確診例に 1 例、健常ボランティア 1 例に検出された。

C. イントロン 8 の TG repeat の解析 (図 4)

慢性膵炎確診例と健常ボランティアとの間に分布の差は見られなかった。

2.  $\Delta F$  マウス膵導管細胞からの水分泌に対するエタノールの作用 (図 5)

$\text{HCO}_3^- / \text{CO}_2$  存在下で、adenylate cyclase を活性化する forskolin ( $1 \mu\text{M}$ ) で刺激した時の水分泌量は、(+ / +) マウスでは  $0.42 \pm 0.8 \text{ nl min}^{-1} \text{ mm}^{-2}$  ( $n = 5$ )、(+ /  $\Delta F$ ) マウスでは  $0.42 \pm 0.14 \text{ nl}$

		5T/7T	7T/7T	7T/9T
健常人	108	1 (0.009)	106 (0.981)	1 (0.009)
慢性膵炎	52	1 (0.019)	48 (0.923)	3 (0.058)
アルコール性	40	1 (0.025)	38 (0.950)	1 (0.025)
特発性	12	0 (0)	10 (0.833)	2 (0.167)

図 3. *CFTR* 遺伝子イントロン 8 Poly T 多型

TG (n)	健常人	慢性膵炎
10, 11	0 (0)	1 (0.019)
11, 11	28 (0.259)	14 (0.269)
11, 12	58 (0.537)	21 (0.404)
12, 12	21 (0.194)	15 (0.288)
11, 13	0 (0)	1 (0.019)
12, 13	1 (0.009)	0 (0)
計	108	52

図 4. *CFTR* 遺伝子イントロン 8 TG repeat

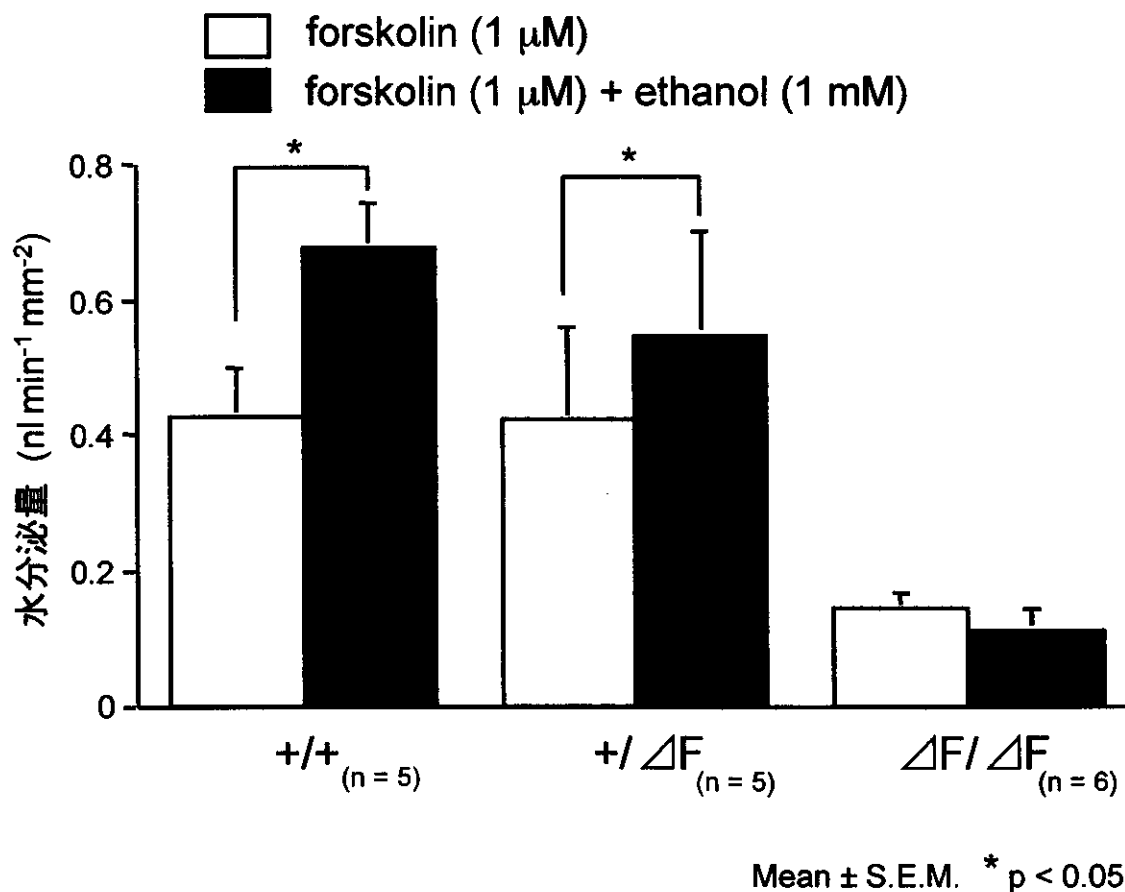


図5. Forskolin 刺激による水分分泌に対する ethanol の作用

$\text{min}^{-1} \text{mm}^{-2}$  (n = 6), ( $\Delta F / \Delta F$ ) マウスでは  $0.14 \pm 0.02 \text{nl min}^{-1} \text{mm}^{-2}$  (n = 6) であった。forskolin 刺激下で灌流液に ethanol (1 mM) を加えると, (+/+ ) および (+/ΔF) マウスでは有意に水分分泌が増加した (それぞれ  $0.25 \pm 0.04$  および  $0.13 \pm 0.04 \text{nl min}^{-1} \text{mm}^{-2}$ ) が, ( $\Delta F / \Delta F$ ) マウスでは変化しなかった。

## 考 察

本研究ではわれわれの施設で経験したアルコール性および非アルコール性の慢性膵炎症例 (確診例) において, 欧米で用いられているキットを用いて CFTR 遺伝子解析を行ったが, 遺伝子異常は見られなかった。さらに, イントロン 8 のポリ T 多型と TG repeat の解析も行ったが, どちらも慢性膵炎確診例と健常ボランティアとの間に分布の差は見られなかった。日本人 cystic fibrosis 患者の遺伝子変異の検討でも, 欧米のスクリーニング検査では検出できない稀な変異がほとんどであること<sup>6)</sup> から, 症例を選んで PCR-SSCP (polymerase chain reaction-single stranded conformational polymorphism) などの手法により広い範囲を解析する必要があると考えられる。

われわれはモルモットおよびマウスの膵から直径約  $100 \mu\text{m}$ , 長さ約 1 mm 小葉間膵管を単離して膵導管細胞からの  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ , および水分分泌を経時的に測定することに成功し<sup>7)</sup>, アルコールの影響を検討している。今回の研究では, エタノールによる膵導管細胞からの水分分泌の増強は, ホモ接合体 ( $\Delta$