

图 2. 胰脾臟側肉眼所見

(A) Control 群, (B)生食群, (C) gabexate mesilate 靜注群, (D) gabexate mesilate 動注群

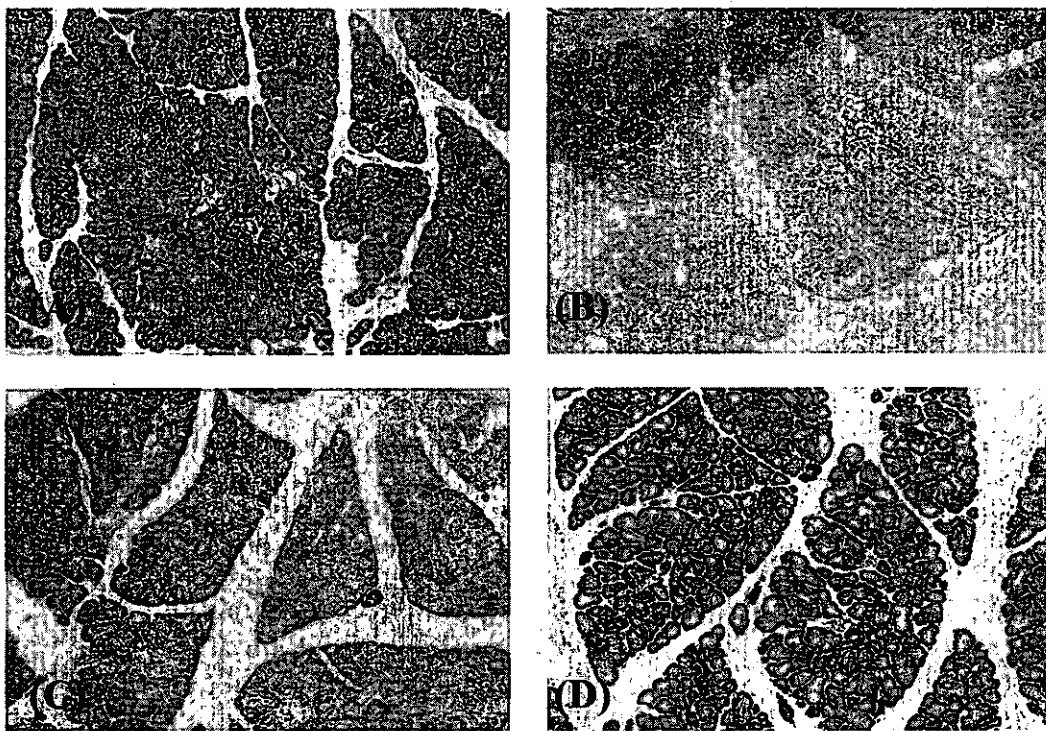


图 3. 脾組織学的所見 (Original magnification x 200)

(A) Control 群, (B)生食群, (C) gabexate mesilate 靜注群, (D) gabexate mesilate 動注群

考 察

急性膵炎に対する膵持続動注療法の実験的検討は手技的に難しく、報告例は少ない。これまでの報告例としては、武田, Kakugawaら^{4,5)}がイヌを用いて、胃動脈から逆行性に nafamostat mesilate を持続的に投与し、膵壊死の軽減効果を認めている。また、Takagiら⁶⁾もイヌを用いて腸間膜動脈から imipenem を持続的に投与し、感染性膵壊死の改善効果を認めている。しかし、これらはいずれも大動物（イヌ）を用いたものであり、薬物効果判定のためのスクリーニングモデルとしては適当ではなく、また、測定項目も限られる。そこで、ラットなどの小動物を用いて、急性膵炎に対する膵持続動注療法の検討が可能になれば、薬物スクリーニングモデルとして使用でき、基礎的検討が容易になるものと期待される。Keckら⁷⁾はラットの大腿動脈からカテーテルを挿入し、腹部大動脈の腹腔動脈分岐部近傍にカテーテルの先端を留置して、急性膵炎に対する nafamostat mesilate の膵持続動注を行っている。彼等はこの方法により nafamostat mesilate の静脈内投与に比べて、膵への炎症性細胞浸潤が軽減したと報告している。しかし、この報告では nafamostat mesilate の膵組織内濃度までは測定しておらず、腹腔動脈分岐部近傍へのカテーテル留置によって静脈内投与に比べ、どれだけ膵組織への選択的投与が可能となったのかは不明である。そこで今回、我々は、ラット膵周囲動脈系の解剖を明らかにし、より選択的な膵への持続動注療法の確立を目的とした。色素注入による検討から、ラット膵十二指腸側は腸間膜動脈領域の血管支配であり、脾臓側は脾動脈領域の血管支配であった。当初、順行性の薬剤投与を検討したが、ラット腹腔動脈や腸間膜動脈に直接穿刺を行うと血管閉塞を生じ、灌流領域の虚血性変化を生じた。そこで、腹腔動脈の分枝である、胃動脈から逆行性投与を行ったところ、膵脾臓側が選択的に強く染色され、膵および肝の虚血性変化は生じなかった。胃幽門側および十二指腸口側には虚血性変化を生じたが、軽度であった。次に実際、蛋白分解酵素阻害剤 (gabexate mesilate) を投与し、gabexate mesilate の膵組織内濃度を測定した。膵組織内濃度は静脈内投与では十二指腸側、脾臓側ともに同程度であったのに対して、動脈内投与では十二指腸側に比べて脾臓側では著明に高値であった。また、動脈内投与では正常ラット、膵炎ラットともに脾臓側での gabexate mesilate 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。以上より、本研究で作成したラット胃動脈からの薬物逆行性投与モデルはラット膵脾臓側に対する選択的な薬物動注モデルであると考えられた。

本研究ではこのラット膵持続動注モデルを利用してラット急性膵炎（5%タウロコール酸膵炎）に対する gabexate mesilate 膵持続動注療法の効果について検討した。ラット急性膵炎における gabexate mesilate 静脈内持続投与の膵局所に対する効果肉眼所見および組織学的所見からは明らかでなかった。しかし、gabexate mesilate 動脈内持続投与では膵壊死が著明に改善しており、静脈内投与に比べて著しい改善効果を認めた。本研究で用いた5%タウロコール酸膵炎は最重症膵炎モデルとして広く認識されており、gabexate mesilate 静脈内投与では膵炎の進展を防ぐのに十分な gabexate mesilate の組織内濃度が得られなかったのに対して、動脈内投与では逆に十分な gabexate mesilate の組織内濃度が得られたために膵炎の進展を防ぐことが可能であったと考えられた。

以上、本研究ではラットを用いた膵持続動注モデルを作成した。ラット急性膵炎に対する gabexate mesilate 持続動注療法は静脈内持続投与に比べて有効であった。

参 考 文 献

- 1) Nakase H, Itani T, Mimura J, Kawasaki T, Komori H, Okazaki K, Chiba T. Successful treatment of severe acute pancreatitis by the combination therapy of continuous arterial infusion of a protease inhibitor and continuous hemofiltration. *J Gastroenterol Hepatol* 2001 ; 16 : 944-5.
- 2) Takeda K, Matsuno S, Sunamura M, Kobari M. Surgical aspects and management of acute necrotizing pancreatitis : recent results of a cooperative national survey in Japan. *Pancreas* 1998 ; 16 : 316-22.
- 3) Takeda K, Matsuno S, Sunamura M, Kakugawa Y. Continuous regional arterial infusion of protease inhibitor and antibiotics in acute necrotizing pancreatitis. *Am J Surg* 1996 ; 171 : 394-8.
- 4) 武田和憲, 松野正紀, 砂村真琴, 宮川菊雄, 佐藤寿雄. 実験的急性膵炎に対するトリプシン阻害剤持続動注療法の効果. *膵臓* 1987 ; 2 : 27-34.
- 5) 角川陽一郎, 武田和憲, 砂村真琴, 他. 十二指腸盲管法による実験的急性膵炎に対する蛋白分解酵素阻害剤持続動注療法の効果. *日消誌* 1990 ; 87 : 1444-50.
- 6) Takagi K, Isaji S. Therapeutic efficacy of continuous arterial infusion of an antibiotic and a protease inhibitor via the superior mesenteric artery for acute pancreatitis in an animal model. *Pancreas* 2000 ; 21 : 279-89.
- 7) Keck T, Balcom JH, Antoniu BA, Lewandrowski K, Warshaw AL, Fernandez-del Castillo CF. Regional effects of nafamostat, a novel potent protease and complement inhibitor, on severe necrotizing pancreatitis. *Surgery* 2001 ; 130 : 175-81.

化学療法における急性膵炎の発生

研究報告者 池 井 聰

国立熊本病院外科

共同研究者 河 野 文 夫 真 田 功 片 淵 茂
芳 賀 克 夫 山 下 眞 一 高 木 一 孝

要旨：化学療法中に発症する急性膵炎の実態の解明は不十分である。白血病，悪性リンパ腫等に対する化学療法に用いる制癌剤の種類と急性膵炎・高アマラーゼ血症の発症の関連を検討したが，複数の薬剤を同時に投与しており，特定の薬剤を同定する事は出来なかった。ただ ASP (L-asparaginase) を用いた化学療法中には，ASP を用いない時に比較して血中アマラーゼの最高値が有意に上昇し，急性膵炎・高アマラーゼ血症の発症率が高くなる傾向がみられた。また nafamostat mesilate (FUT) の投与は，ASP を含む化学療法時の血中アマラーゼの最高値，急性膵炎・高アマラーゼ血症発症率を減少させる傾向がみられた。

背 景

白血病，悪性リンパ腫等の治療として造血幹細胞移植療法が多く行われており，移植治療時には急性膵炎が発症する危険性が有ることを報告してきた^{1,2)}。白血病，悪性リンパ腫等の治療においては，移植前に寛解導入療法に始まり，数回の地固め療法が，また HLA 適合ドナーが無ければさらに強力維持療法・強化療法として通常の化学療法が行われる。造血幹細胞移植療法以外のこれらの化学療法中にも急性膵炎は発症する事があるが，その実態の解明は不十分である。

目 的

化学療法中の急性膵炎・高アマラーゼ血症の発症と特定の制癌剤との関連を明らかにし，急性膵炎発症の予防法を検討する。

対 象 と 方 法

対象は平成4年より平成13年12月まで国立熊本病院血液内科・小児科において，加療した急性骨髄性白血病，慢性骨髄性白血病，急性リンパ性白血病，骨髄異形成症候群，芽球増加型不応性貧血，骨髄腫の計68例である。これらの症例に寛解導入療法，地固め療法，強力維持・強化療法を計212回（クール）行った。これらの療法で使用された主な制癌剤10種類：adriamycin (ADR)，cytarabine (Ara-C)，L-asparaginase (ASP)，enocitabine (BHAC)，cyclophosphamide (CY)，etoposide (ETP)，mitomycin C (MMC)，methotrexate (MTX)，6-mercaptopurine (6MP)，vincristine (VCR) と急性膵炎・高

アミラーゼ血症との関連を検討した。

次に、これらの症例の中で ASP を使用した18例、治療回数38回（クール）と ASP 非使用50例、治療回数174回（クール）との間で、血中アミラーゼ値、急性膵炎、高アミラーゼ血症の発症率を比較検討した。

さらに9例各1回（クール）のASP使用化学療法時にFUT 150mg/body/dayを点滴静注し、FUTを投与しないで同様の化学療法を行った症例を対照として血清アミラーゼ値、CRP値、急性膵炎・高アミラーゼ血症の発症率を比較検討した。

なお急性膵炎の診断並びに重症度判定は厚生省特定消化器系疾患調査研究班難治性膵疾患分科会研究報告書（平成10年度版、班長 小川道雄）³⁾によった。高アミラーゼ血症は異常高値かつ治療前の2倍以上に上昇したものとした。

結 果

検討を行った10種類の制癌剤は複数の薬剤を同時に投与されており、急性膵炎・高アミラーゼ血症との関連を示す薬剤を同定する事は出来なかった。

治療中の血清アミラーゼの最高値は ASP 使用例は 181 ± 46 IU/l（正常値40-160 IU/l）、ASP 非使用例は 126 ± 41 IU/l で有意に ASP 使用例が上昇していた（図1）。

ASP 使用例18例での高アミラーゼ血症発症は6例（33.3%）、非使用例50例では8例（16%）で有意差はないが ASP 使用例が高い傾向であった。治療回数（クール）での検討では ASP 使用38回（クール）での高アミラーゼ血症発症は13回（34.2%）で、非使用例174回（クール）では24回（17.8%）で有意差を持って ASP 使用時の高アミラーゼ血症発症率が高率であった。急性膵炎の発症は ASP 使用例18例中2例（11.1%）、非使用例50例中1例（2%）で有意差を認めなかった（図2）。

ASP を含む化学療法における FUT の投与は、有意差は無いが血清アミラーゼ、CRP の最高値の上昇が抑制される傾向があった（図3）。ASP を含む化学療法での高アミラーゼ血症の発症は FUT 使用時には9例中2例、FUT 非使用時には9例中4例で有意差は無いが FUT 使用時に発症が減少する傾向があった。検討した症例では急性膵炎の発症は無かった。

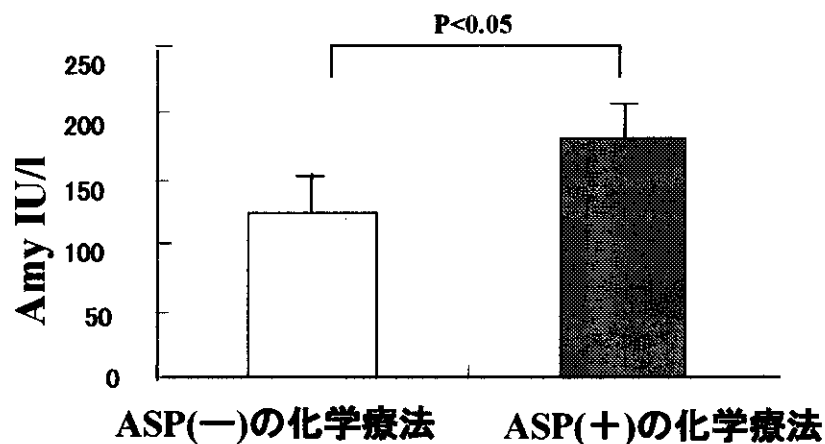


図1. 血中アミラーゼの最高値

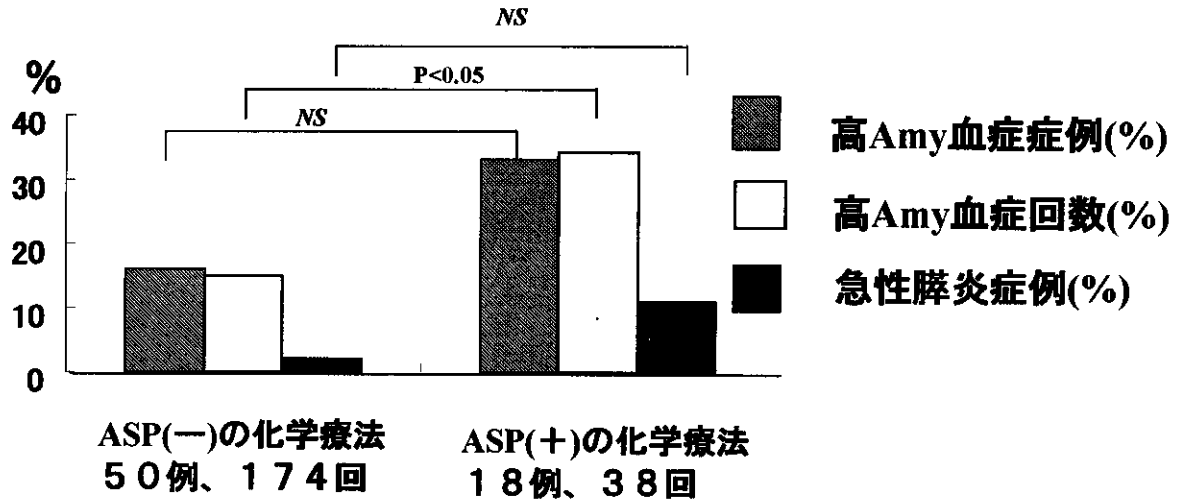


図2. 高アミラーゼ血症・急性膵炎発症率

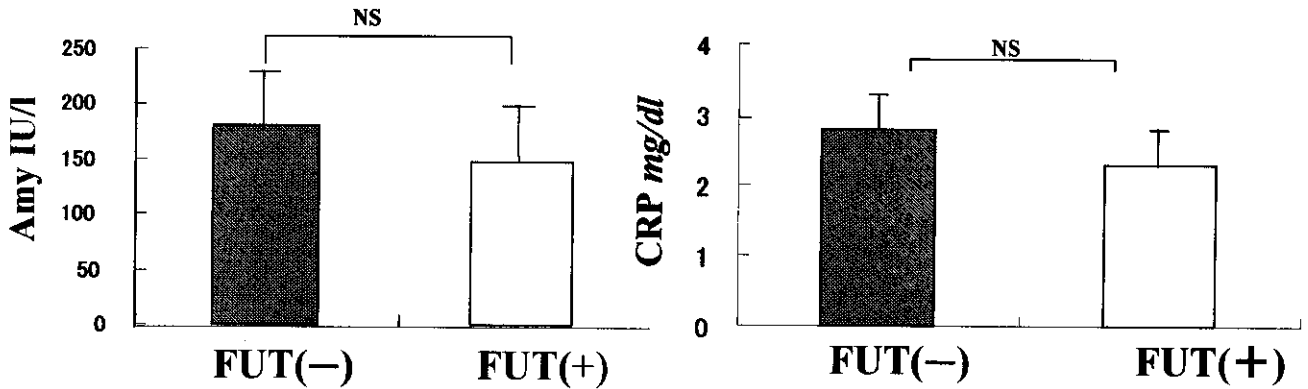


図3. FUTの血中アミラーゼ, CRPの最高値に及ぼす影響

考 案

白血病, 悪性リンパ腫等に対する造血幹細胞移植療法の治療中に急性膵炎が発症することを報告してきた^{1,2)}。白血病, 悪性リンパ腫等の治療は, まず化学療法として寛解導入療法に始まり, 数回の地固め療法が行われて, 完全寛解が得られた時点でHLA 適合ドナーが有れば造血幹細胞移植療法, ドナーが無ければ強力維持療法・強化療法が行われる。造血幹細胞移植療法以外のこれらの化学療法中にも急性膵炎の発症があるが, その実態の解明は不十分である。

今回, 抗癌剤の種類と急性膵炎発症との関連を明らかにするために, 多く用いられている10種類の抗癌剤について検討を行ったが, 同時に多剤併用で使用されており, 急性膵炎発症と関連のある特定の抗癌剤を同定することは出来なかった。そこで急性膵炎発症の報告⁴⁻⁶⁾があり, また我々も経験したことのあるASPに注目した。ASPを含む化学療法中はASP非使用の化学療法中に比して血清アミラーゼの最高値, 高アミラーゼ血症発症率ともに上昇していた。血中アミラーゼ値の上昇は腹部症状と併せて急性膵炎発症の重要なマーカーである。化学療法中, 特にASP使用時には, 急性膵炎発症を念頭に置き腹部症状の有無, 腹部超音波検査とともに経時的な血清アミラーゼの測定が必要である。

ASP は特に小児の白血病，悪性リンパ腫等に対して多く使用されているが，その抗腫瘍性は生体内の L-asparagine を分解枯渇させ L-asparagine 要求性の腫瘍細胞の蛋白合成を阻害する事にある⁷⁾。従って肝や膵の蛋白合成が阻害されることにより α_1 -antitrypsin, α_2 -macroglobulin や膵分泌性トリプシンインヒビター (PSTI) などの酵素阻害蛋白の減少が急性膵炎の発症と関係している可能性がある。ASP 使用の化学療法中には減少した酵素阻害蛋白を補うために合成蛋白分解酵素阻害剤の投与は意味のあることと考えられる。

今回の FUT の投与は有意差は無いが血清アミラーゼ，CRP の最高値の上昇を抑制し，高アミラーゼ血症の発症が減少する傾向があった。ASP は急性膵炎以外にも血中 AT III を低下させ血栓性・出血性脳血管障害も惹起することがあり⁷⁾，FUT の使用はこれらの疾患の予防効果も期待できる。

化学療法中，特に ASP 使用時には急性膵炎の発症の有無をチェックし，血清アミラーゼ値の上昇を認めたら早期のプロテアーゼインヒビター投与が必要であると考ええる。

参 考 文 献

- 1) 池井 聰，片瀨 茂，芳賀克夫，山下眞一，河野文夫，清川哲志，真田 功，高木一孝. 大量化学療法による急性膵炎. 厚生省特定疾患対策事業難治性膵疾患に関する調査研究班 (班長 小川道雄) 平成11年度研究報告書. 2000 ; 96-100.
- 2) 池井 聰，河野文夫，清川哲志，真田 功，片瀨 茂，芳賀克夫，山下眞一. 骨髄・末梢血幹細胞移植併用大量化学療法における急性膵炎の発生. 厚生省特定疾患対策事業難治性膵疾患に関する調査研究班 (班長 小川道雄) 平成12年度研究報告書. 2001 ; 115-8.
- 3) 小川道雄，広田昌彦，早川哲夫，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. 急性膵炎の Stage 分類. 厚生省特定疾患消化器系疾患調査研究班難治性膵疾患分科会平成10年度研究報告書 (班長 小川道雄). 1999 ; 19-22.
- 4) Shimizu T, Yamashiro Y, Igarashi J, Fujita H, Ishimoto K. Increased serum trypsin and elastase-1 levels in patients undergoing L-asparaginase therapy. *Eur J Pediatr* 1998 ; 157 : 561-3.
- 5) Garrington T, Bensard D, Ingram JD, Silliman CC. Successful management with octreotide of a child with L-asparaginase induced hemorrhagic pancreatitis. *Oncology* 1998 ; 30 : 106-9.
- 6) 久野生子，白鳥敬子，清水京子，星野容子，土屋典子，林 直諒，溝口秀昭. L-アスパラギナーゼによる重症急性膵炎の1小児例. *日消誌* 2001 ; 98 : 1374-8.
- 7) 上田一博. L-アスパラギナーゼ その副作用と予防対策. *日本小児血液学会雑誌* 1999 ; 13 : 68-78.

急性膵炎における metallothionein

研究報告者 木村 理

山形大学第一外科

共同研究者 神賀正博 平井一郎 布施 明

要旨： Metallothionein (以下 MT) は細胞内金属結合蛋白で、重金属の代謝解毒に関する役割が提唱されてきたが、最近では free radical scavenger としての作用も報告されている。そこで我々は MT の抗酸化作用に注目し、セルレイン膵炎における MT の作用について検討した。

1) MT 誘導目的で亜鉛またはカドミウムを投与すると、膵内 MT はそれぞれ対照群の約16倍、3.3倍と著明に増加し、さらに MT 誘導状態で膵炎を作成すると、膵酵素上昇、膵浮腫が著明に改善した。
2) DDC 投与にて SOD 抑制状態を作成しても、MT の誘導によりセルレイン膵炎の進展が抑制された。以上の結果から、MT は急性膵炎に対する抗酸化防御機構において重要な役割を担っていると推定された。

はじめに

Metallothionein (以下 MT) は分子量約6500の細胞内金属結合蛋白であり、システインが構成アミノ酸の1/3を占め、芳香族アミノ酸を含まず、通常1分子あたり7個の金属原子と結合する¹⁾。その生理作用として有害金属の解毒作用、必須金属の恒常性の維持等が報告されている¹⁾。一方、MT は各種ストレスやエンドトキシン²⁾、グルココルチコイド³⁾、サイトカイン⁴⁾ などによって誘導されることが示されており、free radical scavenger としての組織保護作用も報告されている⁵⁾。しかし、MT に関する報告は肝、腎に関するものが多く、膵に関する報告はきわめて少ない。

現在 free radical は急性膵炎の重症化に関与する因子の一つと考えられているが、我々は MT の抗酸化作用に着目し、MT 誘導の急性膵炎に対する影響について検討した。

対象と方法

実験には Wistar 系雄性ラット (体重約200g) を使用し、膵炎作成約12時間前から実験終了まで絶食とした。急性膵炎はセルレイン (100 μ g/kg 体重) を腹腔内に単回投与し作成した。

実験1：金属による MT 誘導とセルレイン膵炎に対する影響

ラットに亜鉛 (5 mg/kg 体重) またはカドミウム (2 mg/kg 体重) を24時間間隔で2回腹腔内投与し、最終投与24時間後にセルレインを投与した。セルレイン投与前に膵内 MT を、セルレイン投与6時間後に血中膵酵素、膵重量体重比を測定した。膵重量体重比は全膵湿重量 (mg) を体重 (g) で割った値で、膵浮腫の指標とした。

実験2：SOD 抑制状態における MT 誘導のセルレイン膵炎に対する影響

セルレイン投与24時間前に亜鉛 (5 mg / kg 体重) を腹腔内投与, 1時間前に Diethyldithiocarbamate (DDC) 500mg / kg 体重を皮下注した。セルレイン投与前に脾内 MT と SOD を, セルレイン投与6時間後に血中膵酵素, 脾重量体重比を測定した。

結 果

(1) 亜鉛, カドミウム投与後の脾内 MT

亜鉛またはカドミウムを投与すると, 脾内 MT は亜鉛投与群では $6824.8 \pm 856.8 \mu\text{g} / \text{g protein}$, カドミウム投与群では $1393.6 \pm 287.6 \mu\text{g} / \text{g protein}$ となり, それぞれ無処置群 ($425.3 \pm 108.1 \mu\text{g} / \text{g protein}$) の約16倍, 約3.3倍と著明に増加していた ($P < 0.01$, 図1)。

(2) MT 誘導のセルレイン膵炎に対する影響

金属投与にて MT を誘導後セルレイン膵炎を作成すると, 6時間後の血中アミラーゼは無処置群が $10613.4 \pm 1861.0 \text{IU} / \text{l}$ であるのに対し, 亜鉛投与群では $2331.7 \pm 890.6 \text{IU} / \text{l}$, カドミウム投与群では $3973.3 \pm 3095.2 \text{IU} / \text{l}$ となり, 金属投与群では有意に低値を示した ($P < 0.01$, 図2 a)。血中リパーゼも同様に無処置群 $1998.2 \pm 543.8 \text{IU} / \text{l}$, 亜鉛投与群 $67.2 \pm 57.6 \text{IU} / \text{l}$, カドミウム投与群 $146.1 \pm 110.8 \text{IU} / \text{l}$ となり, 金属投与群で有意に低値を示した ($P < 0.01$, 図2 b)。脾浮腫の指標とした脾重量体重比は, 無処置群が 9.70 ± 0.86 であるのに対し, 亜鉛投与群は 5.42 ± 0.42 , カドミウム投与群では 5.40 ± 0.61 となり, 金属投与により脾浮腫が有意に改善した ($P < 0.01$, 図2 c)。

(3) DDC 投与の脾内 MT, SOD 活性に対する影響

DDC のみを投与しても 1 時間後の脾内 MT は無処置群と比較し有意差を認めなかった (図3 a)。一方, 脾内 SOD 活性は著明に低下し, 特に Cu / Zn-SOD 活性が強く抑制されていた (図3 b)。

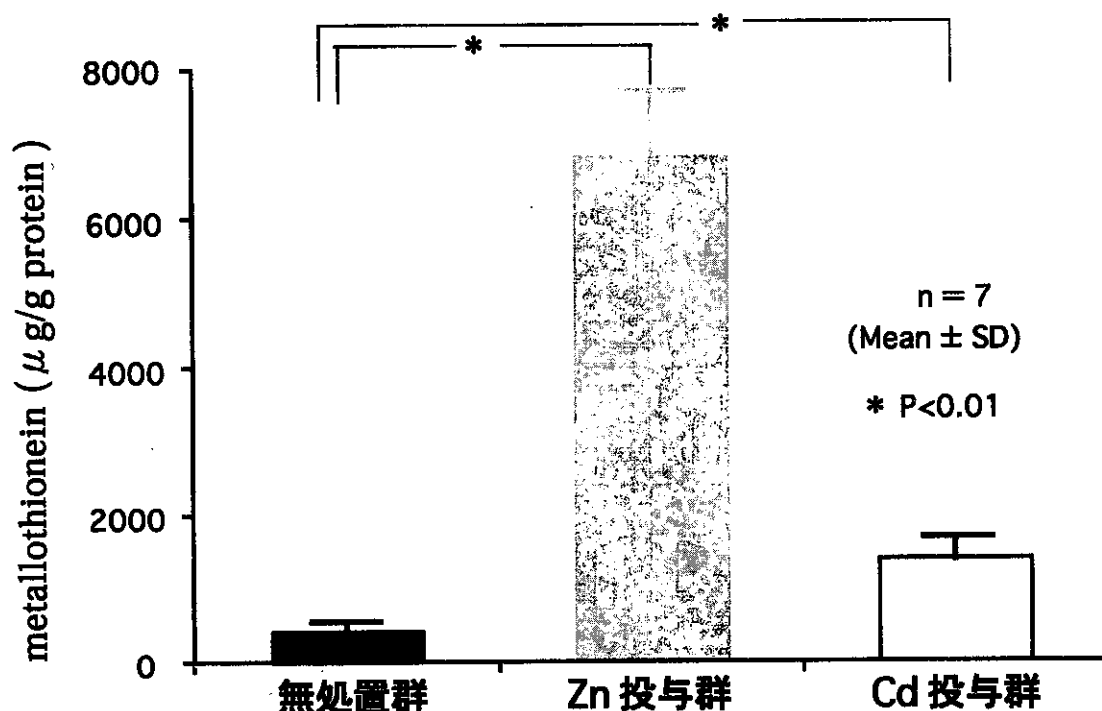


図1. 金属投与後脾内 MT

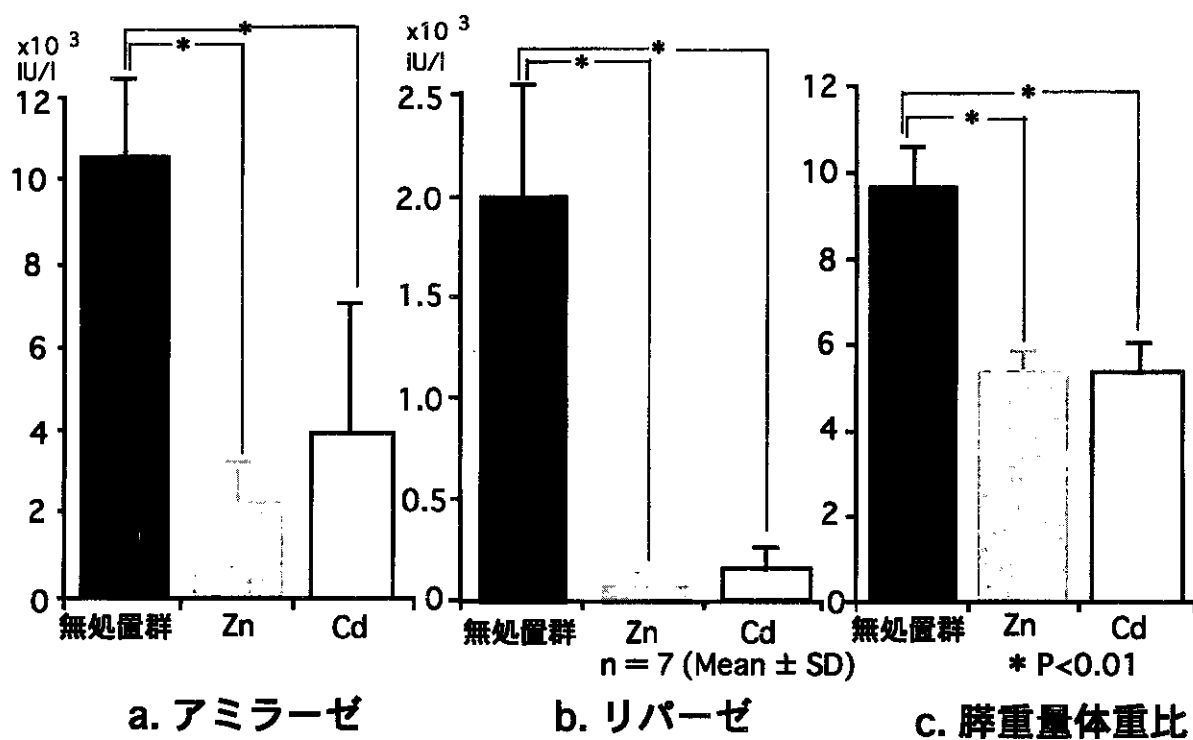


図 2. MT 誘導のセルレイン膵炎に対する効果

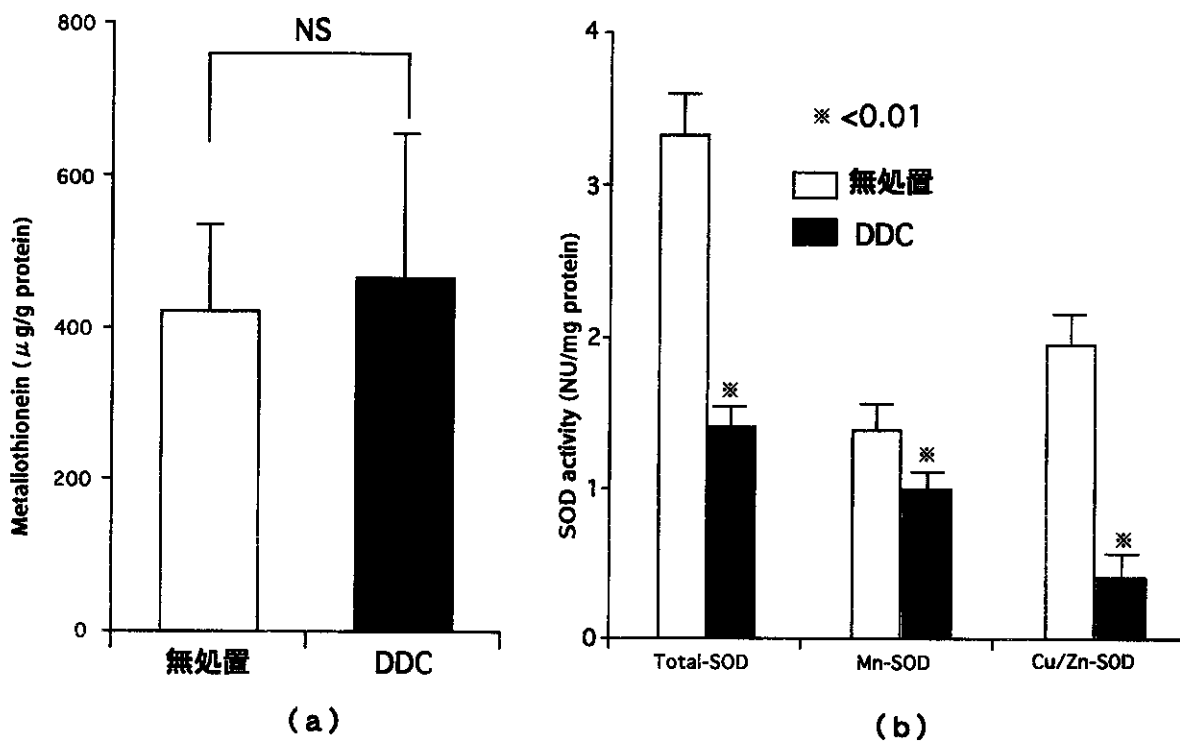


図 3. DDC 投与後の脾内 MT と SOD

(4) 亜鉛と DDC 投与の膵内 MT, SOD 活性に対する影響

亜鉛を投与し、さらに23時間後に DDC を投与すると、膵内 MT は $6447.4 \pm 791.3 \mu\text{g/g protein}$ となり、DDC 単独群のほぼ13.8倍に達していた (図4 a)。しかし、膵内 SOD 活性は亜鉛と DDC を投与しても DDC のみを投与した場合と同様に低下していた (図4 b)。

(5) 亜鉛と DDC 投与のセルレイン膵炎に対する影響

亜鉛と DDC 投与にて MT 誘導 SOD 抑制状態とした後にセルレイン膵炎を作成したところ、6時間後では血中アミラーゼ、リパーゼ、膵重量体重比のいずれも DDC 単独群と比較して有意に低下していた。また無処置群と比較しても有意に低値であった (図5)。

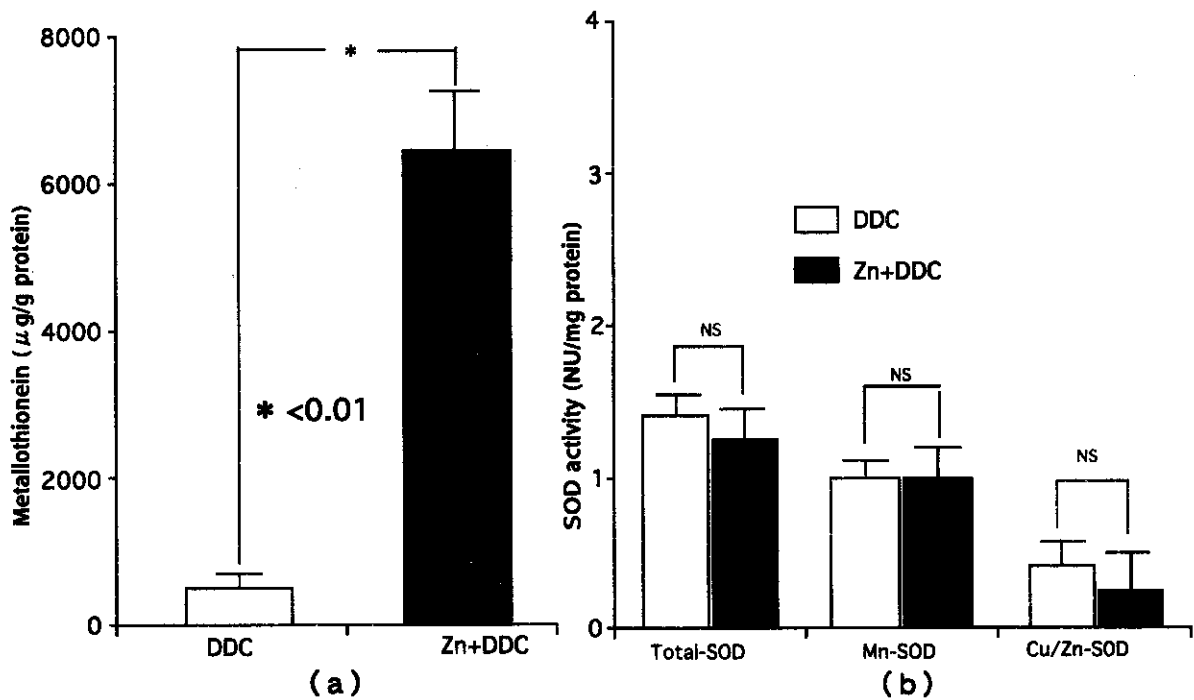


図4. DDC, Zn + DDC 投与の膵内 MT, SOD に対する影響

考 察

MT は多量の金属を含む低分子蛋白として発見され、主に重金属毒性や必須微量金属代謝の面から研究されてきたが、最近では炎症や組織障害における急性相蛋白であるとも考えられている⁶⁾。また free radical scavenger としての組織保護作用も提唱されている⁶⁾。そこで本研究では、free radical の関与が指摘されているラットセルレイン膵炎における MT の作用を検討した。

まず、あらかじめ MT を誘導後セルレイン膵炎を作成した。MT 誘導物質としては亜鉛とカドミウムを選択した。亜鉛は膵における有力な MT 誘導金属とされているが、以前から膜安定作用や NADPH-cytochrome c reductase 活性阻害, glutathione peroxidase 活性刺激による free radical 産生抑制作用も報

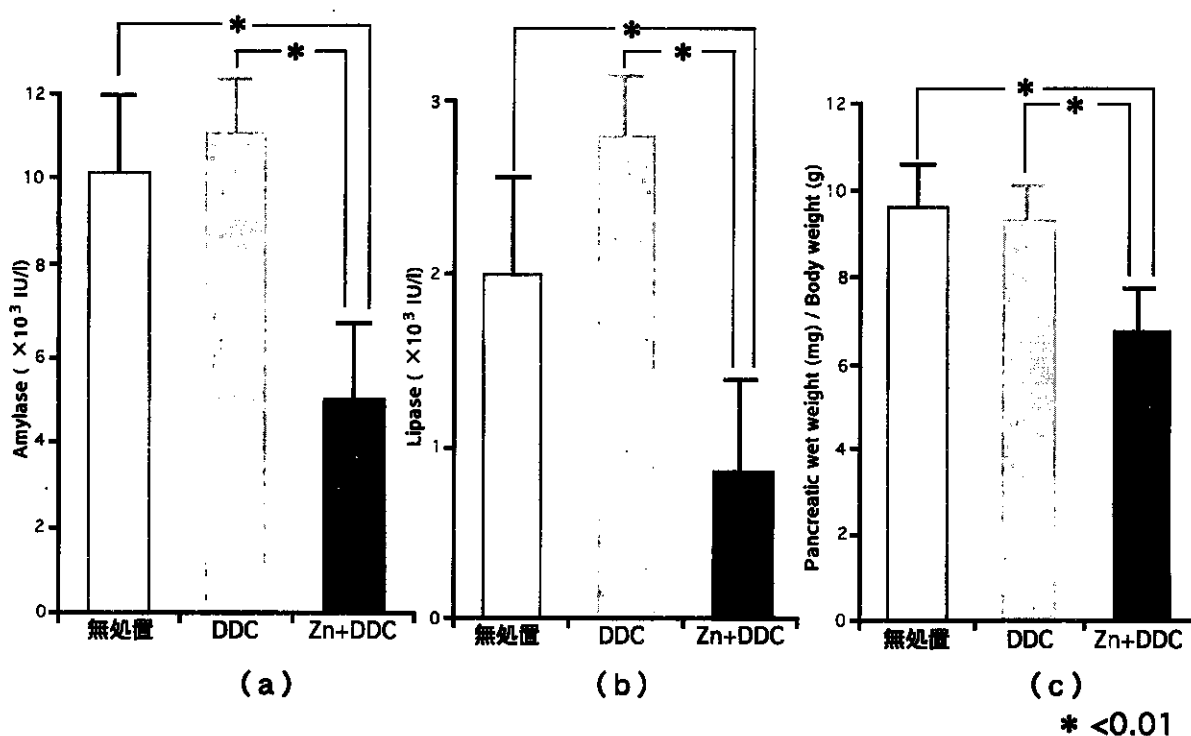


図5. DDC, Zn + DDC 投与のセルレイン膵炎に対する影響

告されていることから、あえて有害物質であるカドミウムも誘導物質として選択した。亜鉛による MT 誘導では、MT 以外に還元型 glutathione の増加も指摘されており、MT 以外の抗酸化機構によって膵炎が軽症化した可能性は否定できない。一方、カドミウム投与では catalase や glutathione peroxidase 活性の低下が報告されており⁷⁾、カドミウムの前投与により抗酸化機構は抑制状態にあると推定される。しかしカドミウムによる MT 誘導でも膵炎は改善しており、MT がその抗酸化作用により膵炎の重症化を抑制した可能性が示唆された。

実験2では急性膵炎における MT と他の抗酸化機構、特に SOD との関係を探るため、DDC 投与により SOD 抑制状態を作成し、MT の誘導が実験1と同様の作用を発現しうるかどうかが検討した。DDC は強力な銅のキレート剤であり、投与早期に SOD 活性を抑制することが報告されている^{8,9)}。今回用いた 500mg/kg 体重で死亡例はなく、投与1時間後で膵組織中 SOD 活性は有意に低下していた。SOD は O_2^- を H_2O_2 と O_2 に不均化する酵素であり、その抑制により O_2^- が増加し組織障害をもたらすと考えられる⁹⁾。 O_2^- は O_2 から生成する最初の還元体であり、他の free radical の前駆体となる。また O_2^- の組織障害機序として NO と O_2^- の反応によって発生する ONOO⁻ の重要性も指摘されている^{10,11)}。このような SOD 抑制状態における MT の急性膵炎に対する組織保護作用を検討するため、セルレイン投与24時間前に亜鉛を投与した。亜鉛の前投与により、DDC 投与後でも膵内 MT は著明に増加していた。しかし亜鉛を前投与しても DDC による SOD 活性抑制効果は変化しなかった。このような MT 誘導 SOD 抑制状態でセルレイン膵炎を作成すると、実験1と同様に血中アミラーゼ・リパーゼ、膵浮腫が有意に改善した。このことから SOD 低下による相対的に酸化的ストレスへの耐性が低下した状態であっても、セルレイン膵炎は MT の誘導により改善することが判明した。

以上の結果から、MTは急性膵炎における抗酸化防御機構において重要な役割を担っていると推定された。今後は亜鉛、カドミウムなどのMT誘導物質自体の影響を除外しMTの直接的な作用を確認するために、MTの発現を抑えたMT欠損マウス等を用いた検討が必要と思われる。さらに、MTとSOD以外のfree radical scavengerとの関係、そしてこれが最も関心のある点であるが、発症後の急性膵炎に対してMTの投与が治療効果を示すかどうか、検討して行きたいと考えている。

参 考 文 献

- 1) 鈴木和夫. メタロチオネインの構造と機能. 日本臨牀1996; 54: 33-9.
- 2) De S K, McMaster M T, Andrews G K. Endotoxin induction of murine metallothionein gene expression. J Biol Chem 1996; 265: 15267-74.
- 3) Bracken W M, Klaassen C D. Induction of metallothionein by steroids in rat primary hepatocyte cultures. Toxicol Appl Pharmacol 1987; 87: 381-8.
- 4) Sato M, Sasaki M, Hojo H. Antioxidative roles of metallothionein and manganese superoxide dismutase induced by tumor necrosis factor- α and interleukin-6. Arch Biochem Biophys 1995; 316: 738-44.
- 5) Thornalley P J, Vasak M. Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. Biochim Biophys Acta 1985; 827: 36-44.
- 6) Sato M, Sasaki M, Hojo H. Induction of metallothionein by oxidative stress and possible role in acute phase response. In: Suzuki KT, Imura N, Kimura M, editors. Metallothionein III Biological Roles and Medical Implications. Basel: Birkhauser Verlag, 1993: 125-40.
- 7) Jamall I S, Smith J C. Effects of cadmium and dietary selenium on cytoplasmic and mitochondrial antioxidant defense systems in the heart of rats fed high dietary copper. Toxicol Appl Pharmacol 1987; 87: 102-10.
- 8) Heikkila RE, Cabbat FS, Cohen G. In vivo inhibition of superoxide dismutase in mice by diethyldithiocarbamate. J Biol Chem 1976; 251: 2182-5.
- 9) Ogino K, Oka S, Matsuura S, Sakaida I, Yoshimura S, Matsuda K, et al. Ulcer formation in rat stomach with diethyldithiocarbamate. J Clin Biochem Nutr 1987; 3: 189-93.
- 10) Miller MJS, Thompson JH, Zhang X, Sadowska-Krowicka H, Kakkis JL, Munshi UK, et al. Role of inducible nitric oxide synthase expression and peroxynitrite formation in guinea pig ileitis. Gastroenterology 1995; 109: 1475-83.
- 11) Lamarque D, Whittle BJR. Role of oxygen-derived metabolites in the rat gastric mucosal injury induced by nitric oxide donors. Eur J Pharmacol 1995; 277: 187-94.

膵管閉塞による膵星細胞の活性化について

研究報告者 黒田嘉和
神戸大学消化器外科学

共同研究者 竹山宜典 上田隆岸 真示

はじめに

最近、膵線維化において膵星細胞の関与が重要視されており、膵星細胞が何らかの刺激で活性化され、 α -smooth muscle actin (α -SMA) を発現する筋線維芽細胞に転換し線維化を推進するものと推測されている。¹⁾ この筋線維芽細胞のマーカーである α -SMA は、慢性膵炎の際に膵の線維化部分に一致して発現することが知られている。一方、慢性膵炎では膵管の狭窄がその病態の形成に大きく関与することが提唱されており“obstruction-hypersecretion theory”として知られている。しかし、膵管に閉塞機転と星細胞活性化の関連を直接証明した報告は見られない。

目的

本年度は、膵管閉塞と膵星細胞の活性化の関係を明らかにする目的で、臨床例および動物実験モデルにおいて膵管閉塞機転の有無と α -SMA の発現の関連について解析した。

方法

臨床例

1998年6月から2001年3月までに当教室で膵癌及び十二指腸乳頭部癌で手術を施行された33例のうち、今回の解析が可能な症例21例を対象とし、その非癌部の組織を使用した。男性が16例、女性が5例で、平均年齢は64歳(50-76歳)。手術術式は膵頭十二指腸切除術6例、幽門輪温存膵頭十二指腸切除術6例、尾側膵切除術4例、膵全摘5例であった。術前の ERCP, MRCP あるいは腹部 CT にて、何らかの膵管閉塞機転があり主膵管径が4 mm 以上あるものを閉塞例とした。その結果閉塞あり14例、閉塞なし7例であった。

動物実験モデル

350~400g の SD 系統雄性ラットを使用した。ジエチルエーテル麻酔下に開腹し、最も太い二次膵管を胆膵管合流部手前で6-0プロリンにて結紮し、膵管閉塞モデルを作製した。²⁾ 膵管結紮前および結紮1, 4, 7, 10日後に膵を摘出し、膵での α -SMA の発現について経時的に検討した。免疫組織染色は抗マウスモノクローナル α -SMA 抗体 (M0851; DAKO, Denmark) を使用した。

結 果

臨床例

膵癌切除標本の非癌部の解析結果を図1に示す。図1-A, Bのごとく、膵管閉塞部の上流の非癌部の線維化部分に一致して、 α -SMAは小葉間、小葉内を問わず強く発現していた。一方、線維化を認めない部分では間質での α -SMA発現は認められなかった(図1-C, D)。 α -SMAの染色強度を(-): α -SMA陽性細胞0%, (+): α -SMA陽性細胞が筋線維芽細胞全体の50%未満, (++) : α -SMA陽性細胞が筋線維芽細胞全体の50%以上, の3段階に分けて膵管閉塞との関連を調べたところ、膵管閉塞のない症例では α -SMAの発現は(-): 4例, (+): 3例, (++) : 0例であったのに対し、膵管閉塞を伴う症例では全症例で α -SMAが発現しており, (-): 0例, (+): 11例, (++) : 3例で、膵管閉塞を伴う症例の非癌部に α -SMAの発現が亢進している結果であった(図2, $p < 0.005$)。

動物実験モデル

動物実験モデルでは、結紮後1日目より結紮した二次膵管の支配領域の膵組織が白色に変化して明らかに周囲の膵組織とは異なっており、閉塞性膵炎を起こしているものと考えられ、この部分を膵管結紮部上流と定義した。膵管結紮部上流に関しては、組織学的には結紮後1日目では結紮前の膵組織と変化なく、4日目になり線維化傾向を認め出し、通常よりもはるかに薄い α -SMAに染まった細胞を膵管周囲に認めるようになった。結紮後7日目からは線維化と α -SMAの発現がともにはっきり確認できるようになり、結紮後10日目にはよりさらに増強していた(図3)。肝門部や脾臓近傍などの膵管結紮部上流以外の膵組織では、線維化は認めず、 α -SMAも殆ど発現していなかった。

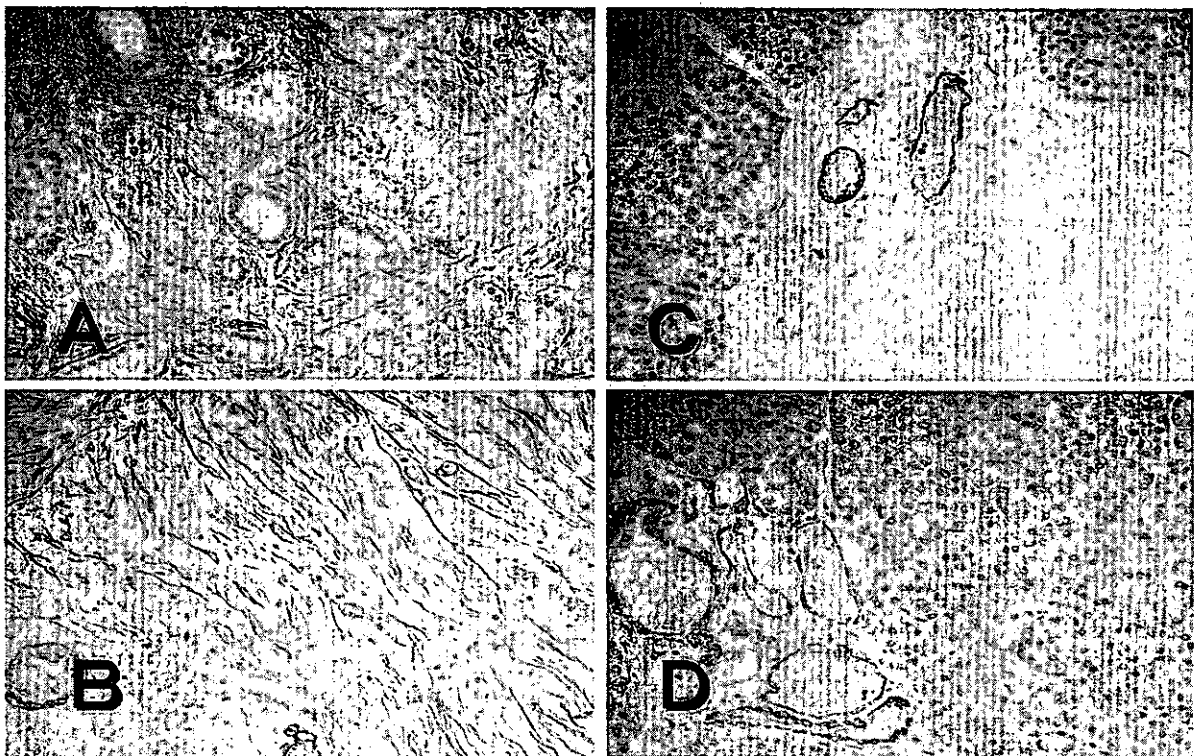


図1. 膵癌症例非癌部における α -SMA発現

A, B : 発現陽性部, C, D : 発現陰性部

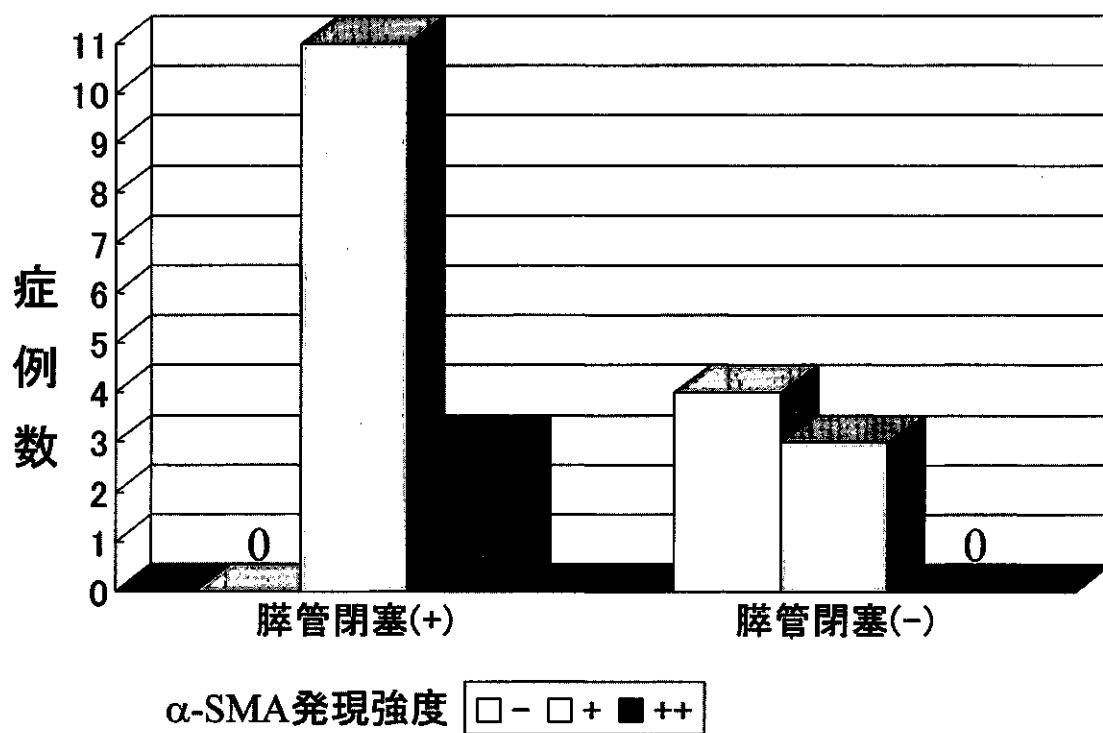


図 2. 膵管閉塞機転と α -SMA 発現の相関

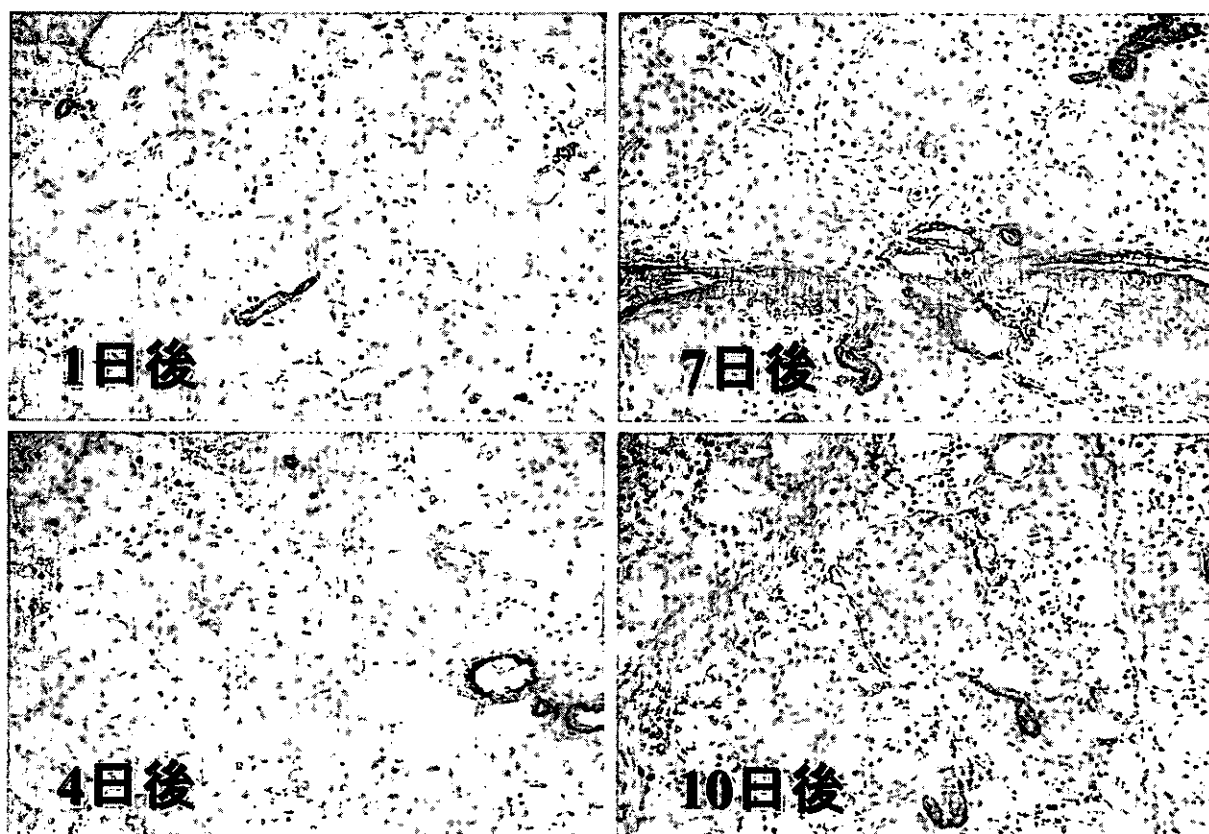


図 3. 膵管結紮上流部での α -SMA 発現の経時的変化

考 察

慢性膵炎は膵実質の脱落，線維化を特徴とする進行性，非可逆性の疾患であり，QOL は非常に悪い。膵の線維化を抑制することができれば，あらたな治療法の確立に寄与すると思われるが，線維化のメカニズムに関しても未だ十分には解明されていない。最近では，この線維化部分を構成する extracellular matrix (ECM) の主要供給源として膵星細胞が有力視されている。³⁾

慢性膵炎の一形態である慢性閉塞性膵炎の場合，線維化のメカニズムに膵管閉塞機転が関与している可能性もある。膵癌や十二指腸乳頭部癌では，腫瘍の圧迫，浸潤により膵管の狭窄，閉塞をきたし，その結果随伴性の膵炎を起こし，線維化を伴うことも多い。⁴⁾ 臨床例に関して膵管閉塞機転の有無と膵星細胞の活性化 (α -SMA 発現) の関連を調べたところ，閉塞機転ありの群では全例で膵星細胞が活性化されており，閉塞機転なしの群に比べ有意に膵星細胞が活性化されている結果が得られた。

臨床例の検討では癌による影響がある可能性があるため，これを完全に排除するために二次膵管結紮動物モデルを作製した。動物モデルにおいては，結紮部上流域でのみ α -SMA が発現し，その発現強度は線維化の進行度と平行して動いていた。このことから膵管閉塞と膵星細胞の活性化は密接に関係していることが示された。

慢性膵炎においては tumor growth factor- β 1 (TGF- β 1) や insulin-like growth factor- 1 (IGF- 1) などが発現するとの報告もあり，^{5,6)} これらが膵星細胞を活性化するシグナルの可能性もある。今後はこれらの factor との関係についても調査する必要があると思われる。

結 語

膵管閉塞機転と α -SMA 発現の強い相関から，膵管閉塞により膵星細胞が活性化されていることが示された。

参 考 文 献

- 1) Haber PS, Keogh GW, et al. Activation of pancreatic stellate cells in human and experimental pancreatic fibrosis. *Am J Pathol* 1999; 155: 1087-95.
- 2) Yamaguchi Y, Matsuno K, et al. In situ kinetics of acinar, duct, and inflammatory cells in duct ligation-induced pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 1993; 104: 1498-506.
- 3) Bachem MG, Schneider E, et al. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology* 1998; 115: 421-32.
- 4) Yen TW, Aardal NP, et al. Myofibroblasts are responsible for the desmoplastic reaction surrounding human pancreatic carcinomas. *Surgery* 2002; 131: 129-34.
- 5) Ludwig CU, Menke A, et al. Fibroblasts stimulate acinar cell proliferation through IGF- 1 during regulation from acute pancreatitis. *Am J Physiol* 1996; 276: G193-8.
- 6) Schneider E, Schmid-Kotsas A, et al. Identification of mediators stimulating proliferation and matrix synthesis of rat pancreatic stellate cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 281: C532-43.

Macrophage migration inhibitory factor (MIF) の 急性膵炎における意義について

研究報告者 下瀬川 徹
東北大学消化器病態学

共同研究者 正宗 淳 境 吉 孝

要旨：Macrophage migration inhibitory factor (以下 MIF) は、近年新しい炎症性サイトカインとして注目されている。今回、急性膵炎（特に重症急性膵炎）の病態における MIF の意義について検討した。ラットタウロコール酸膵炎において、腹水、血清及び肺組織中の MIF 濃度の有意な上昇を認めた。同モデルにおいて、抗 MIF 抗体を投与したところ有意な生存率の改善を認めた。患者血清の検討で、重症膵炎では軽症膵炎及び健常者と比較して有意に MIF 濃度が高値であった。以上より、MIF が急性膵炎の病態に関与している可能性が示唆された。

背景と目的

Macrophage migration inhibitory factor (以下 MIF) は、T リンパ球由来のマクロファージ遊走阻止因子として同定されたが¹⁾、近年新しい炎症性サイトカインとして注目されている。MIF はマクロファージの機能制御のみならず、生体の様々な局面において多様な生理的役割を果たすことが明らかにされている²⁾。MIF は一旦放出されると、TNF- α 、IL-1、IL-6 等の炎症性メディエーターの発現を誘導し^{3,4)}、炎症反応に強く関与するとされる。これまでに敗血症や ARDS 等の病態における MIF の関与が報告されている^{5,6)}。しかし、急性膵炎の病態における MIF の役割については明らかではない。今回、我々は急性膵炎（特に重症膵炎）における MIF の役割を検討した。

方 法

実験 1：急性膵炎における MIF レベル

Wistar 系雄性ラットに出血性壊死性膵炎（タウロコール酸膵炎：TCA 膵炎）と浮腫性膵炎（セルレイン膵炎）を作成し、経時的に腹水と血清を採取し、ELISA により MIF レベルを検討した。また、TCA 膵炎ラットの膵、肝、肺における MIF レベルを検討した。

実験 2：抗 MIF 抗体投与の影響

TCA 膵炎誘導 1 時間前に抗 MIF 抗体を投与し、生存率、血清学的所見、組織学的所見および肺組織の TNF- α 発現に与える影響について、ウサギ IgG を投与したコントロール群と比較検討した。

実験 3：患者血清における検討

軽症膵炎 (n = 25)、重症膵炎 (n = 17)、健常者 (n = 12) の 3 グループにおいて、発症 72 時間以内の血清を採取し MIF 濃度を検討した。

結 果

実験 1

TCA 肺炎において、腹水及び血清中の MIF 濃度は有意に上昇した (図 1)。セルレイン肺炎の場合、腹水中の MIF 濃度は有意に上昇していたが、TCA 肺炎に比べて軽度であった。血清中の MIF 濃度は有意な上昇を認めなかった。

組織学的検討では、TCA 肺炎ラットの肺における MIF 発現の増強を認めた (図 2) が、肝および脾においては変化なかった。

実験 2

TCA 肺炎において、抗 MIF 抗体投与群はコントロールに比べて、有意な生存率の改善を認めた (図 3)。両群間に血清及び組織学的所見における有意な変化を認めなかったが (データ呈示せず)、肺組織中の TNF- α 濃度は抗 MIF 抗体群で有意な低値を示した (図 4)。

実験 3

患者血清の検討では、重症肺炎で軽症肺炎及び健常者と比較して血清中の MIF 濃度が有意に高値であった (図 5)。

考 察

急性肺炎の重症化機序については不明であるが、TNF- α 、IL-1、IL-8 などのサイトカインの関与が報告されている⁷⁾。今回、我々は、1) TCA 肺炎において腹水、血清及び肺組織中の MIF 濃度が上昇すること、2) 同モデルにおいて、抗 MIF 抗体の投与により有意に生存率が改善すること、3) 重症肺炎患者では軽症肺炎患者及び健常者と比較して、有意に血清 MIF 濃度が高値であることを明らかにした。

TCA 肺炎の腹水、血清中の MIF 濃度は有意に上昇したが、その時間経過は異なっていた。すなわち、腹水中の MIF 濃度は肺炎誘導後 1 時間でピークに達し、その後漸減した。一方、血清中の MIF 濃度は肺炎誘導後 9 時間をピークとし、その後漸減した。この時間経過より腹水中の MIF が血清中に移行したことが推測された。

TCA 肺炎ラットでは、肺における MIF 発現の増強を認めたが、肝および脾は変化が認められなかった。免疫染色では気管上皮を中心に発現増強がみられた (データ呈示せず)。これは ARDS における MIF の発現⁶⁾ と同様であった。TCA 肺炎ラットに抗 MIF 抗体を投与したところ生存率の有意な改善が認められた。肺組織中の TNF- α 濃度は抗 MIF 抗体投与群において有意な低値を示し、生存率改善の機序の一つと考えられた。

急性肺炎の経過中に TNF- α 、IL-1 などの炎症性サイトカインの血中レベルが上昇し、重症度と相関する事が知られている⁷⁾。本検討では重症肺炎患者において、軽症肺炎患者及び健常者と比較して血清 MIF 濃度が有意な高値を示した。ヒトの重症肺炎の病態にも MIF が関与している可能性が示唆された。

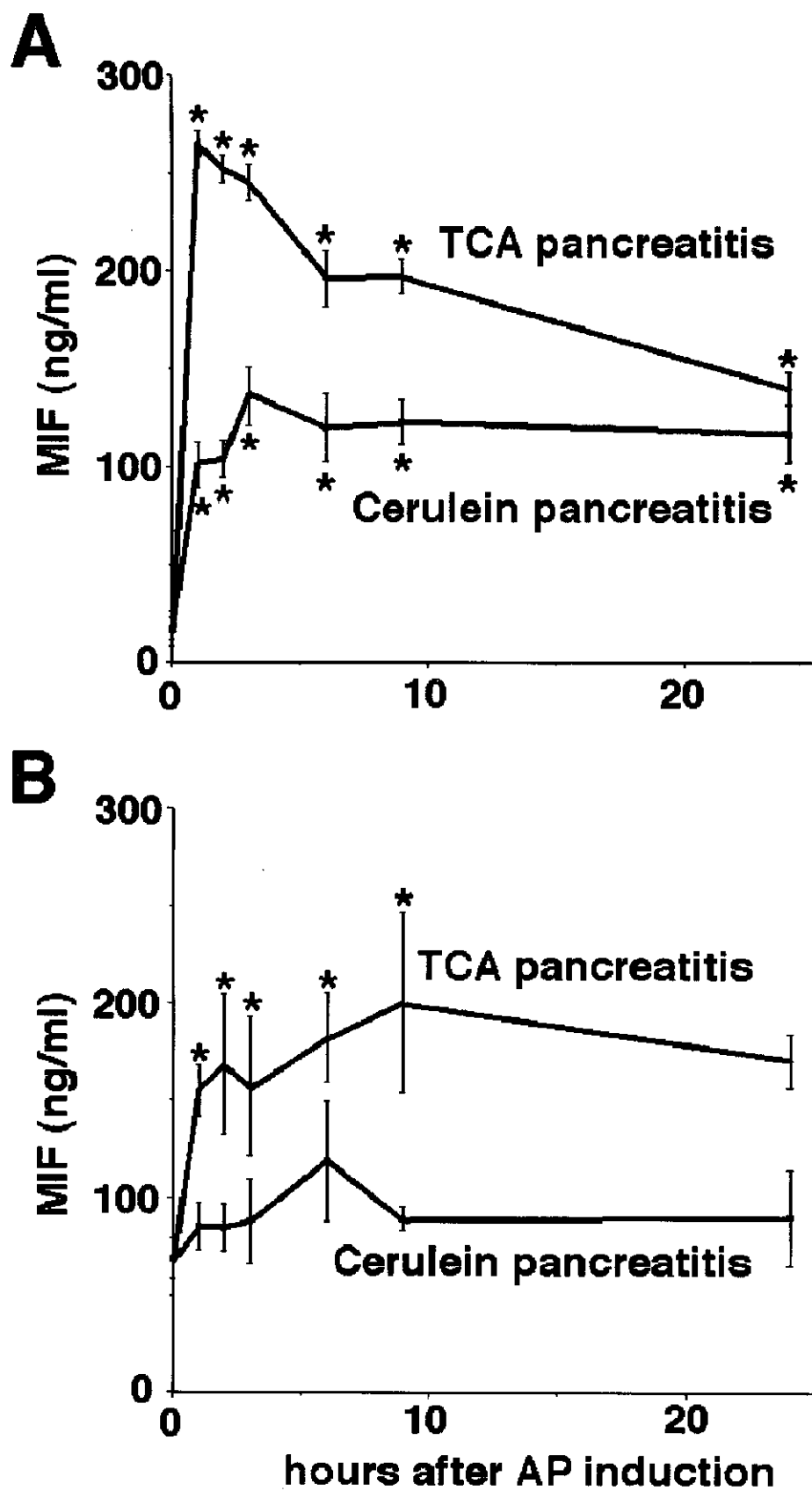


図1. セルレイン膵炎とTCA膵炎における腹水と血清中のMIF濃度
 A: 腹水中の濃度。B: 血清中の濃度。(Mean \pm SE. * : $p < 0.01$)