

図2. TCA 膵炎と正常ラットの各組織における MIF レベル
(Mean ± SE. ** : p < 0.05)

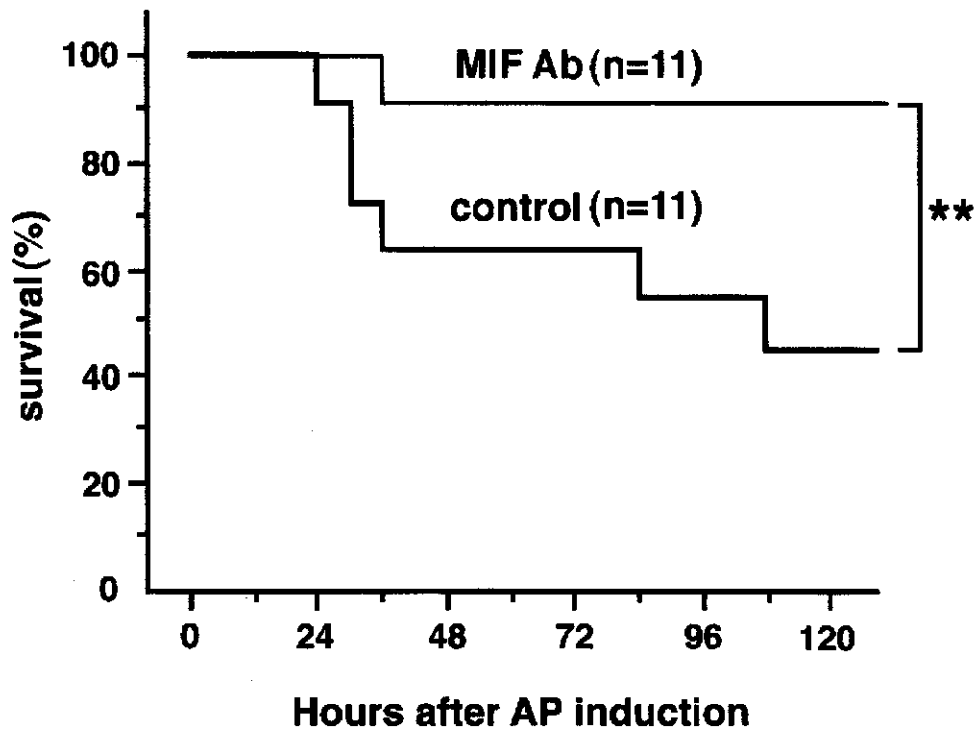


図3. 抗 MIF 抗体の生存率へ与える影響 (** : p < 0.05)

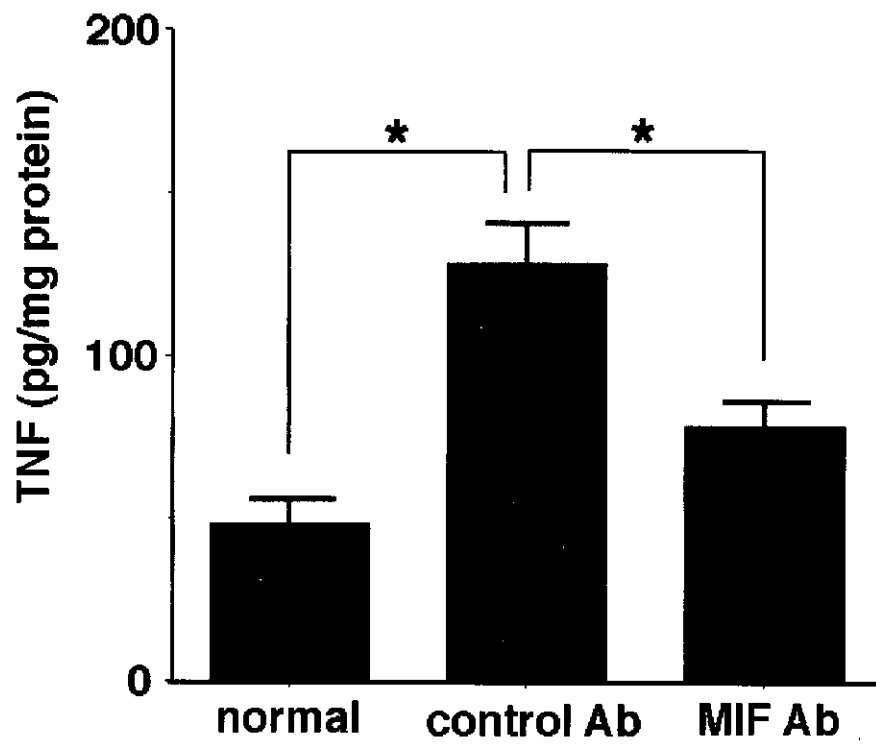


図4. 抗MIF抗体の肺組織中のTNF- α への影響 (Mean \pm SE. * : $p < 0.01$)

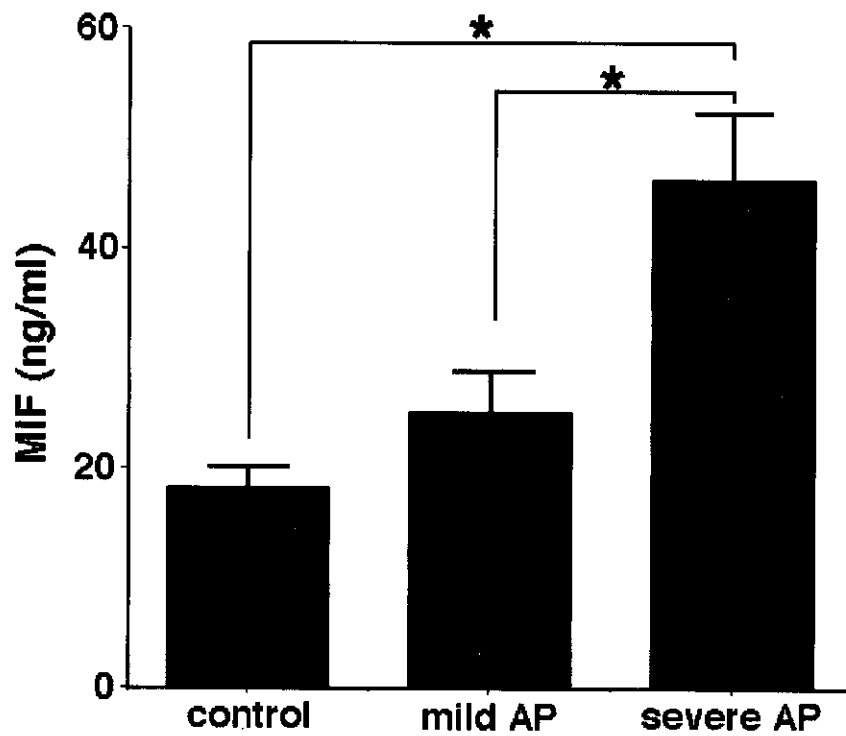


図5. 患者血清中のMIF濃度 (Mean \pm SE. * : $p < 0.01$)

結 語

MIF が急性膵炎（特に重症膵炎）の病態に関与している可能性が示唆された。

参 考 文 献

- 1) Bloom BR, Bennett B. Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. *Science* 1966; 153 : 80-2.
- 2) Nishihira J. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): its essential role in the immune system and cell growth. *J Interferon Cytokine Res* 2000; 20 : 751-62.
- 3) Calandra T, Spiegel LA, Metz CN, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is a critical mediator of the activation of immune cells by exotoxins of Gram-positive bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95 : 11383-8.
- 4) Calandra T, Berhhagen J, Mitchell RA, et al. The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor (MIF). *J Exp Med* 1994; 179 : 1895-902.
- 5) Calandra T, Echtenacher B, Roy DL, et al. Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. *Nat Med* 2000; 6 : 164-70.
- 6) Donnelly SC, Haslett C, Reid PT, et al. Regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome. *Nat Med* 1997; 3 : 320-3.
- 7) Kingsnorth A. Role of cytokines and their inhibitors in acute pancreatitis. *Gut* 1997; 40 : 1 - 4.

重症急性膵炎における血中サイトカイン変動

研究報告者 高 田 忠 敬

帝京大学外科

共同研究者 安 田 秀 喜 杉 本 真 樹 天 野 穂 高
吉 田 雅 博 豊 田 真 之 伊 藤 康 治
高 木 健 司

要旨：重症急性膵炎患者9例において炎症性サイトカイン（IL-6）値の変動を測定し、臨床経過および重症度評価との関わりについて検討した。IL-6値は、入院時平均477 pg/mlと高値であり、動注療法や内視鏡的治療によって、翌日47 pg/mlと著明な減少が認められ、さらに8日後32pg/mlと推移し、治療効果や臨床経過をよく反映した。15日後40 pg/mlと再上昇がみとめられるが、感染合併によってIL-6再上昇症例があるためであり、感染合併の有無による細分類では、各群のIL-6の変化は、厚生労働省重症度スコアによる重症度評価をよく反映した。血中炎症性サイトカイン（IL-6）は、急性膵炎の重症度評価および治療経過把握のマーカーとして有用と考えられた。

はじめに

急性膵炎は保存的療法で軽快する症例から、発症早期より膵局所のみならず全身炎症反応症候群（SIRS）を来し、さらに遠隔重要臓器を障害しMOFを併発して致命的な状態となる症例まで様々である。その重症化機序は、従来は活性化膵酵素が間質に逸脱し、局所から全身へ作用して全身症状や合併症を発現してくるとされたが、敗血症、多臓器不全などと同様にサイトカインなどの各種 chemical mediators を介して種々の合併症や臓器障害を来すことが指摘され、急性膵炎の重症化機序におけるサイトカインの重要性が報告されてきている。その一方、臨床においては早期の重症度評価とそれにもとづいて集中治療、特殊療法を迅速に開始する事が予後に反映することより、判定能の高い重症度マーカーの開発や臨床評価が期待されており、近年サイトカインレベルと重症度判定能に関する報告が増加している。¹⁻³⁾ そこで今回、重症急性膵炎患者9例において、代表的炎症性サイトカインである interleukin-6 (IL-6) の変動を測定し、重症化ならびに臨床経過におけるその意義を検討した。

対 象

当院に入院し、厚生労働省特定疾患難治性膵疾患調査研究班による急性膵炎診断基準により重症急性膵炎と診断され加療を受けた9例を対象とした。男性8例、女性1例。原因疾患は、アルコール性3例、胆石性3例、高脂血症性2例、ERCP後1例であった。

方 法

当科入院当日，入院後1，8，15，22病日においてIL-6濃度を測定し，厚生労働省重症度スコアの変化および治療経過と比較検討した。

治療法は，胆石性には内視鏡的処置，胆嚢摘出術などを施行，その他では蛋白分解酵素阻害剤および抗生物質の持続動注療法を5日間施行した。栄養管理は経腸栄養または中心静脈栄養とした。

結 果

- 1) 入院時，血中IL-6値の平均は477 pg/mlと高値であり，翌日47 pg/ml，8日後32 pg/ml，15日後40 pg/ml，22日後5 pg/mlと推移した（図1）。
- 2) 経過中に感染症合併が，9例中5例（膵膿瘍2例，カテーテル感染1例，MRSA腸炎1例，MRSA肺炎1例）認められた。
- 3) 治療経過をみると感染合併の有無に関わらず，臨床症状は治療に応じて改善をみたが，血中IL-6値は感染合併群（5例）において再上昇を呈し，厚生労働省重症度スコアの改善も遷延した（図2）。

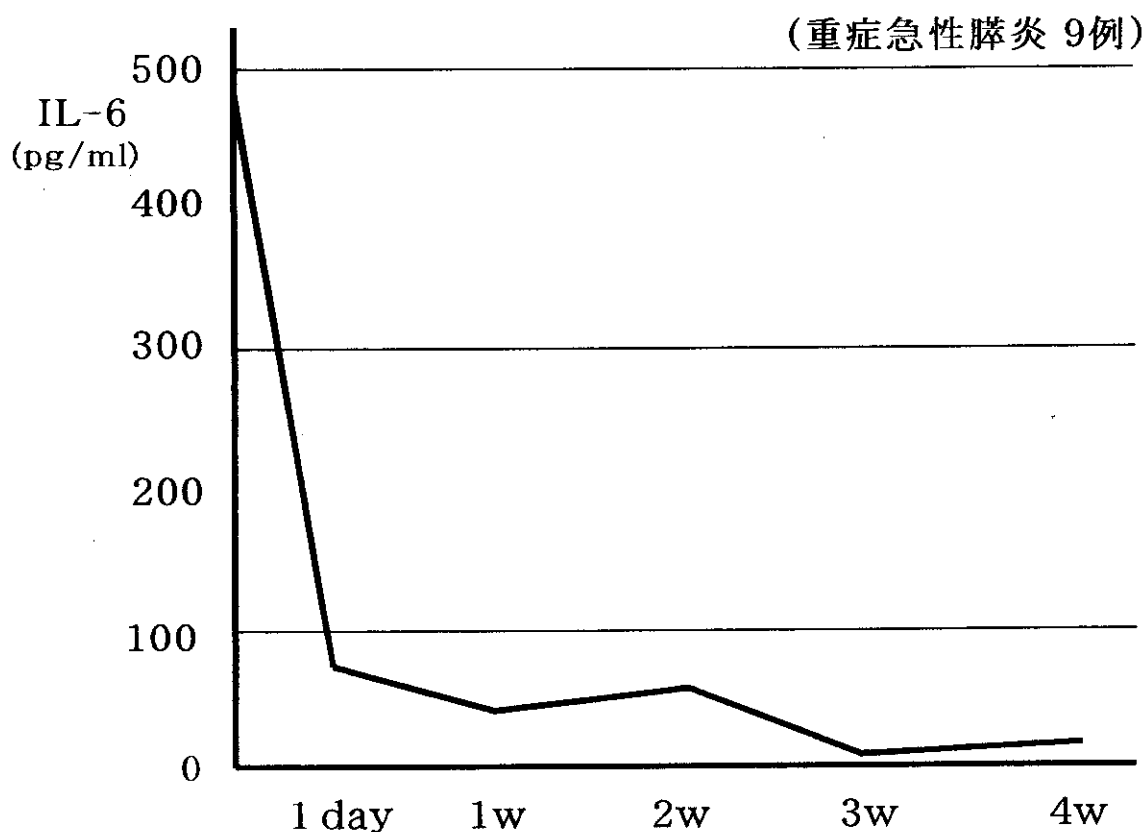


図1. IL-6変動

考 察

急性膵炎は SIRS の病態を発現する代表的疾患であり、その背景にあるサイトカイン反応の研究が盛んに行われている。臨床の重症急性膵炎症例における IL-6 測定と重症度診断能についての Pezzilli ら²⁾ の報告では、発症後24時間の IL-6 の上昇による重症度診断能は, sensitivity 100%, specificity 86%, と きわめて良好であったとし、その有用性を強調している。現在は、一部の施設の特殊検査となっているが、今後重要な判定手段となると期待しうる。

今回の研究では、血中炎症性サイトカイン (IL-6) は、急性膵炎における経過および重症化の重要なマーカーとして有用と考えられた。IL-6 値は、入院時平均477 pg/ml と高値であり、動注療法や内視鏡的治療によって、翌日47 pg/ml と著明な減少が認められ、さらに8日後32 pg/ml と推移し、治療効果や臨床経過をよく反映した。15日後40 pg/ml と再上昇がみとめられるが、合併感染によって IL-6 再上昇症例があるためであり、感染合併の有無による細分類では各群の IL-6 の変化は、厚生労働省重症度スコアによる重症度評価をよく反映した。

今後さらなる症例数の蓄積と測定手技や測定方法の安定化によって、重症度判定のための IL-6 の絶対値や cut-off レベルについても、検討して行く予定である。

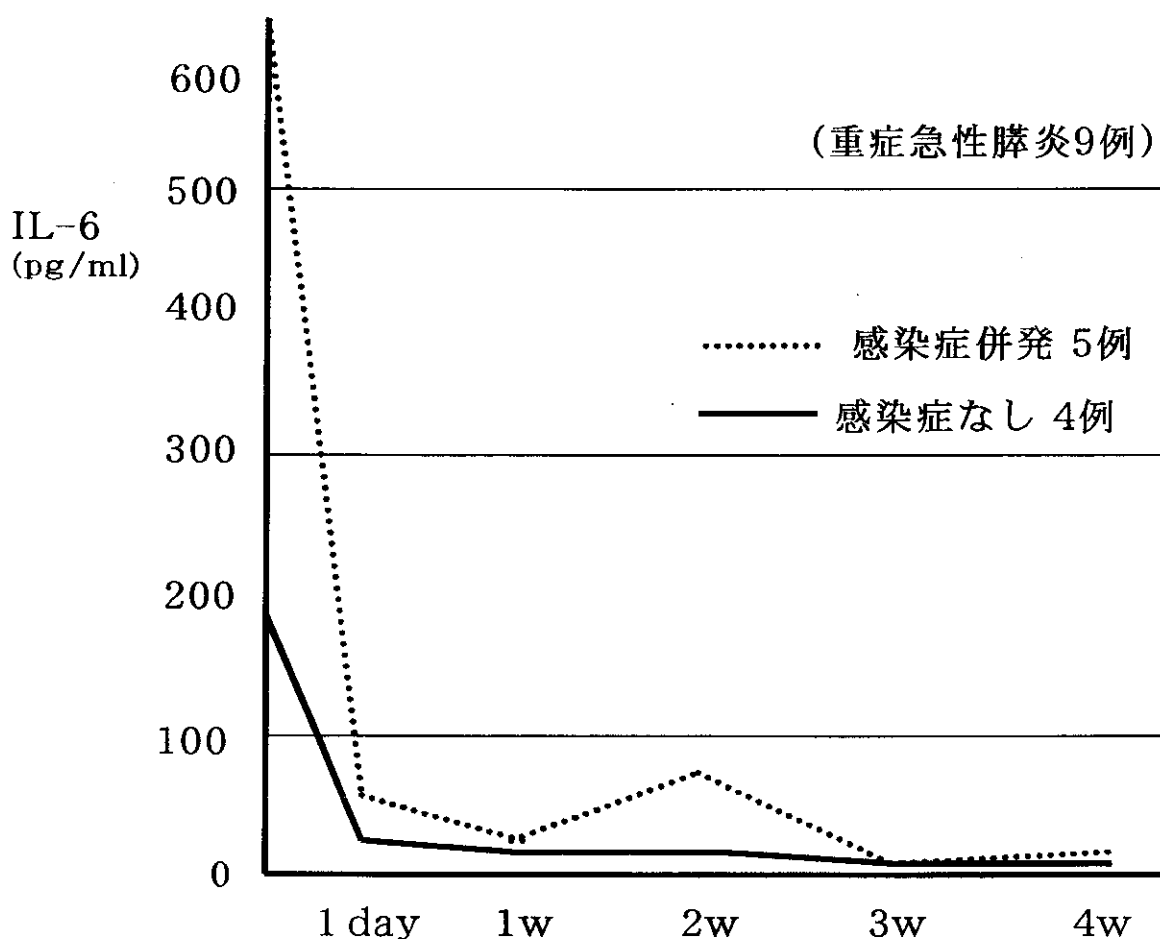


図2. 感染症併発の有無と IL-6 変動

参 考 文 献

- 1) Pezzilli R, Billi P, Miniero R, Fiocchi M, Cappelletti O, Morselli LA, Barakat B, Sprovieri G, Miglioli M. Serum interleukin-6, interleukin-8, and beta 2-microglobulin in early assessment of severity of acute pancreatitis. Comparison with serum C-reactive protein. *Dig Dis Sci* 1995 ; 40 : 2341-8.
- 2) Pezzilli R, Morselli LA, Miniero R, Barakat B, Fiocchi M, Cappelletti O. Simultaneous serum assays of lipase and interleukin-6 for early diagnosis and prognosis of acute pancreatitis. *Clin Chem* 1999 ; 45 : 1762-7.
- 3) Ikei S, Ogawa M, Yamaguchi Y. Blood concentrations of polymorphonuclear leucocyte elastase and interleukin-6 are indicators for the occurrence of multiple organ failures at the early stage of acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1998 ; 13 : 1274-83.

実験的急性膵炎に対する Gabexate Mesilate (FOY-007) の持続動注療法の効果

研究報告者 田 代 征 記

徳島大学第一外科

共同研究者 佐 藤 宏 彦 原 田 雅 光

要旨：実験的急性膵炎の膵局所病変に対する gabexate mesilate (以下, FOY-007と略記) を用いた持続動注療法の効果を検討した。

雑種成犬を用い, 10% Na-taurocholate (1 ml/kg) の主膵管注入により出血壊死性膵炎モデルを作成した。実験群を無治療群, FOY-007を 5 mg/kg/hr で持続的に静注した群 (静注群), 同量を腹腔動脈から持続的に動注した群 (動注群) の3群に分け, 収縮期血圧・平均動脈圧, 血清・腹水中の amylase, lipase 値などの変動を検討するとともに, モデル作成後6時間目に犠牲死させ, 膵の組織学的検討や膵組織内 FOY-007濃度を測定した。

無治療群, 静注群では収縮期血圧・平均動脈圧とも術後より低下傾向を示したが, 動注群では術後2時間目に低値を示し, 以後上昇傾向であった。血清膵酵素値では静注群, 動注群は無治療群に比して有意に低値を示し, さらに動注群では腹水中膵酵素も有意に低値を示した。膵の実質に対する壊死面積比はそれぞれ36.1, 25.3, 19.5%と動注群で著明に抑制された。さらに6時間後の膵組織内 FOY-007濃度は動注群が静注群の32倍を示した。

これらの実験成績から, 重症急性膵炎に対する局所療法として FOY-007の持続動注療法は有用かつ, 臨床応用の可能性がある治療法と考える。

はじめに

重症急性膵炎は膵の炎症が膵局所や膵周囲にとどまるだけでなく, 全身に逸脱した膵酵素やその二次産物であるサイトカインなどの反応により, 炎症が全身に広がり, 好中球の活性化に伴う中性プロテアーゼや活性酸素の放出の結果, 発症早期から肺, 肝, 腎などの multiple organ failure (以下, MOFと略記) や血液凝固系障害としての disseminated intravascular coagulation syndrome (以下, DICと略記) を合併することが知られている¹⁾。そのため膵局所に対する原因療法と MOF や DIC に対する全身療法が必要となってくる。

Gabexate mesilate (以下, FOY-007と略記) は trypsin, kallikrein, plasmin, thrombin, factor Xa, elastase, C₁esterase, phospholipase A₂ を強力に阻害する蛋白分解酵素阻害剤である²⁾。コリン欠乏性エチオニン食膵炎^{3,4)}, セルレイン膵炎⁵⁾, タウロコール酸膵炎³⁾ に対して FOY-007や camostat mesilate (以下, FOY-305と略記) の予防的投与が有効であったとの報告がある。急性膵炎に対する FOY-007の治療効果は trypsin のような蛋白分解酵素活性を抑制することにより, 自己消化を防ぐため

とされている⁵⁾。

FOY-007の投与方法は一般的に静注法であり、その他に実験的には Takasugi ら⁶⁾ の十二指腸内投与方法や Wakayama ら⁷⁾ の膵管内投与方法がある。そして彼らは膵炎の発症を予防したと報告している。しかしながら動注法に関する実験的な報告はない。

今回、われわれは膵局所に対する治療法である蛋白分解酵素阻害剤の持続動注療法に注目し、実験的急性膵炎モデルに対して FOY-007の持続動注療法の効果を検討したので報告する。

対象と方法

I) 対象

体重10~20kg の雑種成犬を使用した。

II) 実験方法

1) 術前・術中管理と麻酔方法

術前処置として手術前12時間から絶食とした。pentobarbital sodium (Nembutal) 50 mg/kg の静脈麻酔下で気管内挿管し、30% 酸素投与で人工呼吸管理とした。右大腿静脈から16G intravenous hyperalimentation (以下, IVH と略記) カテーテルを挿入留置し、輸液は市販の乳酸加リンゲル液 (ラクテック D) を用い、10 ml/kg/hr の速度で投与した。また右大腿動脈に20G サーフロ針を挿入留置し、動脈圧測定と採血用とした。

2) モデルの作成方法

上腹部正中切開で開腹した。左胃動脈遠位端を cut down し、逆行性に3 Fr. ポリエチレンチューブを腹腔動脈まで挿入し、先端が腹腔動脈に位置するように留置し、動注用とした。留置した3 Fr. ポリエチレンチューブからインジゴカルミンを注入し、膵の左葉全体が染色されるのを確認し、この時点で動注カテーテルからの注入薬剤が十分に膵組織に到達するものと判断した。次に副膵管を結紮し、10% Na-taurocholate (1 ml/kg) を主膵管から左葉に向けて注入し、急性壊死性膵炎モデルを作成した。

3) 実験群

A 群: 無治療群 (n = 6), B 群: FOY-007を膵炎作成直後から5 mg/kg/hr で持続的に静注した群 (n = 9), C 群: FOY-007 (B 群と同量の5 mg/kg/hr) を膵炎作成直後から持続的に腹腔動脈より動注した群 (n = 9) の3群に分けた。A, B 群は腹腔動脈から FOY-007を含まない5% ブドウ糖溶液 (5 ml/hr) を持続的に注入した。

4) 測定項目および測定方法

A) 収縮期血圧, 平均動脈圧の測定

上記の3群について膵炎モデル作成直後から6時間、経時的に大腿動脈に留置した20G 針に圧トランスデューサー Uniflow (Baxter 社) を装着し、DS-1033 (FUKUDA 電子社) に接続し収縮期血圧, 拡張期血圧を測定した。平均動脈圧は拡張期血圧 + 1/3 X (収縮期血圧 - 拡張期血圧) の式より算出した。

B) 生化学検査

上記の3群について膵炎モデル作成直後から6時間、経時的に血清 amylase, lipase, aspartate aminotransferase (以下, AST と略記), alanine aminotransferase (以下, ALT と略記), lactic dehydrogenase (以下, LDH と略記), calcium (以下, Ca と略記), blood urea nitrogen (以下, BUN と略記), creatine (以下, Cr と略記), ならびに腹水中 amylase, lipase 値を測定した。amylase 値は

第一化学薬品社のピュアオート S-AMY, lipase 値はロシュ・ダイアグノステック社のリキテックリパーゼ カラー, AST, ALT, LDH, Ca 値はそれぞれ和光純薬工業社の L タイプワコー GOT・L タイプワコー ALT・L タイプワコー LDH, カルシウム E-HA テストワコー, BUN 値はシノテスト社のクイックオート II BUN, Cr 値は和光純薬工業社の L タイプワコークレアチニン F により測定した。

C) 剖検臓の組織学的検討

モデル作成後, 6時間目に犠牲死させた。各群 6 頭の剖検臓を摘出後, 直ちにホルマリン固定し, 主膵管分岐部から左葉へ 2 cm の位置から 2 cm 間隔に切り出し, 各頭計 5 切片について HE 染色を行った。さらに各切片のプレパラートをマッキントッシュに取り込み, NIH イメージ 1.61 ソフトで膵実質の面積と, 明らかに壊死に陥り実質が脱落している部分の面積を算出した。膵実質の面積に対する壊死部分の面積比を求め, 各群の平均値について比較検討した。

D) 膵組織内 FOY-007 濃度の測定

B, C 群の 9 頭中 3 頭について, 犠牲死直前に液体窒素を膵臓に散布し冷却させ, 左葉の左端, 中央, 右端より正確に 0.2g を採取し, 小野薬品工業株式会社で FOY-007 濃度を測定した。FOY-007 濃度は各頭の平均値について検討した。

Table 1. Hemodynamic pressure parameters in each experimental group for time after induction of pancreatitis.

Parameter	pre-op	1h	2h	4h	6h
SAP (mmHg)					
Group A	183 ± 22	137 ± 40 ※	131 ± 25 *	143 ± 20 ※	138 ± 36 ※
Group B	173 ± 53	148 ± 34	141 ± 29	133 ± 32	127 ± 33 ※
Group C	179 ± 27	145 ± 23	142 ± 32 ※	154 ± 34	159 ± 31
MAP (mmHg)					
Group A	136 ± 13	99 ± 29 *	98 ± 21 *	103 ± 15 ※	103 ± 23 ※
Group B	125 ± 42	115 ± 27	111 ± 24	102 ± 25	96 ± 24
Group C	132 ± 14	115 ± 20	111 ± 24	118 ± 21	121 ± 23

Group A is the non-treatment group (n=6), Group B received FOY-007 intravenously (n=6), Group C is received FOY-007 via the celiac artery (n=6). Symbols indicate the significant difference of blood pressure in each experimental group for time after induction of pancreatitis, compared to that of preoperation. ※ Significant differences by one-way analysis of variance (P<0.05), versus preoperation. *Significant differences by one-way analysis of variance (P<0.01), preoperation. SAP, systolic arterial pressure. MAP, mean arterial pressure.

5) 統計学的処理

各群の値を平均値±標準誤差 (mean ± SE)で示した。結果はA群, B群, C群間の比較をFisher's PLSD検定を, 膵組織内FOY-007濃度についてはB群, C群間でStudent-t検定を行い, $P < 0.05$ をもって有意差ありとした。

成 績

1. 収縮期血圧, 平均動脈圧

A群では収縮期血圧の前値は 183 ± 22 mmHg, であったが, 術後6時間まで有意に前値に比べて低下した。B群では術後より低下傾向にあり, 6時間の時点において有意に低下した。C群では術後2時間目に低値を示したが, 以後上昇傾向であった (Table 1)。

平均動脈圧も収縮期血圧と同様の変化を示した (Table 1)。

2. 生化学検査

A) 血清 amylase, lipase 値

血清 amylase 値はB, C群ではA群に比し術後6時間まで有意に低値を示した (Fig. 1 A)。また血清 lipase 値も amylase 値とほぼ同様の結果を示し, B, C群ではA群に比し術後6時間まで有意に低値を示した (Fig. 1 B)。

B) 腹水中 amylase, lipase 値

腹水中の amylase 値はB群ではA群に比べ有意の差を認めなかったが, C群ではA群に対して術後

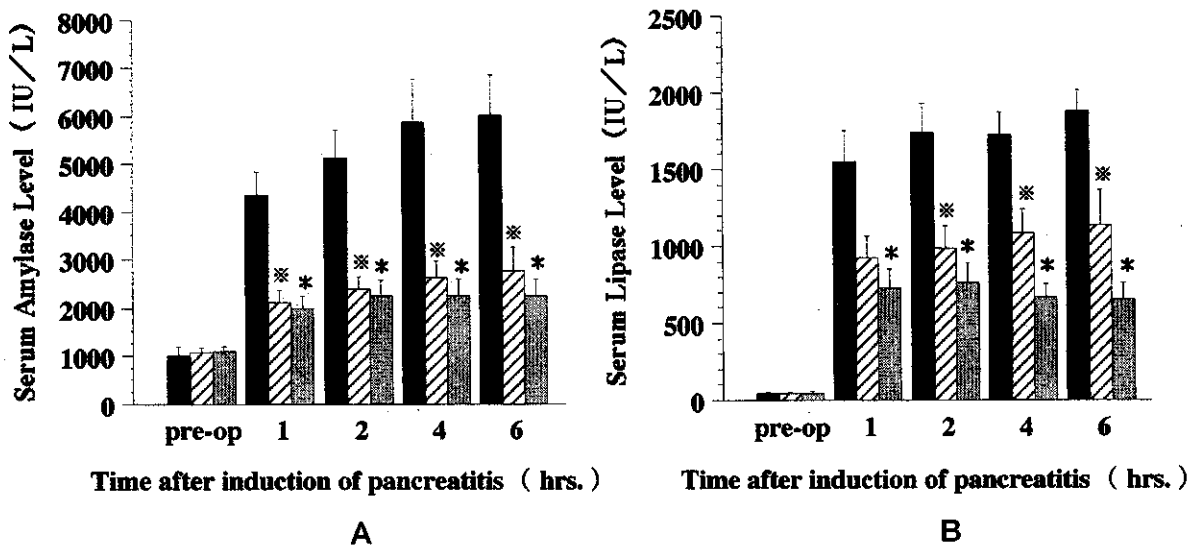


Fig. 1. Serum amylase and lipase levels.

Fig.1A shows serum amylase levels, and Fig.1B shows serum lipase levels. ■, Group A is the non-treatment group (n=6); ▨, Group B is received FOY-007 intravenously (n=6); ▩, Group C is received FOY-007 via the celiac artery (n=6), respectively. Symbols indicate the significant difference in each experimental group for time after induction of pancreatitis, as follows. ※ Significant differences by one-way analysis of variance ($P < 0.01$), Group A versus Group B. *Significant differences by one-way analysis of variance ($P < 0.01$), Group A versus Group C. *Pre-OP*, preoperation.

2, 4, 6時間値において有意に低値を示した (Fig. 2 A)。腹水中の lipase 値はC群においてのみA群に対して術後6時間値において有意に低値を示した (Fig. 2 B)。

C) 血清 AST, ALT, LDH, Ca 値

血清 AST, ALT, LDH, Ca 値は何れも各群において有意差は認めなかった (Fig. 3 A-D)。

D) 血清 BUN, Cr 値の変動

血清 BUN 値はC群ではA群に対して術後1, 2時間値においてのみ有意差が認められた (Fig. 4 A)。しかし血清 Cr 値では各群において有意差は認められなかった (Fig. 4 B)。

3. 剖検膵の組織学的検討

剖検膵のルーペ像ではA群で広汎な実質の壊死・脱落を認めた (Fig. 5 A)。B群では間質の浮腫性変化にとどまり、壊死範囲もA群に比べて減少していた (Fig. 5 B)。C群では軽度の間質の浮腫性変化にとどまるのみで、壊死範囲はさらに軽度であった (Fig. 5 C)。

各群における壊死部の膵実質に対する断面積比の平均はA群で $36.09 \pm 2.55\%$ 、B群は $25.32 \pm 7.53\%$ 、C群は $19.51 \pm 2.32\%$ であり、C群はA群に対して有意に低値を示した (Fig. 6)。

4. 剖検膵の FOY-007濃度

B群における膵組織内 FOY-007濃度は $234.6 \pm 50.4 \text{ ng/g}$ 、C群は $7562.1 \pm 2620.9 \text{ ng/g}$ 、と32倍の差が認められた (Fig. 7 A)。各部位別に比較するとB群では膵頭部が $302.9 \pm 125.7 \text{ ng/g}$ 、膵体部が $234.7 \pm 8.7 \text{ ng/g}$ 、膵尾部が $166.1 \pm 99.5 \text{ ng/g}$ 、C群では膵頭部が $3528.6 \pm 1927.9 \text{ ng/g}$ 、膵体部が $10735.7 \pm 3326.4 \text{ ng/g}$ 、膵尾部が $8421.9 \pm 7356.0 \text{ ng/g}$ と膵体部においてC群が有意に高値を示した (Fig. 7 B)。

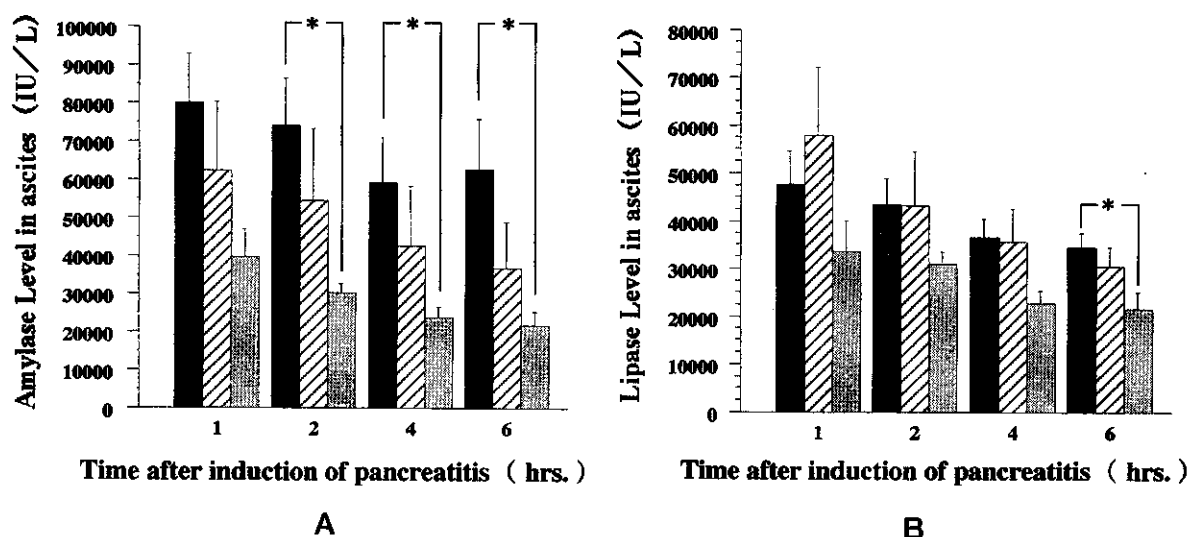


Fig. 2. Amylase and lipase levels in ascites.

Fig.2A shows amylase levels in ascites, and Fig.2B shows lipase levels in ascites. ■, Group A is the non-treatment group (n=6); ▨, Group B received FOY-007 intravenously (n=6); ▤, Group C is received FOY-007 via celiac artery (n=6), respectively. Symbols indicate the significant difference in each experimental group for time after induction of pancreatitis, as follows. *Significant differences by one-way analysis of variance ($P < 0.05$), Group A versus Group C.

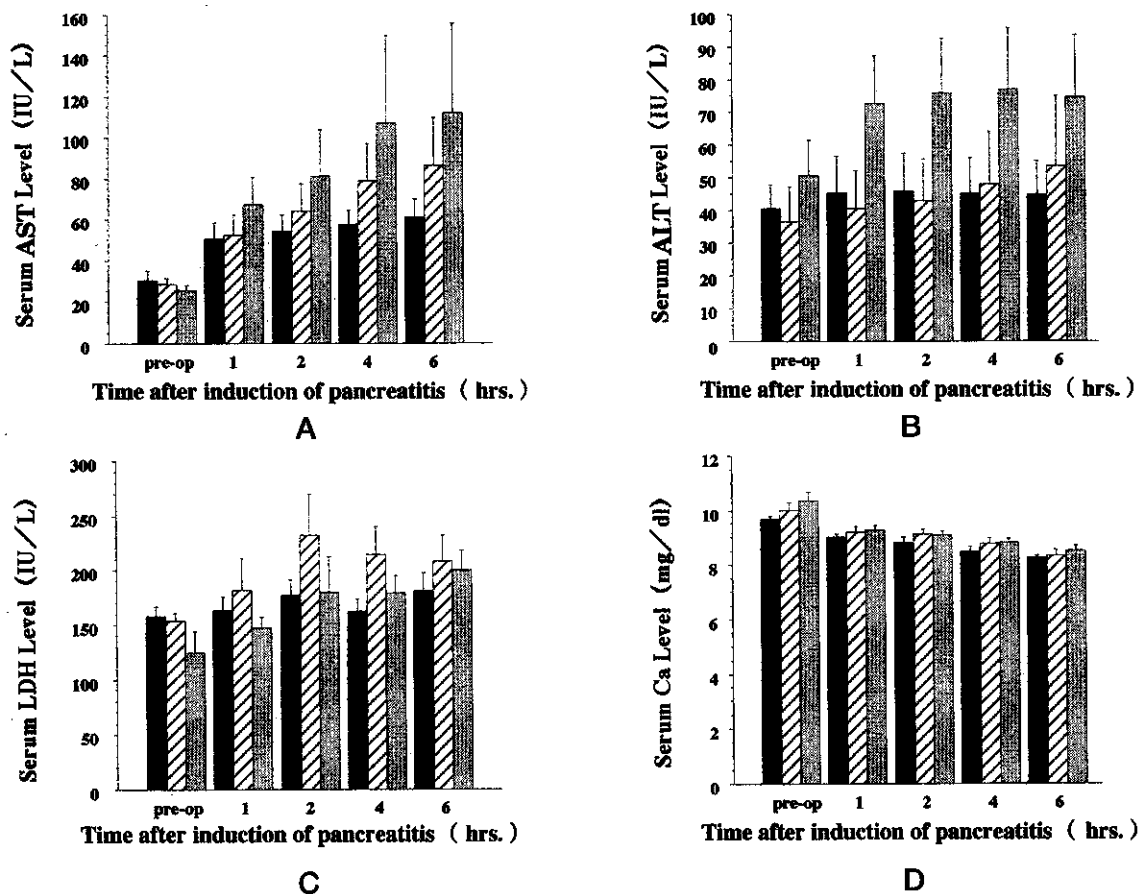


Fig. 3. Serum AST, ALT, LDH and Ca levels.

Fig.3A shows serum AST levels, Fig.3B shows serum ALT levels, Fig.3C shows serum LDH levels and Fig.4C shows serum Ca levels. ■, Group A is the non-treatment group (n=6); ▨, Group B is received FOY-007 intravenously (n=6); ▩, Group C is received FOY-007 via the celiac artery(n=6), respectively. Pre-OP, preoperation.

考 察

重症急性膵炎では早期から膵局所の炎症が膵・膵周囲にとどまらず、全身に広がり、DICやMOFを合併するため、良性疾患であるにもかかわらずその死亡率は高い。米国では年間45,000人が急性膵炎を発症し、約4,000人がその合併症のため死亡するとされている⁸⁾。我が国においても、厚生省特定疾患難治性膵疾患研究班の1982~1986年度を対象とした全国調査(齋藤洋一班長)では死亡率が30%、1996年度(小川道雄班長)では27%と報告されている。治療法としては病態の主因である膵局所に対する局所療法と比較的早期に生じる重要臓器不全と後期の重症感染症に基づく多臓器不全に対する全身療法に大別される。われわれは主因である膵局所での炎症を早期に制御することが急性膵炎の重症化を防ぐ最大の手段ではないかと考え、膵局所療法について検討した。その結果、動注群では収縮期血圧、平均動脈圧は術直後より低下するものの術後2時間頃より改善傾向を認め、術後6時間目には術前値と比較して有意差のない状態までに改善していた。しかし、無治療群、静注群では術直後より低下し、その後も

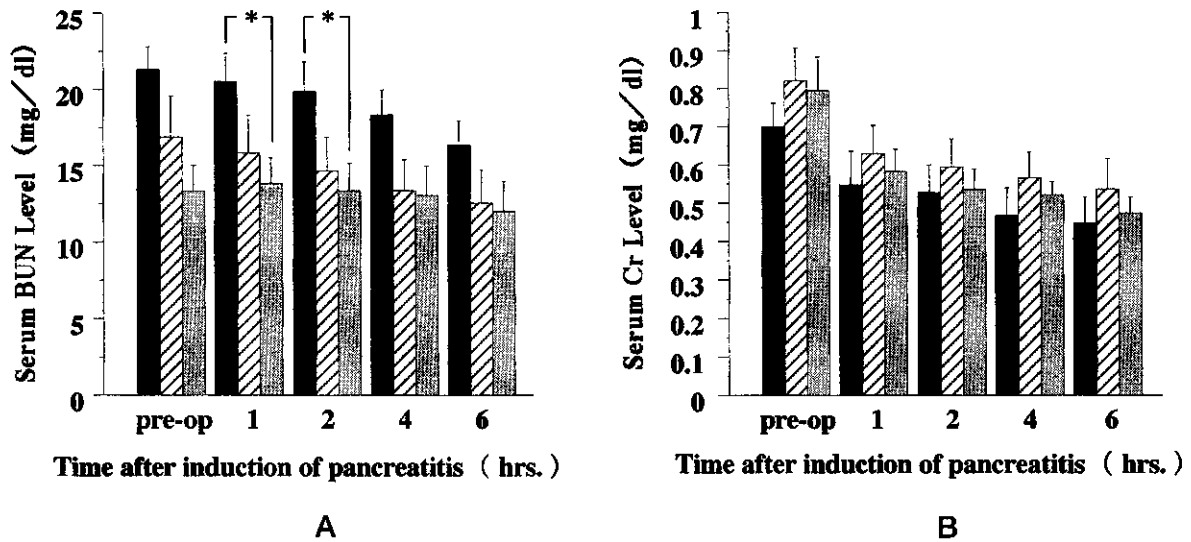


Fig. 4. Serum BUN and Cr levels.

Fig.4A shows serum BUN levels, and Fig.4B shows serum Cr levels. ■, Group A is the non-treatment group (n=6); ▨, Group B is received FOY-007 intravenously (n=6); ▩, Group C is received FOY-007 via the celiac artery (n=6), respectively. Symbols indicate the significant difference in each experimental group for time after induction of pancreatitis, as follows. *Significant differences by one-way analysis of variance ($P < 0.05$), Group A versus Group C.

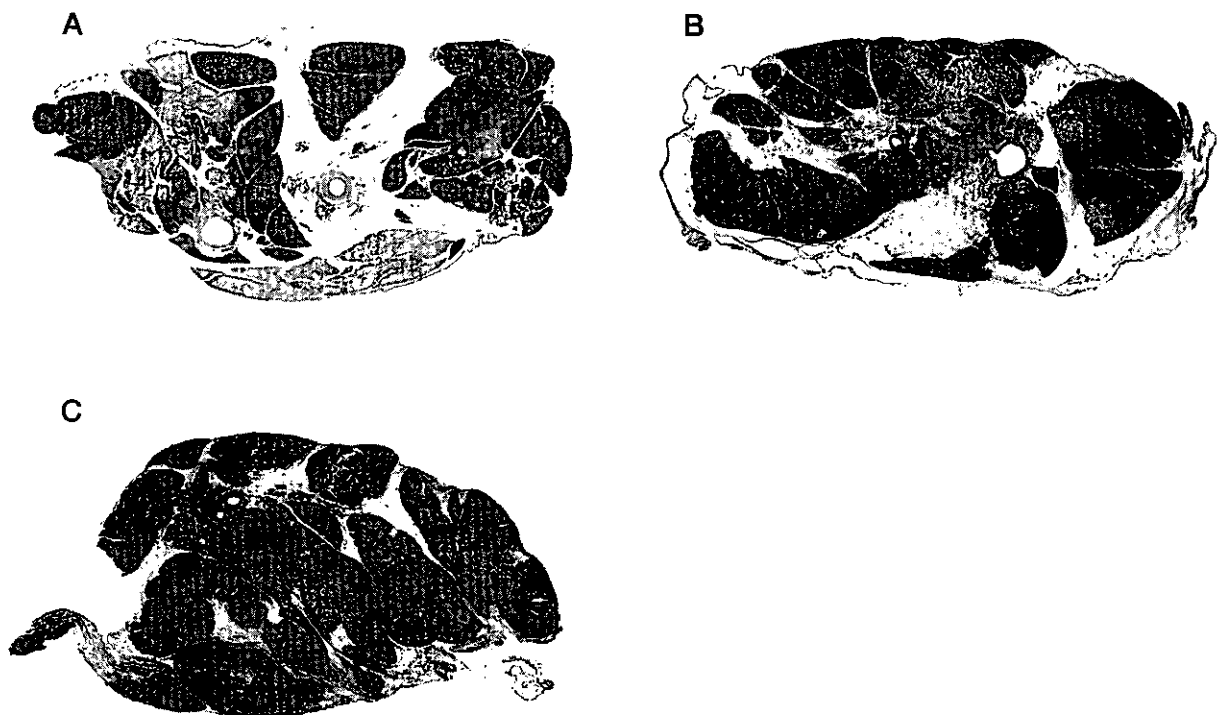


Fig. 5. Histological findings of experimental animals.

The findings of the pancreatic specimen, magnified 10 times (HE staining), taken by autopsy. Fig. 5A-C shows the findings of the specimen in group A-C.

改善傾向は見られなかった。以上より、FOY-007の持続動注療法は早期に全身循環動態を改善させ、早期に生じる重要臓器不全を予防できることが示唆された。

急性膵炎は何らかの理由⁹⁾で膵腺房細胞のチモーゲン顆粒内でトリプシンの活性化が始まり^{10,11)}、非活性化型で存在している種々の膵酵素の多くをトリプシンが活性化することにより、チモーゲン顆粒内から活性化された膵酵素が間質に逸脱し、膵腺房細胞の壊死、間質の浮腫、毛細血管や膵管の破綻、さらには膵周囲後腹膜腔脂肪の出血壊死などさまざまな組織破壊を引き起こす。さらにこの組織破壊の進展がマクロファージの活性化を始め、大量のサイトカインの誘導と標的臓器への好中球の集積ならびに活性化を惹起する。その結果、標的臓器に集積した好中球が臓器障害を引き起こし、重症化へと発展していくものと考えられている¹²⁾。

歴史的には急性膵炎に対して蛋白分解酵素阻害剤である aprotinin の経静脈的投与が広く行われてきた。しかし、その効果については aprotinin の静注では膵にわずかの取り込みしか認められないこと¹³⁾や、分子量が6512と大きいため体内の蛋白分解酵素阻害剤である α_2 -macroglobulin と結合した trypsin の阻害活性がきわめて弱いこと、また thrombin, Clr および Cls を阻害しないことなどから十分な評価が得られなかった。1987年武田ら¹⁴⁾は aprotinin の経静脈的投与では膵組織に十分な量が到達しないた

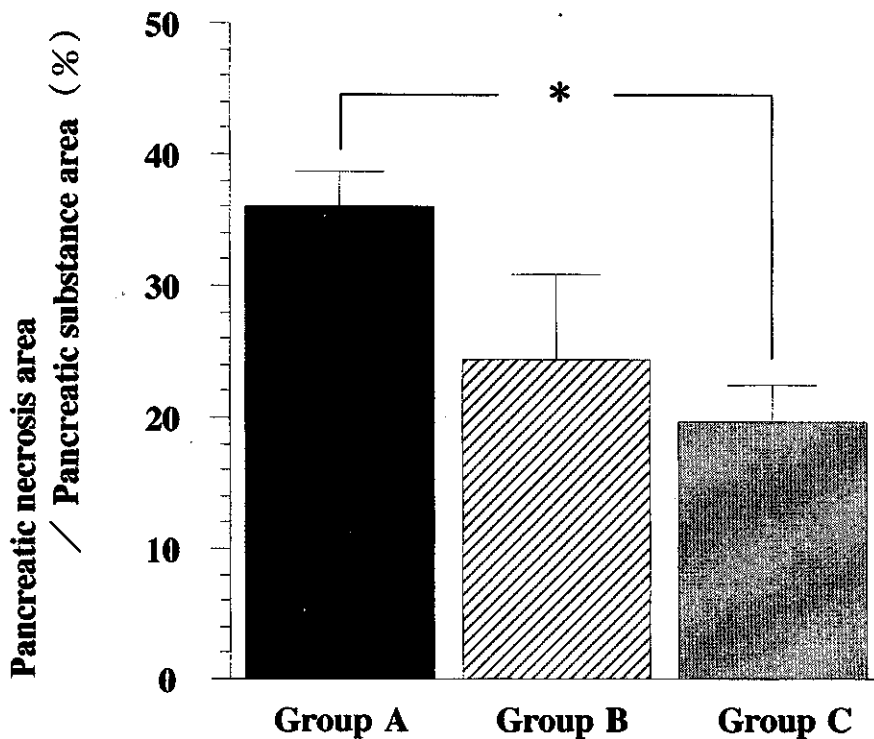


Fig. 6. The ratio of pancreatic necrosis area / pancreatic substance area, taken by autopsy.

■, Group A is the non-treatment group (n=6); ▨, Group B received FOY-007 intravenously (n=6); ▩, Group C received FOY-007 via celiac artery (n=6), respectively. Symbols indicate the significant difference in each experimental group after 6 hours after induction of pancreatitis, as follows. *Significant differences by one-way analysis of variance ($P < 0.05$), Group A versus Group C.

め膵局所の炎症を制御できないとし、膵組織内の aprotinin 濃度を高めることにより膵炎の進展を抑制できるのではないかと考え、aprotinin の持続動注療法を考案し、実験的に検討した。その結果、膵壊死は対照群と静注群で差はなかったが、動注群では極めて軽度であったと報告している。さらに1990年角川ら¹⁵⁾ は aprotinin よりも強力な阻害活性を持ち、分子量も540と小さい nafamostat mesilate (以下、FUT-175と略記) を用いた持続動注療法の効果を実験的に検討した結果、静注群では不十分ながら膵壊死の進展を抑制できたが、動注群では膵組織内の FUT-175濃度は静注群の5倍を示し、膵内の trypsin like activity (以下、TLA と略記) および膵壊死の進展を著明に抑制したと報告している。今回われわれの実験結果では動注群は静注群に比べ32倍の膵組織内薬剤濃度を認めた。また各部位において比較すると、膵頭部では12倍、膵体部では46倍と有意に高値を示した。さらに膵尾部では51倍の差を認めた。静注群では各部位に均等な FOY 濃度を認めた。一方、動注群では膵頭部に対して膵体尾部、特に膵体部で高値を認めた。この理由として静注群では体循環を経由してその内の数%が膵臓を還流する¹⁶⁾ ことから、直接膵臓に還流できる動注群より低値を示したと考えられた。また今回の実験では、動注カテーテルの先端が腹腔動脈にあり膵への血流の関係から膵頭部では固有肝動脈への FOY-007の

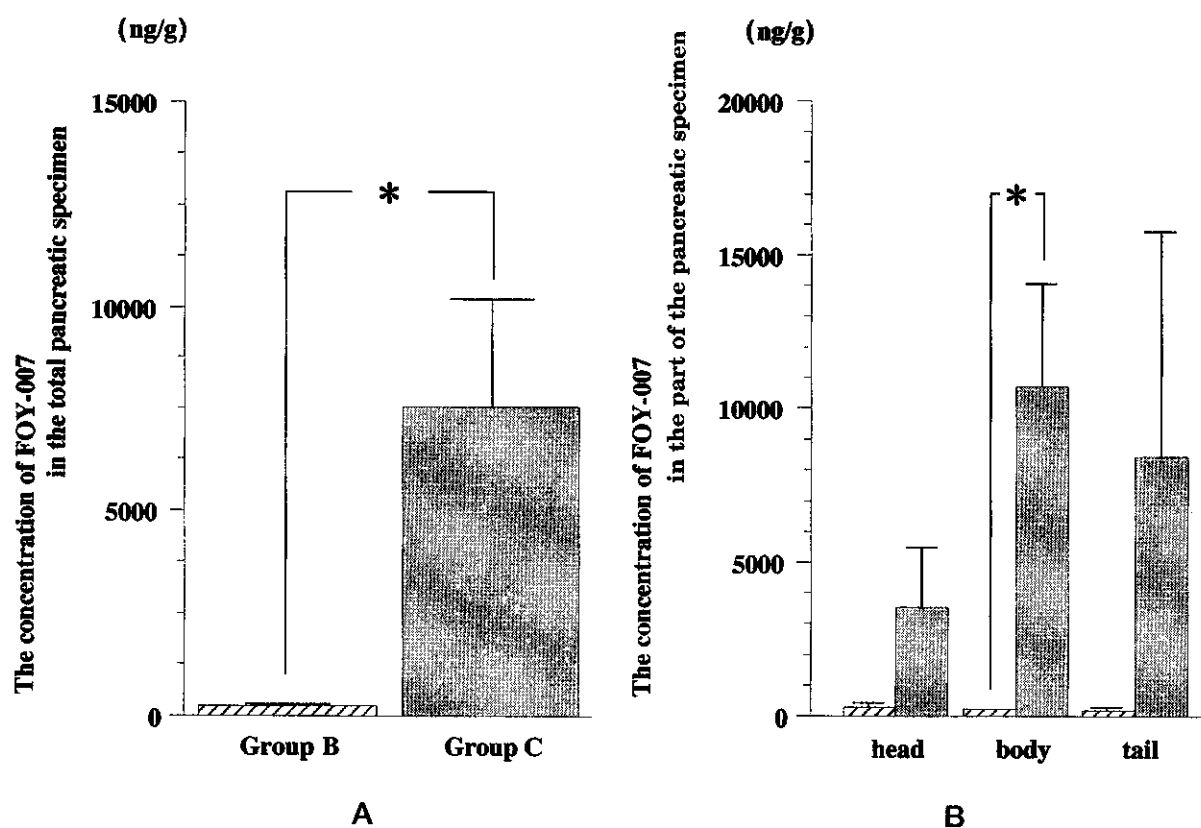


Fig. 7. FOY-007 levels in a specimen of the pancreas.

Fig.7A shows FOY-007 levels in the total pancreatic specimens, and Fig.7B shows FOY-007 levels in the part of a pancreatic specimen. ▨, Group B received FOY-007 intravenously (n=3); □, Group C is received FOY-007 via the celiac artery (n=3), respectively. Symbols indicate the significant difference in both experimental groups 6 hours after induction of pancreatitis, as follows. *Significant differences by Student's *t*-test ($P < 0.05$).

流出による低下が考えられた。膵体尾部ではカテーテル先端に近い脾動脈からの流入により高値を示したと考えられた。実際の臨床において画像診断で膵の壊死部位、壊死範囲を確定し、動脈カテーテルの留置位置、留置本数を検討することにより膵の炎症が最も重症な部分に近い血管内にカテーテル先端を留置することにより、薬剤の膵局所内高値が得られ、より良い膵炎の局所コントロールが得られる可能性が示唆された。

また蛋白分解酵素阻害剤の投与方法に関する実験的検討では、Takasugiら⁶³は十二指腸盲管モデルで、盲管内にそれぞれFOY-305およびFOY-007を投与し、またWakayamaら⁷¹はNa-taurocholateの膵管注入モデルにおいてFOY-007を膵管内に投与し、膵病変の進展を抑制したと報告している。これらduct systemへの蛋白分解酵素阻害剤の投与は膵炎の発症機序から考えると合理的ではあるが、臨床の場で遭遇する重症急性膵炎に対して、安全に膵管内に蛋白分解酵素阻害剤を投与する方法は今だ確立されておらず、膵に高濃度の蛋白分解酵素阻害剤を到達させる方法としては、動注か大量静注法によるしかない。現在、臨床ではFUT-175を用いた持続動注療法が多用され、著効例が報告されている。以前よりFUT-175は尿細管のNa, K-ATPase活性の阻害作用から高カリウム血症をおこすとされていたが、最近になり、尿細管上皮細胞に発現するセリンプロテアーゼであるプロスタシンの分泌阻害が高カリウム血症の原因ではないか、つまりプロスタシンは遠位尿細管の上皮性Naチャンネルを活性化することで電解質のバランスを正常に調節しているが、FUT-175がプロスタシンの分泌を阻害することで、上皮性Naチャンネル活性を抑制し、高カリウム血症を引き起こす可能性があるとの報告がなされた¹⁷²。そこでわれわれはFUT-175と同様の効能を持ち、電解質異常を来さないFOY-007を用いた。急性膵炎に対するFOY-007の有用性については、欧米で行われた多施設無作為比較試験の結果からはその有用性は実証されていないが¹⁸³、最近のメタアナリシスの結果からは膵炎における有用性が示されるようになった¹⁸⁹。われわれの行った持続動注療法の効果についての基礎的検討の結果では、動注群で血清amylase, lipase値、腹水中amylase, lipase値、膵壊死率が有意に改善した。静注群では血清amylase, lipase値の有意な改善を認めたと、腹水中amylase, lipase値、膵壊死率では有意差は認められなかった。この理由として静注では血液による希釈効果を受ける他に、FOYは血漿中に多量に存在するesteraseによってすみやかに加水分解されるため²⁰¹、動注と同じ効果が得られなかったと考えられた。今回用いた用量はDICに対する臨床的検討で安全性が確認されている2 mg/kg/hrより多い量であったが、静注による膵壊死抑制効果は十分なものとはいえなかった。これに対して動注では膵組織内薬物濃度が静注の32倍を示し、膵壊死が有意に抑制され、さらに動注法の投与量、投与部位などの工夫によりさらなる膵組織内薬物濃度調節が可能となり、膵壊死率の改善が期待された。

これらの実験成績から、重症急性膵炎に対する局所療法としてFOY-007の持続動注療法は有用かつ、臨床応用の可能性がある治療法と考える。

参 考 文 献

- 1) Cavallini G, Di Francesco V, Bovo P. Antiprotease : new aspects of treatment. In : Buchler MW, Uhl W, Friess H, et al, editors. Acute pancreatitis. Novel concepts in biology and therapy. Berlin : Blackwell Science, 1999 : 299-305.
- 2) Grozinger KH, Schrey A, Wabnitz RW. Proteinase-inhibition. München : Dr. C. Wolf & Sohn, 1981.
- 3) Lankish PG, Pohl U, Goke B, Otto J, Wereszczynska-Siemiatkowska U, Grone H-J, Rahlf G. Effect of FOY-305 (camostat) on severe acute pancreatitis in two animal models. Gastroenterology 1989 ; 96 : 193-9.
- 4) Niederau C, Liddle RA, Ferrell LD, Grendell JH. Beneficial effects of cholecystokinin-receptor blockade and inhibition

- of proteolytic enzyme activity in experimental acute hemorrhagic pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 1989 ; 96 : 193-9 .
- 5) Wisner JR, Renner IG, Grendell JH, Niederau C, Ferrell LD. Gabexate mesilate (FOY) protects against ceruletide-induced acute pancreatitis in the rat. *Pancreas* 1987 ; 2 : 181-6.
 - 6) Takasugi S, Yonezawa H, Ikei N, et al. Prevention of acute experimental pancreatitis in rats and dogs by intraduodenal infusion of a synthetic trypsin inhibitor. *Digestion* 1982 ; 24 : 36-41.
 - 7) Wakayama T, Itoh T, Shibayama K, et al. Prevention of the spread of experimental acute pancreatitis by intraductal administration of a synthetic protease inhibitor in dogs. *Am J Gastroenterol* 1989 ; 84 : 272-8.
 - 8) Bradley III EL, Warshaw AL. Pancreatic abscess. In : Go VLW, et al. editors. *The pancreas : biology, pathobiology, and disease*. 2nd edition, New York : Raven Press, 1993 : 649-63.
 - 9) Topazian M, Gorelick FS. Acute pancreatitis. In : Yamada T, Alpers DH, Laine L, et al, editors. *Textbook of gastroenterology*, 3rd edition. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 1999 : 2121-150.
 - 10) Steer ML. Pathogenesis of acute pancreatitis. *Digestion* 1997 ; 58 Suppl 1 : 46-9.
 - 11) Leach SD, Modlin IM, Scheele GA, et al. Intracellular activation of digestive zymogens in rat pancreatic acini. Stimulation by high dose of cholecystokinin. *J Clin Invest* 1991 ; 87 : 362-6.
 - 12) Ogawa M. Mechanisms of the development of organ failure following surgical insult : the 'second attack' theory. *Clin Intens Care* 1996 ; 7 : 1-5.
 - 13) Kaller H, Patzschke K, Wegner LA, et al. Pharmacokinetic observations following intravenous administration of radioactively labelled aprotinin in volunteers. *Eur J Drug Metabol Pharmacokinet* 1965 ; 3 : 79-85.
 - 14) 武田和憲, 他. 実験的急性膵炎に対するトリプル阻害剤持続動注療法の効果. *膵臓* 1987 ; 2 : 151-158.
 - 15) 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 : 1444-1450.
 - 16) Masayasu S, Tsumoru M, Hidetoshi Y, et al. Studies on Absorption, Distribution, Excretion and Metabolism of Ethyl *p*-(6-guanidinohexanoyloxy) benzoate methanesulfonate. *Pharmacometrics* 1975 ; 9 : 733-742.
 - 17) 北村健一郎, 雷田公夫. Secretion mechanism of the prostaglandin in the renal uriniferous tubule and examination of the clinical significance. Sixth disease state and protease in the treatment and inhibitor workshop. 2001 (in Japanese).
 - 18) Büchler M, Malferthiner P, Uhl W, et al. Gabexate mesilate in human acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1993 ; 104 : 1165-70.
 - 19) Messori A, Rampazzo R, Scroccaro G, et al. Effectiveness of gabexate mesilate in acute pancreatitis : a meta-analysis. *Dig Dis Sci* 1995 ; 40 : 734-8.
 - 20) Nishijima MK, Takezawa J, Taenaka N, et al. Application of HPLC measurement of plasma concentration of gabexate mesilate. *Thromb Res* 1983 ; 279-84.

ラット急性出血性膵炎モデルにおけるポリミキシンB 吸着カラムの治療効果に関する検討

研究報告者 中尾昭公

名古屋大学第二外科

共同研究者 山下克也 井上総一郎

要旨：(目的) ラット急性出血性膵炎モデルにおいて、体外循環下にポリミキシンB吸着カラム(以下PMXカラム)を使用し、その生存率に与える効果、肺傷害の軽減効果、各種パラメーターの変化、特にアナンダマイドの吸着に関して、その効果を検討した。(方法) Wistar 雄性ラットを用いて、腎静脈下大静脈および頸静脈へチューブを挿入し、体外循環回路を作成した。トリプシン、デオキシコール酸を膵管内注入し急性出血性膵炎を作成した。治療群：膵炎作成直後PMXカラムへ接続し、体外循環を施行した。コントロール群：膵炎作成直後カラムを使用せず、体外循環を施行した。(結果) 生存時間、膵組織の経時的病理組織変化に両群で差を認めなかったが、肺組織の病理組織所見で肺胞壁への好中球等の炎症性細胞浸潤は、PMX(-)の方が、強い傾向が窺えた。また各種血液データでは、白血球数、血清アミラーゼ、リパーゼは、PMX使用群で明らかに低値を示した。(結語) ラット急性出血性膵炎モデルにおいて、PMXカラムを用いた体外循環により1) 病理組織的な変化から、肺傷害の軽減2) 血液生化学データにより、膵炎そのものの軽減の可能性が示唆された。

はじめに

以前我々は、ラット急性出血性膵炎において抗好中球抗体の投与により肺傷害の軽減とそれによる生存率の延長をもたらすことを報告した^{1,2)}。

今回我々はポリミキシンB吸着カラム(以下PMXカラム)が好中球および単球を良好に吸着することに着目し、同様なモデルを用いて、より実践的な手法として膵炎導入後の体外循環による治療効果について検討してきた。

目 的

ラット急性出血性膵炎モデルにおいて、体外循環下にPMXカラムを使用し、その生存率に与える効果、肺傷害の軽減効果、各種パラメーターの変化を検討した。

方 法

1) Wistar 雄性ラット(350-400g)を用いてネンブタール麻酔下に、脱血用に腎静脈下大静脈へ4 Fr および送血用に頸静脈へ3 Fr チューブを挿入し、体外循環回路を作成した(図1)。回路は0.5%

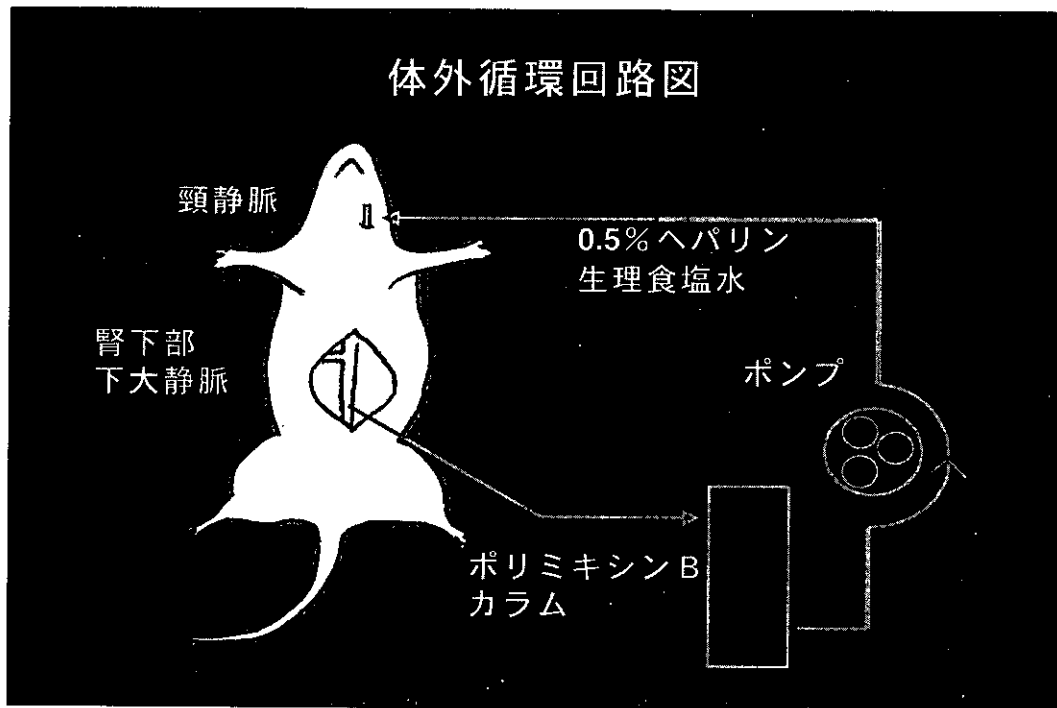


図1. ラット急性出血性膵炎モデルにおけるポリミキシンB吸着カラムの治療効果に関する検討

ヘパリン生理食塩水にて priming し、ペリスタティックポンプを用いて循環した。PMX カラム内にはポリプロピレンを補強剤とした α -クロロアセトアミドメチル化ポリスチレン複合繊維に抗生物質ポリミキシンBを共有結合した繊維状吸着剤を充填している。

2) 続いて従来どおりトリプシン 4 mg/kg, デオキシコール酸 8 mg/kgを膵管内注入し急性出血性膵炎を作成した。

治療群：膵炎作成直後 PMX カラムへ接続し、体外循環を行った。

コントロール群：膵炎作成直後カラムを使用せず、体外循環を行った。

3) PMX カラムの効果を検討するために、生存時間、膵・肺組織および各種血液パラメーターについて、治療群とコントロール群を比較検討した。血液パラメーターとして、末梢血白血球数 (WBC), 血清アミラーゼ, リパーゼおよび血中エンドトキシン濃度 (エンドスピーシー法) の各項目について検討した。

4) 血清アナンダマイドを高速液クロマトグラフィーにて測定し、その変動を検討する。

結 果

1) 体外循環回路作成

十分な脱血を得るために、脱血路として開腹下に腎下部下大静脈へ4 Frアトムチューブを、送血に頸静脈へ3 Frアトムチューブをカニューレーションして行ったが、この回路にて最大血流速は2.0 ml/min が得られ、安定した体外循環が可能であった。