

(7) 膵形態, 画像診断 (図10, 11)

腹部エコー/CT検査(図10)では, び慢性膵腫大が自己免疫性膵炎の30症例中13例(43%)にみられたのに対し($p<0.001$), 膵癌では病巣部に一致した限局性膵腫大が圧倒的に多く(28/29, 97%, $p<0.001$), またアルコール性慢性膵炎ではむしろ膵委縮を示す症例が多かった(10/26, 39%, $p<0.005$)。膵炎の合併症である膵石, 膵嚢胞はアルコール性慢性膵炎で有意に多かった(各々 $p<0.001$, $p<0.02$)。膵管像は内視鏡的逆行性胆管膵管造影所見(ERCP)でも示されたように(図11), 膵癌およびアルコール性慢性膵炎では拡張を示す症例が多いのに対し, 自己免疫性膵炎ではび慢性あるいは限局性の狭窄(狭細)像を示した。また, 自己免疫性膵炎では対照疾患に比しERCPにおいて膵部での総胆管狭窄像を示す症例が有意に多く($p<0.01$), 臨床的特徴のひとつと考えられた。

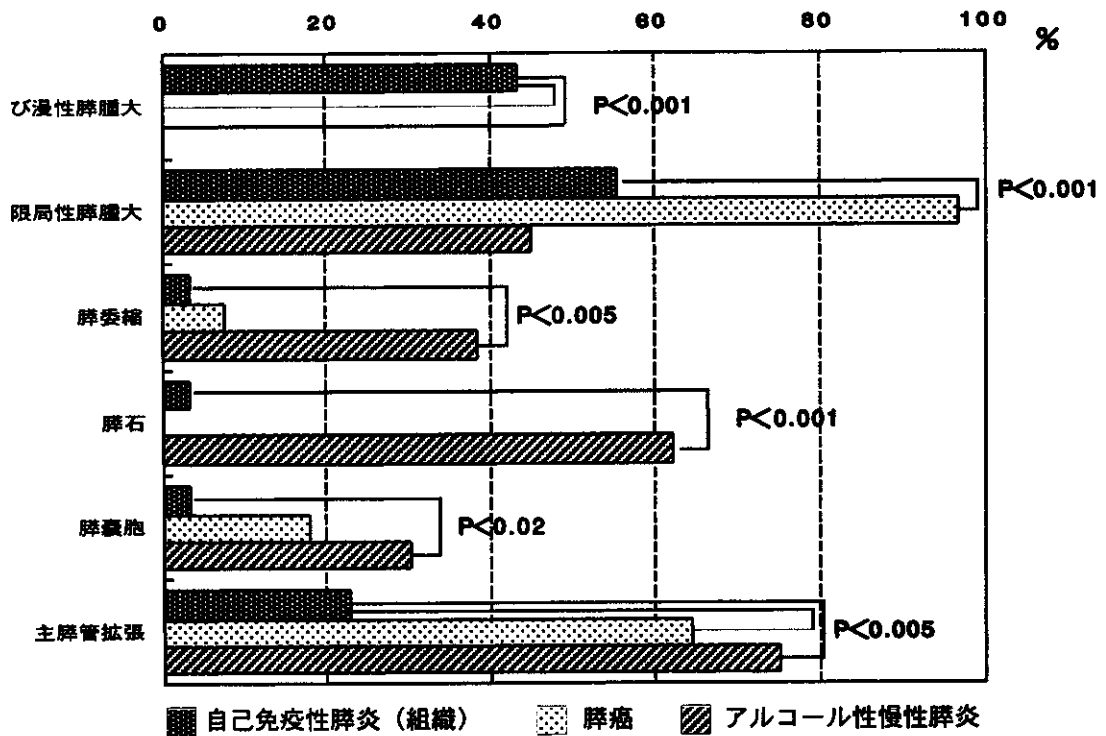


図10. 腹部エコー/CT検査所見

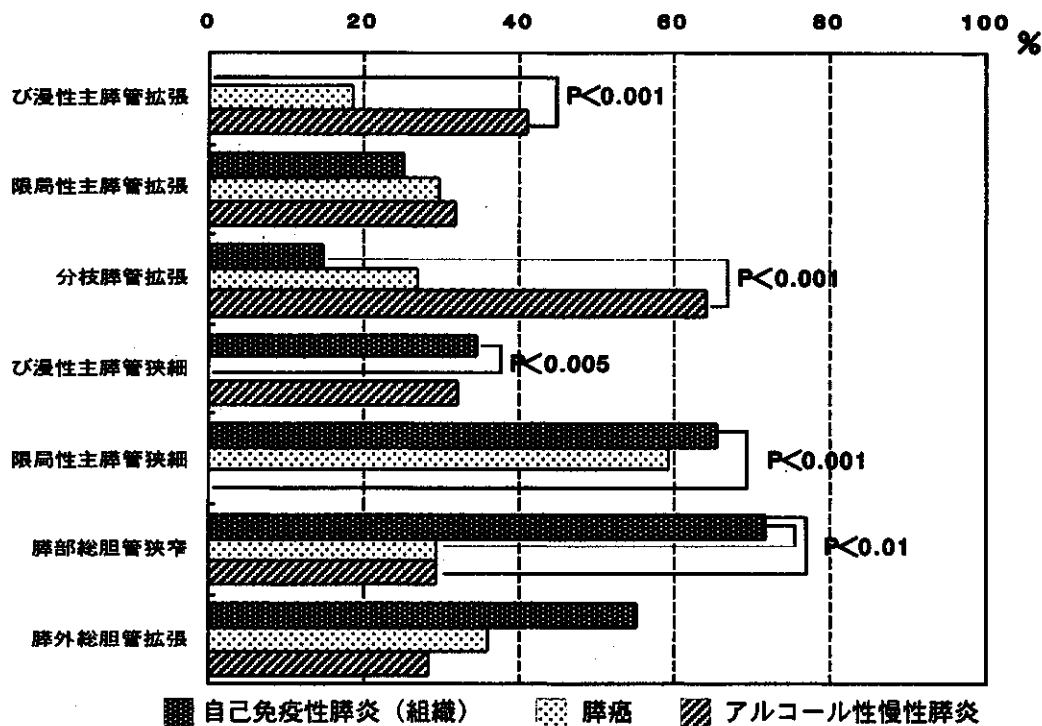


図11. 内視鏡的逆行性胆管膵管造影所見 (ERCP)

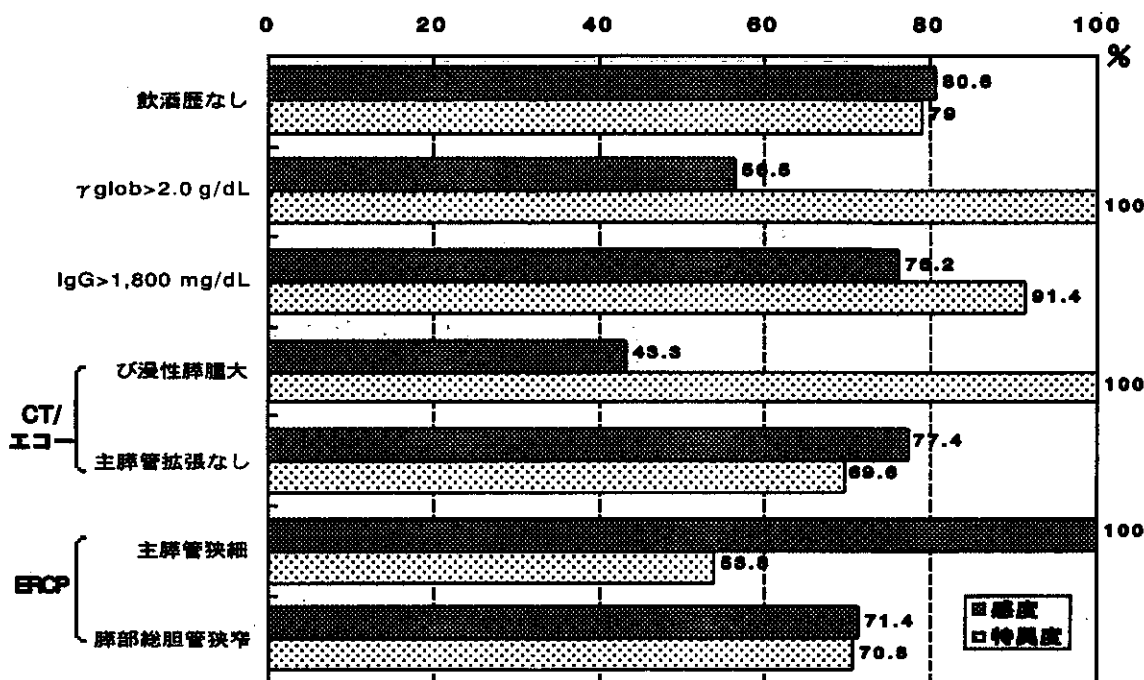


図12. 自己免疫性膵炎と対照疾患との間で有意差のあった臨床項目の感度と特異度

表 2. 自己免疫性膵炎と対照疾患との間で有意差のあった臨床項目

種類	臨床項目	自己免疫性膵炎		膵癌	アルコール性慢性膵炎	膵癌+アルコール性慢性膵炎		危険度
		陽性/n	感度 (%)	有意差	有意差	陰性/n	特異度 (%)	
患者背景	発症年齢50歳以上	29/31	93.5	-	+	19/62	30.6	p<0.01
	飲酒歴なし	25/31	80.6	+	+	49/62	79.0	p<0.001
	喫煙歴なし	11/30	36.7	-	+	42/58	72.4	n.s.
症状	上腹部痛なし	22/31	71.0	-	+	38/62	61.3	p<0.005
	黄疸あり	11/31	35.5	-	+	46/62	74.2	n.s.
	上腹部圧痛なし	26/31	83.9	-	+	27/62	43.5	p<0.01
血液検査	GPT高値	18/31	58.1	-	+	39/62	62.9	p<0.05
	γ glob>2.0g/dL	13/23	56.5	+	+	33/33	100.0	p<0.001
	IgG>1,800 mg/dL	16/21	76.2	+	+	32/35	91.4	p<0.001
	ANA>40倍(±)	9/21	42.9	+	-	28/31	90.3	p<0.01
CT/ エコー	び漫性膵腫大あり	13/30	43.3	+	+	58/58	100.0	p<0.001
	限局性膵腫大あり	14/30	46.7	+	-	41/58	70.7	n.s.
	膵萎縮なし	30/31	96.8	-	+	12/53	22.6	p<0.05
	膵石なし	30/31	96.8	-	+	18/57	31.6	p<0.002
	膵嚢胞なし	30/31	96.8	-	+	14/58	24.1	p<0.01
	主膵管拡張なし	24/31	77.4	+	+	39/56	69.6	p<0.001
ERCP	主膵管拡張なし	21/28	75.0	-	+	29/49	59.2	p<0.005
	び漫性主膵管拡張なし	28/28	100.0	-	+	14/49	28.6	p<0.001
	分枝膵管拡張なし	23/27	85.2	-	+	23/51	45.1	p<0.01
	主膵管狭窄あり	29/29	100.0	+	+	28/52	53.8	p<0.001
	び漫性主膵管拡張あり	9/26	34.6	+	-	44/52	84.6	n.s.
	限局性主膵管拡張あり	17/26	65.4	-	+	36/52	69.2	p<0.005
	膵部総胆管狭窄あり	20/28	71.4	+	+	34/48	70.8	p<0.001

考 察

平成11年度は膵組織像の得られた症例を対象とし、自己免疫疾患の膵病理学的所見について検討を行った。平成12年度はステロイド剤が奏効した症例を対象とし臨床像の検討を行った。本年度は自己免疫性膵炎の診断に際し重要な臨床項目を明らかにするため、膵癌およびアルコール性慢性膵炎との比較検討を行った。

自己免疫性膵炎と対照疾患との間で有意差のみられた臨床項目を表2に示す。膵癌およびアルコール性慢性膵炎の両者に対して有意差のあった項目は感度および特異度（膵癌とアルコール性慢性膵炎を合計した場合の陰性症例の割合）とも比較的高く（図12）、すべての項目で危険度は $p<0.001$ であった。

従来より自己免疫性膵炎の特徴のひとつと考えられている抗核抗体^{1,2)}は予想に反して感度が低く(43%), またアルコール性慢性膵炎でも3例が陽性を示したことより, 自己免疫性膵炎の診断における有用性は低かった。また, 「発症年齢50歳以上」や「上腹部の痛みや圧痛のない黄疸」はアルコール性慢性膵炎と自己免疫性膵炎との鑑別には有用と考えられたが, 膵癌との間に有意差はみられなかった。

膵癌およびアルコール性慢性膵炎の両者に対して有意差のあった項目のうち(図12), 飲酒歴については患者の自己申告によることが多く客観性に問題がある。従って, 自己免疫性膵炎の診断に際しては, (1)血液検査: γ -グロブリン値 2 g/dL 以上, IgG 値 1,800mg/dL 以上, (2)腹部 CT / エコー検査: び慢性膵腫大(主膵管の拡張は認めない), (3) ERCP: 主膵管の狭窄(狭細)と膵部での総胆管の狭窄, 以上の3項目が重要と考えられた。

謝 辞

今回, 新たに調査票をお送り頂いた施設は以下のとおりです。附記して感謝の意を表します。

麻植共同病院内科, 杏林大学医学部第3内科, 神戸大学医学部第1外科, 産業医科大学医学部第3内科, 順天堂大学医学部附属順天堂医院, 山梨医科大学医学部第1内科, 横浜市立大学医学部附属病院。

参 考 文 献

- 1) 渡辺伸一郎. 自己免疫性膵炎. 胆と膵 1996, 17: 239-44.
- 2) 西森 功, 森田雅範, 大西三朗, 他. 自己免疫性膵炎. 現代医療 1997, 29: 2153-8.
- 3) 土岐文武, 岩部千佳, 今泉俊秀. 膵管狭細型慢性膵炎の概念. 胆と膵 1997, 18: 411-9.
- 4) 佐藤 公, 池田昌弘, 落合まさ子, 他. 著明なリンパ球浸潤を認め, 腫瘤の増大が観察された膵体・尾部の腫瘤形成性膵炎の1例. 膵臓 1993, 8: 219-24.
- 5) 飯塚直彦, 成瀬 達, 北川元二, 他. シェーグレン症候群に合併した腫瘤形成性慢性膵炎の1例. 膵臓 1996, 11: 403-7.
- 6) 坂井潤太, 中谷智恵美マルシア, 阿依古麗, 他. 著明なリンパ球浸潤を認め, 膵癌との鑑別に苦慮した膵体尾部腫瘤形成性慢性膵炎の1手術例. 胆と膵 1996, 17: 1131-6.
- 7) 康 純明, 久保尚士, 新田敦範, 他. 腫瘤形成およびリンパ節腫大を伴った膵管狭細型慢性膵炎の1例. 胆と膵 1999, 20: 1043-7.
- 8) Chutaputti A, Burrell MI, Boyer JL. Pseudotumor of the pancreas associated with retroperitoneal fibrosis: a dramatic response to corticosteroid therapy. Am J Gastroenterol 1995, 90: 1155-8.
- 9) Dejaco C, Ferenci P, Schober E, et al. Stenosis of the common bile duct due to Ormond's disease: case report and review of the literature. J Hepatol 1999, 33: 156-9.
- 10) 西森 功, 須田耕一, 大井 至, 他. いわゆる自己免疫性膵炎の実体調査—膵組織の得られた症例における病理学的所見の検討—. 厚生省特定疾患対策研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究班 平成11年度研究報告書 2000: 56-65.
- 11) 須田耕一, 西森 功, 大井 至, 他. いわゆる自己免疫性膵炎の臨床病理学的検討. 厚生労働省特定疾患対策研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究班 平成12年度研究報告書 2001: 84-91.
- 12) 松野正紀. 膵癌全国登録調査報告(1997年度症例の要約). 膵臓 1999, 14: 163-95.
- 13) 西森 功, 須田耕一, 大井 至, 他. いわゆる自己免疫性膵炎の実体調査—ステロイド剤が奏効した症例における臨床像の検討—. 厚生労働省特定疾患対策研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究班 平成12年度研究報告書 2001: 72-83.

わが国の嚢胞線維症における *CFTR* 遺伝子の解析

吉村 邦彦

東京慈恵会医科大学呼吸器内科

山城 雄一郎

順天堂大学小児科

西森 功

高知医科大学第一内科

小川 道雄

熊本大学第二外科

田代 征記

徳島大学第一外科

要旨：嚢胞線維症 (cystic fibrosis, CF) は従来はわが国では稀な疾患と考えられていたが、実態およびその原因遺伝子 *CFTR* の変異に関して、近年次第に明らかにされつつある。主に PCR-SSCP 解析と直接塩基配列解析を用いた遺伝子変異の検出システムなどにより、これまですでにわが国の CF 患者の10数例においてその遺伝子変異が同定された。日本人の CF 患者における *CFTR* 遺伝子変異は、欧米人の変異スペクトラムと明らかに様相を異にしており、欧米人を対象としたスクリーニング体系では変異の検出はほとんど不可能である。したがって、今後日本人 CF 症例をさらに出来る限り多く集積・解析し、原因となる *CFTR* 遺伝子の病的変異の種類や頻度を明らかにしたうえで、わが国における CF の病態の解明と合わせ、日本独自の遺伝子変異スクリーニング体制を確立してゆかなければならない。

はじめに

嚢胞線維症 (cystic fibrosis, CF) はコーカサス系白人種にきわめて高頻度にみられる常染色体劣性の遺伝性疾患であり、欧米では出生児2,000-3,000人あたり1人の発症頻度を示し、約25人に1人が原因遺伝子変異のキャリアである¹⁻³⁾。1938年に初めて膵臓と肺を冒す疾患「膵嚢胞線維症 (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 と称されることが多い¹⁾。また、CF は粘液分泌物の排泄障害を伴うことから一部の国では今でも “mucoviscidosis” とも呼称されている¹⁾。

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¹⁾。このなかで、肺病変は臨床上きわめて重要で、ほぼ全例が慢性副鼻腔炎、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、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¹⁾。一方、膵病変も患者の予後を左右する重要な病態であり、約85%の症例で膵外分泌機能不全 (pancreatic insufficiency, PI) を伴う^{2,3)}。

CF 患者では汗中の Na^+ と Cl^- 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、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^- イオン透過性が障害されていることが明らかにされ、1989年には長年に及ぶ研究の結果、原因遺伝子 *CFTR* が単離された¹⁻³⁾。欧米においては、それ以後のきわめて精力的かつ高レベルの研究から、cAMP 依存性 Cl^- チャネル CFTR の構造と複雑な機能、およびその制御系が次々に明らかにされ、CF の臨床病態も分子レベルで詳細に解明される一方、新しい治療法も次々に開発されてきた^{2,3)}。

CFTR 遺伝子は第7染色体に局在し、27のエクソンをもつ全長250kbの長大な遺伝子である²⁻⁴⁾。

CFTR 遺伝子は多型性に富み、臨床的に CF を発症し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、2002年4月現在1,000種を越える病的変異が報告されている^{4,5)}。これらの変異は 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⁵⁾。このなかで、欧米の CF 患者における代表的な変異 $\Delta F508$ は、エクソン10内の3塩基 (CTT) の欠失のため、*CFTR* の第1 ATP 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あり、全 CF 患者の染色体の約70%に認められる⁴⁾。

わが国の CF 症例および *CFTR* 遺伝子変異検索

日本人を含めた東洋人種における CF の発症頻度はこれまできわめて低いと考えられており、わが国の CF 症例に関しては、昭和57年からの厚生省特定疾患難治性肺疾患研究班による全国調査の結果、29例の確診例が報告されているが⁶⁾、Yamashiro ら⁷⁾ の報告によると、文献的にはわが国ではこれまでに約120例の CF 臨床診断例が記載され、発症頻度も出生35万人あたり1人程度と推定されている。これはハワイ在住の東洋人での CF 発症頻度 (出生9万人以上あたり1人) と概ね矛盾しないが⁸⁾、これらを勘案するとおよそ出生10万人あたり1人程度の発症率と考えられる。これらの患者における *CFTR* 遺伝子変異解析に関しては、過去には DNA サンプルの得られた患者での $\Delta F508$, G542X, G551D, R553X, N1303K など欧米で頻度の高い数種の変異検索、ないしは限られたエクソンでの PCR-single stranded conformation polymorphism (SSCP) 解析などが検討されたのみであり、結果として有意な *CFTR* 遺伝子異常は確認されず、その変異状況は長い間全く不明であった⁶⁾。この主な理由は、その後の解析から明らかになるように、わが国の CF 患者における *CFTR* 変異は欧米のそれらと比較した場合、変異の頻度もさることながら、スペクトラムが全く異なっているためである。

しかしながら、このような経緯の中、数年前から漸くわが国での *CFTR* 変異の状況が明らかにされてきている。吉村らは 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、当研究班によるわが国での全国調査で集積された症例や、それ以外の施設から紹介依頼された複数の CF 確診例、あるいは疑診例の *CFTR* 遺伝子変異検索を精力的に行ってきた⁹⁾。この結果、欧米でもきわめて稀な変異や、これまで Consortium に登録記載のない複数の *CFTR* 変異を新たに検出、確認した^{10,11)}。さらに他施設からも、いくつかの CF 症例の遺伝子解析報告がなされている^{12,13)}。

これまでにわが国において *CFTR* 遺伝子の変異が同定された CF 患者の一覧を表1に示す。すでに平成12年度研究成果報告にこれまで明らかにされた11症例の臨床像と遺伝子変異の概略を記載した⁹⁾ が、今年新たに3名の CF 症例を追加した。

症例12, 13は近親婚でない両親を持つ日本人の兄妹例 (それぞれ30, 28歳) であり、ともに典型的な CF の呼吸器病変を呈したが、肺機能障害はなく、症例12の兄例では先天性両側精管欠損症 (CBAVD) の合併は不明で、さらに重要なことにわが国ではこれまで記載のないアレルギー性気管支肺アスペルギルス症 (ABPA) を合併している。遺伝子解析では、両例とも症例7, 9, 10に見られたエクソン1の125C のホモ接合体であり、さらに驚くべきことにエクソン17b の T1086I 変異が両例ともホモ接合体として検出された (図2)。母親はこの変異の健常キャリアであった。症例14は18歳の日本人女性の CF 症例で、重症の呼吸器症状を有するが、肺病変は無く、遺伝子変異解析では父親由来のエクソン3の nonsense 変異 R75X (図3) と母親由来のエクソン7の R347H が検出された複合ヘテロ接合体症例で

表1. わが国のCF患者においてCFTR遺伝子変異が明らかにされた症状

症例	年齢	性	PI/PS	Cl ⁻ 変異	エクソン	変異	エクソン	血族	転帰	文献
1*	23y	F	PI	96 ΔF508	10	R347H + D979A	7, 16	-	生存中	12
2*	23y	F	PI	102 ΔF508	10	R347H + D979A	7, 16	-	生存中	12
3	15y	F	PI	201 H1085R	17b	H1085R	17b	+	生存中/HOT	10
4	8y	M	PI	153 1525-18G->A	ivs 9	1742delAG	11	-	生存中	13
5	1y5m	F	PI	126 M152R	4	1540del10	10	-	生存中	11
6	1y1m	F	PI	ND ΔF508	10	L571S	12	-	死亡	
7	17y	M	PI	74 125C	1	Q98R	4	-	生存中	16
8	42y	F	PS	ND E217G	4	Q1352H	22	-	死亡	14
9**	21y	M	PI	166 125C	1	L441P	9	-	生存中/HOT	16
10**	16y	F	PI	100 125C	1	L441P	9	-	生存中	16
11	9y	F	PI	166 1540del10	10	1540del10	10	-	生存中	
12**	30y	M	PS	403 125C, T1086I	1, 17b	125C, T1086I	1, 17b	-	生存中/ABPA	
13**	28y	F	PS	ND 125C, T1086I	1, 17b	125C, T1086I	1, 17b	-	生存中	
14	18y	F	PS	ND R75X	3	R347H	7	-	生存中	

血族: 血族結婚, PI/PS: 膵機能不全/膵機能正常, * 双生児例, ND: 測定せず, ivs 9: インtron 9, ** 兄妹例, HOT: 在宅酸素療法

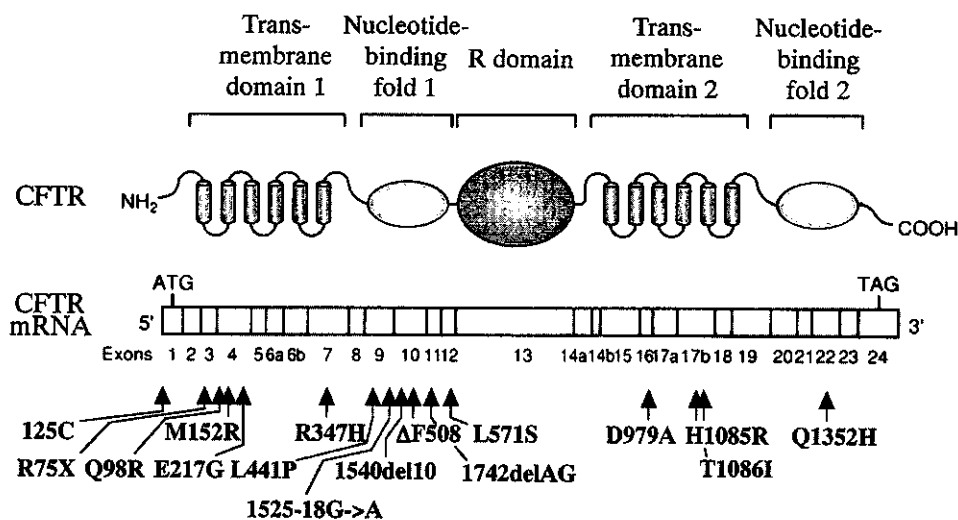


図1. わが国のCF患者において検出確認されたCFTR遺伝子変異の種類とその分布状況

あった。

現在までにわが国のCF症例で検出されたCFTR変異の、CFTR分子とエクソン構造に則しての分布状況を示したのが図1である。これまでのところ、第1ヌクレオチド結合ドメインと2つの細胞膜貫通ドメインとに、変異が集中しているように見受けられる。さらに、表2にこれまでに検出された変異の稀少さに関して整理した。すなわち、欧米でもきわめて頻度の高い変異ΔF508は3例に検出されているが、何れも片親が欧米コーカサス系の流れを汲んでおり、日本人由来の変異ではないと考えられる。また、欧米でも比較的検出頻度の高いR347H変異（全CF患者染色体の0.1%）が、日本人母親に由来する変異として混血双生児2例¹²⁾と新たに日本人CF症例1例で確認された。さらに、これまで欧米で

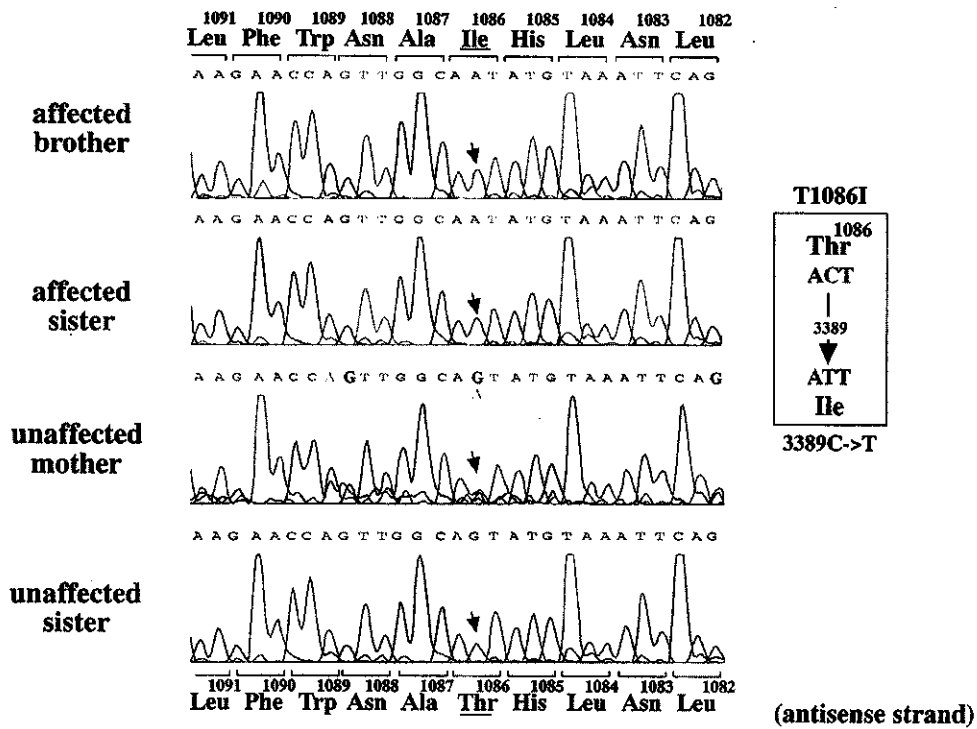


図 2. 症例12, 13においてホモ接合体で検出されたエクソン17bの T1086I 変異

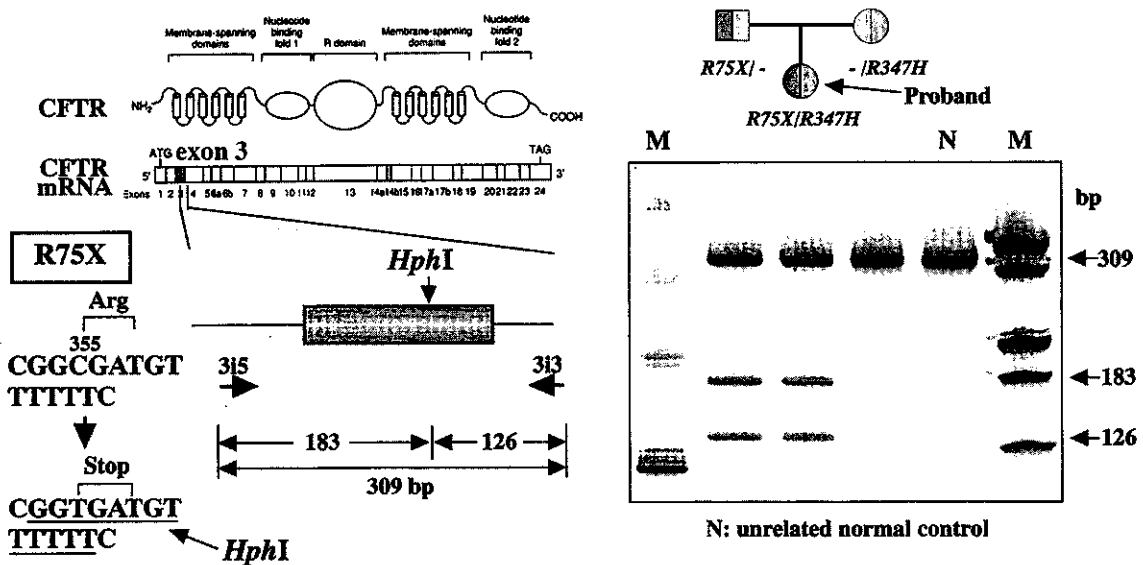


図 3. 症例14において検出されたエクソン 3 の R75X 変異の RFLP による家族解析

表 2. わが国の CF 患者における責任 *CFTR* 遺伝子変異

欧米できわめて頻度が高いがわが国ではきわめて稀な変異	ΔF508
欧米で比較的頻度が高い変異	R347H
欧米でもきわめて稀な変異	R75X, Q98R, E217G, L571S, D979A, H1085R, T1086I
世界的にわが国で初めて報告された稀な変異	M152R, L441P, 1540del10, 1742delAG, Q1352H
病的と考えられる多型	125C

もわずかし報告のない稀な変異として、R75X, Q98R, E217G, L571S, D979A, H1085R, T1086I が挙げられる。これに対して、M152R, L441P, 1540del10, 1742delAG, Q1352H は従来欧米では全く報告されてない変異であり、わが国からの報告として Consortium に登録されている。この中で Q1352H はわれわれの研究から DPB, CBAVD の複数の患者にかなりの頻度で見いだされており、健常者でも同変異のキャリアが確認されているため、日本人のなかで最も頻度の高いミスセンス変異であると考えられる¹⁴⁾。また、125C は従来 125G or C の多型と考えられていたが¹⁵⁾、症例 7, 9, 10, にみられるように、ミスセンス変異が一方のアリルに検出される以外は 125C を除く他の変異が認められないにも拘わらず、臨床的に CF を発症する例が存在するため、125C は何らかの *CFTR* 機能異常を招来する変異であると推測される¹⁶⁾。さらに症例 12, 13 では T1086I のホモ接合体であり、実際の CF 発症ではこの変異の関与が大きいことは事実であろうが、さらに 125C に関してもホモ接合体であるため、病態形成に対する何らかの関与を推定している。

総括および結語

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進められてきたわが国の CF 研究は、主に PI を呈した重症例の集積と全国施設での実態調査などに主眼が置かれてきた。しかしながら、これら症例における原因遺伝子 *CFTR* の変異解析と遺伝子診断に関しては、必ずしも十分ではなかったのが実情であった。近年、漸く変異検出体制が確立され、着実に変異の様相が明らかにされつつある。本研究で明らかにされたように、わが国の CF 患者における *CFTR* 遺伝子変異は、欧米人の変異スペクトラムと明らかに様相を異にしており、欧米人を対象としたスクリーニング体系では変異が検出されない可能性がきわめて高い。従来から指摘されているごとく、人種や民族により *CFTR* 変異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。したがって、今後わが国の日本人 CF 症例をさらに出来る限り多く解析し、原因となる *CFTR* 遺伝子の病的変異の種類、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。

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*, 7th edn. McGraw-Hill : New York, 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. Tsui LC. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Am J Respir Crit Care Med* 1995 ; 151 : S47-S53.
5. Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Cystic Fibrosis Mutation Data Base. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>.
6. 吉村邦彦, 西森 功, 衛藤義勝, 田代征記, 山城雄一郎, 小川道雄. 嚢胞性線維症における *CFTR* 遺伝子の解析. 厚生労働省特定疾患対策研究事業「難治性肺疾患に関する調査研究班」平成12年度研究報告書. 2001 : 96-100.
7. 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.
8. 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, 医学書院 : 東京, 1996 : 63-6.
9. 吉村邦彦, 衛藤義勝. 日本人 cystic fibrosis 患者の *CFTR* 遺伝子変異解析. 厚生労働省特定疾患対策研究事業「難治性肺疾患に関する調査研究班」平成12年度研究報告書. 2001 : 245-50.
10. 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.
11. 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)*.
12. Hojo S, Fujita J, Miyawaki H, Obayashi Y, Takahara J, Bartholomew DW. Severe cystic fibrosis associated with a $\Delta F508/R347H+D979A$ compound heterozygous genotype. *Clin Genet* 1998 ; 53 : 50-3.
13. Seki K, Abo W, Yamamoto Y, Matsuura A. Identification of novel mutations of the *CFTR* gene in a Japanese patient with cystic fibrosis. *Tohoku J Exp Med* 1999 ; 187 : 323-8.
14. Yoshimura K, Iizuka S, Anzai C, Morokawa N, Tanabe O, Kojima A, Nakata K, Eto Y. Diffuse panbronchiolitis is closely associated with mutations of the *CFTR* gene. *Am J Respir Crit Care Med* 2000 ; 161 : A77.
15. Cutting GR, Curristan SM, Nash E, Rosenstein BJ, Lerer I, Abeliovich D, Hill A, Graham C. Analysis of four diverse population groups indicates that a subset of cystic fibrosis mutations occur in common among Caucasians. *Am J Hum Genet* 1992 ; 50 : 1185-94.
16. Yoshimura K, Iizuka S, Morokawa N, Kikuta H, Kadota J, Kohno S, Tai H, Eto Y. Polymorphic 125C in the 5' untranslated region of the *CFTR* gene exon I is likely causative of severe phenotype of cystic fibrosis in Japan. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 ; 163 : A656.

日本人嚢胞線維症の Stage 分類の作成

研究報告者 山城 雄一郎

順天堂大学小児科

共同研究者 清水 俊明

順天堂大学小児科

衛藤 義勝

東京慈恵会医科大学小児科

小川 道雄

熊本大学第二外科

要旨：日本人嚢胞線維症（以下 CF）の重症度 Stage 分類を作成することを目的とし、CF の予後を左右する病態のうち特に重要と考えられる呼吸器症状および腓外分泌不全症状に注目して Stage 分類案を作成した。さらに海外で行われているスコア化の検討を行った。今後、本邦における報告症例に当てはめでの検討が必要と思われた。

目 的

我が国における CF の報告例は西暦2000年までに100名近くに及ぶ¹⁾が（表1）、その臨床像は多様であり、予後を評価するための臨床 Stage 分類はこれまでに行われていない。しかしながら、CF を適切に治療していくうえでも患者の病態を正確に把握する事は重要と考えられる。そこで今回、日本人 CF における重症度 Stage 分類の作成を目的として本研究を行った。

表1. 日本人 Cystic Fibrosis 症例のまとめ

西暦	新生児-12ヵ月	1-7歳	8-15歳	16歳以上	計
1951-59	3	2	0	0	5
1960-69	14	5	1	0	20
1970-79	8	6	0	0	14
1980-89	20	8	5	1	34
1990-2000	7	6	8	4	25
計	52	27	14	5	98

方法および結果

表2に日本人CFの診断基準を示すが、CFの予後を左右する病態のうち(表3)、生命予後に強く関係し、CFの重症度Stage分類に影響を及ぼす病態として呼吸器異常と栄養障害を選んでStage分類を行った(表4)。特に呼吸器異常はCFの生命予後に最も関係している病態であり、栄養障害より重視して各Stageを作成した。呼吸器異常のStage分類は、臨床症状、日常生活の程度や入通院の回数、酸素の必要性、呼吸機能(FVC%, FEV₁%)により、また栄養障害のStage分類は、体重およびBMI、経口および経静脈栄養の必要性、RTPおよび必須脂肪酸値などの血液検査によりそれぞれ行うことが妥当と思われた。表5に米国におけるCF患者の臨床スコアシステムを示す²⁾。全身状態、身体所見、栄養、胸部X線の4項目をそれぞれスコア25から5の5段階に分け、トータルスコアが86-100をExcellent, 71-85をGood, 56-70をMild, 41-55をModerate, 40以下をSevereとしている。表6に米国におけるCF患者の予後スコアシステムを示す³⁾。呼吸器の異常と全身所見とからCF患者の予後スコアを決めており、呼吸器異常がトータル75と予後因子として非常に重要であり、特に胸部X線所見と呼吸器機能がそれぞれ最高17と重視されている。

表2. Cystic Fibrosis 診断基準

嚢胞線維症(cystic fibrosis)は、全身の外分泌腺機能不全に基づく疾患であり、その特徴は、
 ①膵と気道の粘液分泌腺に極めて粘稠な分泌液が産出され、膵管や気道を閉塞する、
 ②汗中へ過剰の電解質が失われる、ことにある。
 以下のa発汗試験の異常に加え、残り(b.c.d)の3項目中2項目以上を満たすものを嚢胞線維症と診断する。

- a. 発汗試験の異常
ピロカルピンイオン導入法による汗試験で、60mEq/l以上の汗中Cl濃度の高値が持続する。
- b. 膵外分泌不全
大量頻回の悪臭を伴う脂肪便を伴うか、またはPFD試験(BT-PABA試験)における尿中PABA排泄率や便中キモトリプシン活性の低下がある。
- c. 呼吸器症状
気道外分泌の異常のため、肺炎、気管支炎、無気肺を繰り返し、気道拡張症、肺性心、趾端末端の肥大や樽状胸郭などが出現する。
- d. その他
生後まもなく胎便性イレウスを起こすか、または嚢胞線維症の家族歴がある。

表 3. CF の重症度ステージ分類に影響を及ぼす病態

-
1. 呼吸器異常 (無, 軽, 中, 重)
 2. 腓外分不全 (無, 軽, 中, 重)
 3. 胎便性イレウス
 4. 汗中電解質異常
 5. その他の合併症
(腓炎, 糖尿病, 肝障害, 腸閉塞)
-

表 4. 日本人 CF の重症度 Stage 分類案

-
- S-0 呼吸器異常および栄養障害が無い
 - S-1 呼吸器異常が無く栄養障害が軽度
 - S-2 呼吸器異常が軽度または栄養障害が中等度
 - S-3 呼吸器異常が中等度または栄養障害が重度
 - S-4 呼吸器異常が重度
-

表 5. Cystic Fibrosis 患者の臨床スコア

重症度	スコア	全身状態	身体所見	栄養	胸部X線
Excellent (86-100)	25	通常生活	異常なし	>25パーセンタイル	異常なし
Good (71-85)	20	通常学校生活	咳(+)	15~20 パーセンタイル	影響増強
Mild (56-70)	15	易疲労	咳(++)	>3パーセンタイル	肺気腫
Moderate (41-55)	10	息切れ	ばち状指	<3パーセンタイル	無気肺
Severe (≤ 40)	5	ベット上安静	多呼吸, 頻脈	著明な栄養障害	気管支拡張

表 6. Cystic Fibrosis の予後スコア

I 呼吸器		II 全身所見	
	スコア		スコア
A	胸部 X 線	A	体重
	1-17		1-6
B	呼吸機能	B	活動性
	1-17		1-10
C	重点治療	C	態度
	3-5		1-9
D	気胸		
	3-5		
E	喀血		
	1-7		
F	外科手術		
	2-7		
G	肺高血圧		
	3-5		
H	診察所見		
	1-9		
I	咳, 痰		
	1-3		

考 察

CF を適切に治療していくうえでも患者の病態を Stage 毎に分類して把握していくことが重要と考えられる。海外においては、すでに臨床症状や予後をスコア化する試みが行われており、本邦 CF 患者においても、今後呼吸器異常や栄養障害のスコア化の検討が必要と思われた。また今回作成した日本人 CF 患者の重症度 Stage 分類にこれまで報告のあった本邦 CF 症例を当てはめて、その妥当性を検討していくことも必要と考えられた。

参 考 文 献

- 1) Yamashiro Y, Shimizu T, Oguchi S, Nagata S, Ohtsuka Y. The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997 ; 24 : 544-7.
- 2) Shwachman H, Kulczycki LL. Long-term study of one hundred five patients with cystic fibrosis. *Am J Dis Child* 1958 ; 96 : 6-15.
- 3) Taussing LM, Kattwinkel J, Friedewald WT, di Sant'Agnes PA. A new prognostic score and clinical evaluation system for cystic fibrosis. *J Pediatr* 1978 ; 82 : 380-90.

各個研究 I

— 急性膀胱炎 —

急性膵炎ラットの腹水中白血球機能における G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor) の役割

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 脱紅芳 阿部展次
杉山政則

要旨：(背景および目的) 急性膵炎での腹水中の白血球機能が感染症の成立や膵膿瘍の形成に重要な因子となるものと考え、G-CSFが腹水中の好中球機能におよぼす影響を検討した。(方法) 雄性 Wistar ラットに急性壊死性膵炎を惹起後 G-CSF を投与し、腹水の白血球数、貪食能、殺菌能を測定した。(結果) 腹水中の有貪食能白血球数は非投与群で $10 \pm 1.9 \times 10^5$, G-CSF 投与群では $22 \pm 4.3 \times 10^5$, 有殺菌能白血球数は非投与群 $20 \pm 6.1 \times 10^3$ に対し投与群 $60 \pm 14.5 \times 10^3$ といずれも投与群で有意に高値を認めた ($p < 0.05$)。(結語) G-CSF 投与後には貪食能と殺菌能を持つ機能保持細胞の増加が腹水中で確認できた。

背 景

急性膵炎の救命率改善には膵膿瘍や bacterial translocation (BT) に起因する敗血症の抑制が必須と考えられる。BT から敗血症への進展を阻止するための strategy として抗生剤の動注療法、G-CSF 投与、腸管血流低下の抑制や selective digestive decontamination などが行われ臨床でも成果をあげつつある^{1,2)}。イヌを使った急性膵炎実験モデルでは、G-CSF は細菌の遠隔移動を阻止し、救命率の向上に有効と報告されている^{3,4)}。

我々は腹水中の白血球機能が感染症の成立や膵膿瘍の形成に重要な因子となるものと考え、BT から敗血症発生のメカニズムを検討してきた。今回は G-CSF が腹水中の好中球機能におよぼす影響を検討した。

目 的

ラットを用いた膵管内胆汁酸投与後に発生する急性出血性膵炎モデルを作成し、G-CSF 投与後に腹水中白血球の機能として貪食能、殺菌能を測定した。

方 法

雄性 Wistar ラット (体重 220-250g) ネンブタール麻酔下に経十二指腸的に膵管内へ 3 Fr カニューレーションし、3% タウロコール酸 0.5ml / body を注入し急性壊死性膵炎を惹起した。G-CSF は頸静脈よ

り $10 \mu\text{g} / \text{h}$ で投与し, 1, 3 時間後に腹水採取, 白血球数, 貪食能, 殺菌能を測定した。

結 果

膵炎惹起 1 時間後に大動脈血中白血球は有意に減少 ($8000 \pm 650 / \text{mm}^3$ vs. 4400 ± 660 , 投与前, $p < 0.05$) したが, G-CSF 投与群では減少が抑制された。腹水中の有貪食能白血球は非投与群で $10 \pm 1.9 \times 10^5$, G-CSF 投与群では $22 \pm 4.3 \times 10^5$, 有殺菌能白血球は非投与群 $20 \pm 6.1 \times 10^5$ に対し投与群 $60 \pm 14.5 \times 10^5$ といずれも投与群で有意に高値を認めた ($p < 0.05$)。

考 察

アトランタシンポジウムでは膵感染に関しては infected pancreatitis, pancreatic abscess が採択され, 特に死亡率が高いため Widdison らは両者をあわせて “pancreatic infection” という概念で重症膵炎の検討を行っている⁵⁾。最近は BT が発症あるいは重症化に関与していることが明らかになり臨床上の対策にも腸管細菌のコントロールを含めたプロトコールが利用されている。

膵局所の感染成立には BT, 液性免疫, 細胞性免疫が複雑に関与すると推測できるが, 腹水中の白血球の動態も興味もたれる。我々は腹水中の白血球の機能不全が BT や膵感染の進展に関与すると仮説した。今回の実験では個々の機能改善には有効ではなかったが貪食能と殺菌能を持つ機能保持細胞の増加が腹水中で確認できた。今後は膵周囲での好中球の分布などへの研究のステップアップが必要とされる。

結 語

急性膵炎での感染進展の抑制化を考慮した G-CSF を用いた実験プロトコールを開始した。腹水, 大動脈中の機能的好中球における G-CSF の有効性が示唆された。

参 考 文 献

- 1) McClave SA, et al. Comparison of the safety of early enteral vs. parenteral nutrition in mild acute pancreatitis. J Parent Ent Nutr 1997; 21: 14-20.
- 2) Windsor ACJ, Kanwar S, Li AGK, et al. Compared with parenteral nutrition, enteral feeding attenuates the acute phase response and improves disease severity in acute pancreatitis. Gut 1998; 42: 431-5.
- 3) Rao R, Prinz RA, Kazantsev GB, et al. Effects of granulocyte colony stimulating factor in severe pancreatitis. Surgery 1996; 119: 657-63.
- 4) KazPeter FW, Schuschke DA, Barker JH, et al. The effect of severe burn injury on proinflammatory cytokines and leukocyte behavior: its modulation with GCSF. Burn 1999; 25: 477-86.
- 5) Widdison AL, Karanjia ND. Pancreatic infection complicating acute pancreatitis. Br J Surg 1993; 80: 148-54.

ラット急性膵炎に対する蛋白分解酵素阻害剤 (gabexate mesilate) 持続動注療法の検討

研究報告者 松野正紀

東北大学消化器外科

共同研究者 武田和憲 砂村真琴 渋谷和彦

江川新一 三上幸夫

要旨：急性膵炎に対する膵持続動注療法の基礎的研究は、技術的に難しく、報告例が少ない。そこで本研究ではラットを用いた膵持続動注モデルを作成し、ラット急性膵炎に対する蛋白分解酵素阻害剤 (gabexate mesilate) 膵持続動注療法の効果について検討した。本研究ではラット胃動脈に30G注射針を留置し、gabexate mesilateを動脈内に持続的に投与した。このモデルでは膵gabexate mesilate活性が十二指腸側に比べ、脾臓側では著明に高値であった。また、動脈内投与では、脾臓側における膵組織内濃度が静脈内投与に比べて約200倍以上高値であった。このモデルを利用してラット急性膵炎に対するgabexate mesilate膵持続動注療法を施行したところ、gabexate mesilate持続静脈内投与に比べて、膵壊死が著明に改善した。

はじめに

急性膵炎に対する抗生剤 (imipenem)、蛋白分解酵素阻害剤 (nafamostat mesilate) の膵持続動注療法は臨床的に効果を認めており¹⁻³⁾、本邦において普及しつつある。しかし、膵持続動注療法の動物実験による検討は少なく、imipenemやnafamostat mesilate以外の薬物の効果については、今だ不明な点も多い。膵持続動注療法に関するこれまでの実験的な報告は大動物 (イヌ) を用いたものが主であり⁴⁻⁶⁾、ラットなどの小動物での検討が可能になれば、膵持続動注療法に対する基礎的検討がさらに容易になるものと考えられる。

目的

ラットを用いて急性膵炎に対する膵持続動注モデルを作成し、蛋白分解酵素阻害剤膵持続動注療法 (gabexate mesilate) の効果を検討する。

対象と方法

1. 実験動物

実験には雄性 Wistar rat を用いた。実験開始の12時間前から絶食とし、水分摂取は可とした。全ての実験は〈東北大学における動物実験に関する指針〉に従った。

2. ラット胃動脈へのカニューレーションと色素注入

正常ラットの胃動脈を固定し、30G注射針を刺入、留置した。シリンジポンプを用いて2% Trypan blue (2 ml / hr) を逆行性に1時間持続投与した。

3. 膵蛋白分解酵素阻害剤 (gabexate mesilate) 濃度の測定

(1) 静脈内投与群には頸静脈内に24Gテフロンチューブをカニューレーションし、動脈内投与群には胃動脈内に30G注射針を逆行性にカニューレーションした。両群ともシリンジポンプを用いてgabexate mesilate (60mg / kg / hr) を持続的に投与し、投与開始から1時間後に膵十二指腸側および脾臓側を摘出した。摘出した臓器は速やかに-80℃で凍結保存し、膵組織中 gabexate mesilate 濃度を測定した。

(2) 胆膵管内に5% sodium taurocholate (1 ml / kg) を逆行性に注入して重症急性膵炎モデルを作成した。(1)と同様に膵炎作成10分後から gabexate mesilate を静脈内あるいは動脈内に持続的に投与し、1時間後に膵十二指腸側および脾臓側を摘出した。摘出した臓器は速やかに-80℃で凍結保存し、膵組織中 gabexate mesilate 活性を測定した。

4. 投与経路による急性膵炎に対する gabexate mesilate の効果

胆膵管内に5% sodium taurocholate (1 ml / kg) を逆行性に注入して重症急性膵炎モデルを作成した。対象群として5% sodium taurocholate の代わりに同量の生理的食塩水を投与した群 (A; Control 群) を設定した。膵炎作成の10分後から (B) 生理的食塩水 (2 ml / hr, i.v) (生食群), (C) gabexate mesilate (60mg / kg / hr, i.v) (静注群), (D) gabexate mesilate (60mg / kg / hr, i.a) (動注群) を1時間投与した。また、(A) 群には生理的食塩水 (2 ml / hr, i.v) を1時間投与した。膵炎作成後6時間目に膵脾臓側を摘出し、肉眼的所見および組織学的所見を各群間で比較検討した。

結 果

1. 色素投与後の膵肉眼的所見 (図1)

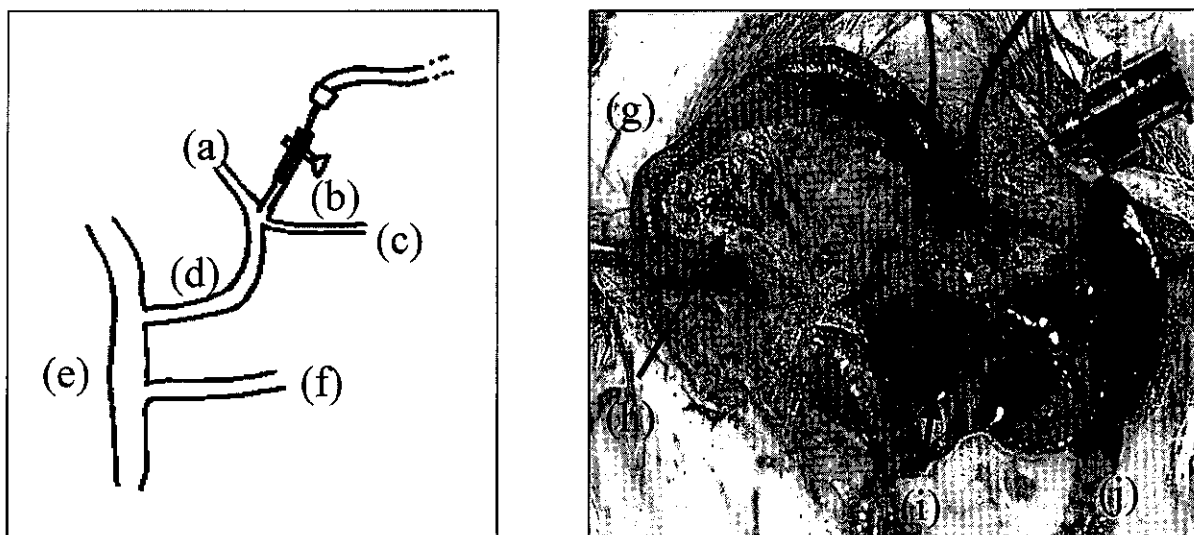
胃動脈から Trypan blue を逆行性に投与したところ、膵十二指腸側に比べ、脾臓側が非常に強く染色された。

2. 膵蛋白分解酵素阻害剤 (gabexate mesilate) 濃度 (表1)

静注群においては、正常ラット、膵炎ラットともに、膵 gabexate mesilate 濃度が十二指腸側と脾臓側では同程度であったが、動注群においては十二指腸側に比べ、脾臓側では著明に高値であった。また、動注群では正常ラット、膵炎ラットともに脾臓側における膵 gabexate mesilate 濃度が静注群に比べ約200倍以上、高値であった。

3. 膵肉眼所見および膵組織学的所見 (図2, 3)

膵肉眼所見では生食群、静注群ともに著明な膵の浮腫と壊死を認めたが、動注群では膵の浮腫のみであり、壊死は認めなかった。膵組織学的所見でも生食群、静注群ともに著明な膵の浮腫と壊死を認めたが、動注群では膵の浮腫のみであり、壊死は認めなかった。



(A)

(B)

図 1

(A)ラット臍周囲局所解剖（動脈系）；

(a)肝動脈，(b)胃動脈，(c)脾動脈，(d)腹腔動脈，(e)大動脈，(f)腸間膜動脈
胃動脈に30G注射針を留置し，シリンジポンプに接続して逆行性に臍
持続動注を施行した。

(B)臍肉眼所見；

(g)十二指腸，(h)臍頭部，(i)臍体尾部，(j)脾臓
十二指腸側に比べ，脾臓側が非常に強く染色された。

表 1. Gabexate mesilate 臍組織内濃度 ($\mu\text{g}/\text{g tissue}$)

	(1) 正常ラット		(2) 臍炎ラット	
	十二指腸側	脾臓側	十二指腸側	脾臓側
静注群	0.8±0.1	0.6±0.1	0.6±0.2	0.4±0.1
動注群	28.8±16.1	136.7±35.0	39.4±3.2	84.2±31.5

Mean±S.E.