

ラットアルギニン誘発急性膵炎における Cyclin D 1 発現の検討

研究報告者 加 嶋 敬

京都府立医科大学第三内科

共同研究者 阪 上 順 一 片 岡 慶 正 十 亀 義 生

光 吉 繭 子 臼 井 憲 子 中 林 亜 美

金 光 大 石 高 田 龍 介

要旨：ラットアルギニン誘発急性膵炎進展期においては、回復期でみられるのとは異なる PCNA や Cyclin D 1 などの G 1 cyclins の発現がみられた。これらの蛋白は、腺房細胞の核内において蛋白複合体を形成している可能性が示唆された。本モデルの急性膵炎進展期にはアポトーシスが主としてみられるため、急性膵炎初期において腺房細胞は G 0 期から G 1 期に入りアポトーシスに陥る可能性があった。他方、腺房細胞核での G 1 cyclins が DNA repair synthesis として発現している可能性もありうる。

はじめに

われわれはラットアルギニン誘発急性膵炎進展期において腺房細胞に増殖と無関係な PCNA の発現がみられ、他の G 1 cyclin との複合体を形成している可能性を指摘してきた¹⁾。今回は急性膵炎進展期に一時的に G 1 cyclin の発現がおこるのではないかとの仮説のもとに同時期の cyclin D 1 の発現について解析した。

対象と方法

Wistar 系雄性ラットにアルギニン一塩酸塩 450mg / kg 体重を単回腹腔内投与して急性膵炎を作成し、経時的に HE 染色を施した。屠殺 1 時間前に BrdU 20mg / kg 体重を静脈内投与し、急性膵炎進展期である 0, 6, 12, 24 時間後に屠殺した。膵を摘出し、一部を 4 μm 切片とし、immunogold-silver staining にて cyclin D 1, PCNA, BrdU を免疫染色し HE 染色で対染した。

一方、cyclin D 1 と PCNA の核内での共存の有無を確認するために免疫蛍光二重染色し DAPI にて対染した。また、膵の一部から total RNA を抽出し、cyclin D 1, PCNA, mRNA の膵内発現を PT-PCR 法にて検出し内部標準 G 3 PDHmRNA との比 (RGU: Relative Gene Unit) で検討した。さらに急性膵炎進展期である 12 時間後と再生期である 7 日後の膵から Western blotting を実施し cyclin D 1 蛋白発現を PCNA 蛋白発現と比較検討した。

成 績

ラットアルギニン誘発急性膵炎モデルは、発症1日目から組織学的にアポトーシスを主とする腺房崩壊によって、3日目には duct-like tubular complex の像を呈する。その後、腺房細胞の増殖がおこり、14日目には組織学的にはわずかな線維化を残して回復するモデルである (図1)。

膵腺房細胞核の PCNA 陽性率は12時間後のピークをきたし、cyclin D 1 は12~24時間後に核に中等度の染色性が出現した。急性膵炎進展期には BrdU 陽性の腺房細胞核はみられなかった (図2-1, 2-2, 2-3)。免疫蛍光二重染色では、cyclin D 1 陽性の腺房細胞核は PCNA も陽性であった (図3)。PCNA mRNA は12時間後に0.886RGU (control:0.302RGU) と上昇し、cyclin D 1 mRNA は24時間後に1.776RGU (control:1.467RGU) と軽度の上昇を認めた (図4)。Western blotting では PCNA 蛋白質は12時間後に71kD の発現が強く、7日後の36kD の発現と異なったパターンを呈し、同様に cyclin D 1 蛋白質も7日後の35kD の発現と異なり12~24時間後に72kD の強発現が捉えられた (図5-1, 5-2)。

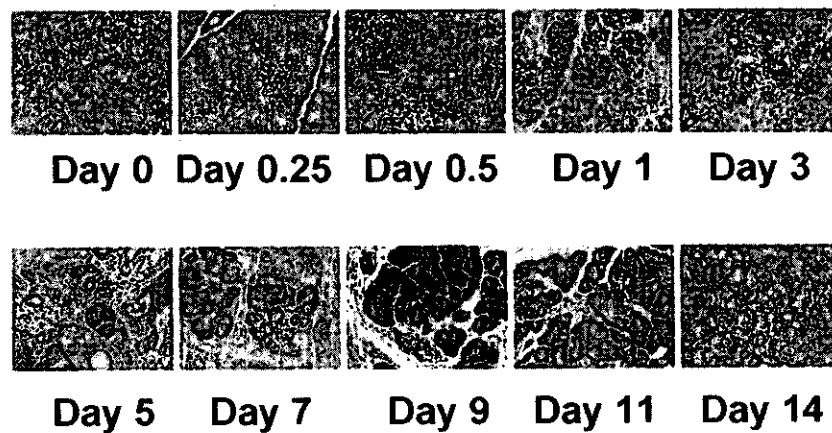


図1. アルギニン膵炎の HE 染色像

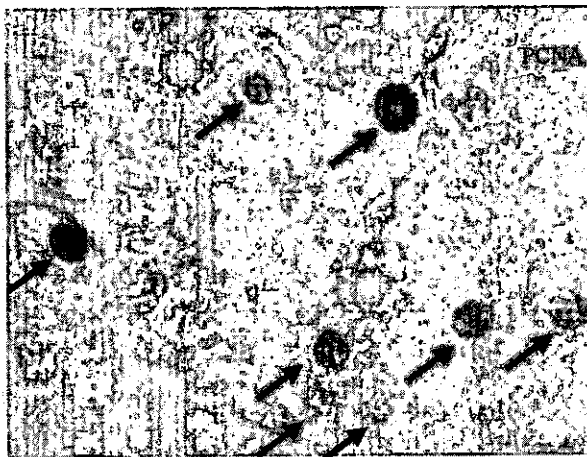


図2-1. アルギニン膵炎進展期の PCNA 染色

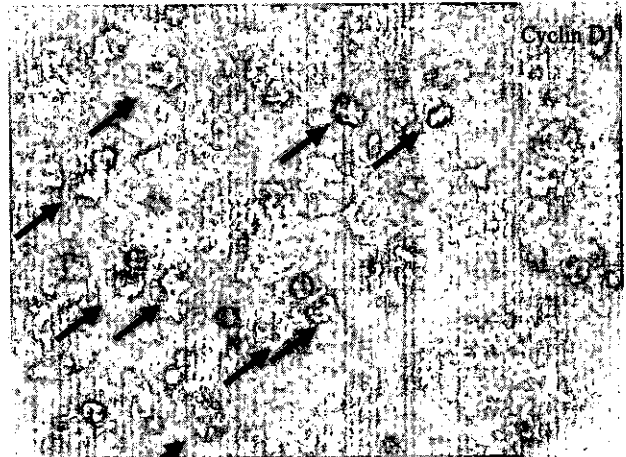


図2-2. アルギニン膵炎進展期の Cyclin D 1 染色



図 2-3. アルギニン膵炎進展期の BrdU 染色

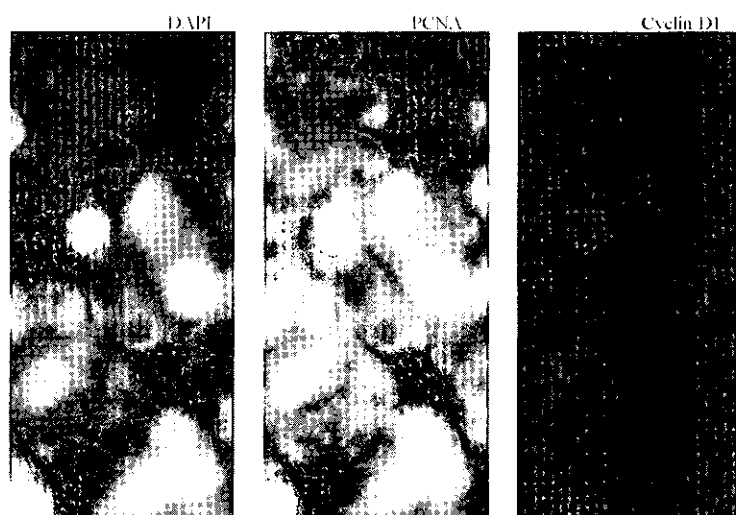


図 3. アルギニン膵炎進展期の PCNA, Cyclin D 1 二重染色

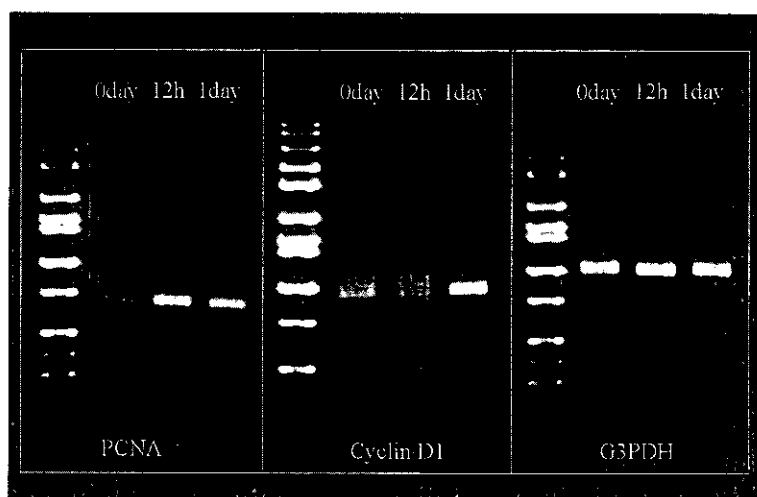


図 4. 急性膵炎進展期の PCNA, Cyclin D 1 mRNA 発現

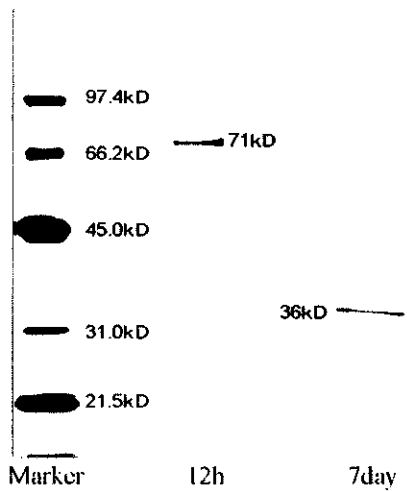


図 5-1. アルギニン膵炎の PCNA 蛋白発現

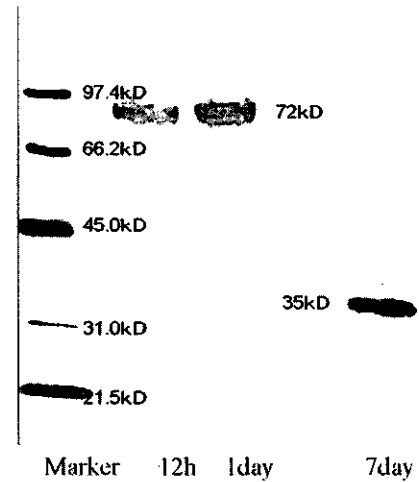


図 5-2. アルギニン膵炎の Cyclin D1 蛋白発現

考 察

ラットアルギニン誘発急性膵炎進展期には腺房細胞増殖とは無関係な cyclin D1 や PCNA などの G1 cyclin の発現が腺房細胞核にみられ、その多くは蛋白複合体を形成している可能性が示唆された。また、本モデルの膵炎進展期にはアポトーシスが主としてみられる。急性膵炎初期においては腺房細胞には増殖刺激となり G0 期から G1 期に入ることを示唆する報告もあり²⁾、その後、腺房細胞はアポトーシスを主体とした組織崩壊に陥っていく可能性がある。また、肝細胞などでみられるように、膵腺房細胞核でも G1 Cyclins が DNA repair synthesis として発現する役割も示唆され³⁾、急性膵炎進展期における腺房細胞のアポトーシスが膵炎の防御因子か増悪因子かを論ずるためにも今後の追加研究は必要であると考えている。

参 考 文 献

- 1) Sakagami J, Kataoka K, Ohta A, et al. Relationship of plasma CCK to acinar cell regeneration in acute pancreatitis as studied by proliferating cell nuclear antigen. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1828-37.
- 2) de Dios I, Urunuela A, Pinto RM, et al. Cell-cycle distribution of pancreatic cells from rats with acute pancreatitis induced by bile-pancreatic obstruction. *Cell Tissue Res* 2000; 300: 307-14.
- 3) Kinoshita A, Wanibuchi H, Imaoka S, et al. Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine and cell-cycle arrest in the rat liver via generation of oxidative stress by phenobarbital: association with expression profiles of p21 (WAF1/Cip 1), cyclin D1 and Ogg1. *Carcinogenesis* 2002; 23: 341-9.

膵線維化における成長因子の役割 —膵管閉塞例についての検討—

研究報告者 須田 耕一

順天堂大学第一病理

共同研究者 福村 由紀 熊坂 利夫 三谷 恵子

細川 義則 阿部 寛 和泉 元喜

柿沼 千早

要旨：慢性膵炎において膵線維化に深く関わる筋線維芽細胞と成長因子（IGF-1, PDGF）の局在・発現を膵管閉塞症例を用いて検討した。その結果、線維化は小葉間、または小葉間・小葉内に様々の程度で認められ、筋線維芽細胞の増生が主体をなしていた。IGF-1とPDGFはいずれも線維化部でのみ腺房中心細胞／介在部にその発現を認めた。また、PDGFは線維化の進行部位で筋線維芽細胞に局在・発現を認めた。このことにより膵の線維化に、次の機序が想定された。すなわち、1) 腺房中心細胞や介在部で発現・分泌したIGF-1とPDGFが周囲の紡錘形細胞（多くの場合、筋線維芽細胞に相当）にパラクライン的に作用し、小葉内線維化を形成する。2) 線維化進行期においては筋線維芽細胞自身がPDGFを発現し、オートクライン的に作用し、線維化をさらに増強させる。

はじめに

最近の報告¹⁻³⁾によれば、膵の線維化は、肝や肺等、他臓器におけるそれと同様に、筋線維芽細胞が重要な役割を果たし、その活性化やマトリックス合成機序に関与する mediator 等の知見が集積されている。すなわち、筋線維芽細胞の形質転換・増生・コラーゲン分泌には platelet derived growth factor (PDGF), transforming growth factor β (TGF- β), insulin-like growth factor 1 (IGF-1), fibroblast growth factor (FGF), tumor necrosis factor α (TNF- α) 等の成長因子が関わっている。この中で、未だ議論もあるが、TGF- β が筋線維芽細胞の形質転換にもっとも重要で、また、PDGFがその増生の主な因子として合意ができつつある。しかし、これらの大部分は培養筋線維芽細胞を用いた *in vitro*、あるいは動物実験に基づくもので、ヒトの膵組織を用いた病理学的観点からの報告はほとんど見られない。そこで今回、膵管の閉塞機転で尾側に出現する線維化を対象として、膵線維化における筋線維芽細胞の増生と成長因子による制御機構を検討した。

方 法

膵管閉塞症例として、膵頭／体部癌もしくは十二指腸乳頭部癌の切除膵計21症例より得られた尾側非腫瘍性膵組織35片を対象とした。内訳は、膵頭部癌11例、膵体部癌8例、および十二指腸乳頭部癌2例；男性10例、女性11例で平均年齢が65.4歳であった。コントロールは、癌の頭側膵組織7例、7片

(膵頭部癌 6 例, 膵体部癌 1 例; 男性 2 例, 女性 5 例; 平均年齢 65.9 歳) を用いた。

膵組織片は 10% 中性緩衝ホルマリン溶液で 24 時間固定・パラフィン包埋後, 4 μ m 厚に薄切し, ヘマトキシリン・エオジン染色を施行した。また, 筋線維芽細胞のマーカーである抗 α -smooth muscle actin (α -SMA), 成長因子である抗 IGF-1, 抗 PDGF, および抗 IGF-1 receptor に対する免疫染色を間接法 (Envision 法, DAKO) で行った (表 1)。さらに, IGF-1 と PDGF による messenger RNA の in situ hybridization (ISH) を施行した。なお, IGF-1 は独自で設計したプローブを, PDGF については市販のそれを用いた。また, poly-T probe による mRNA の保存度の検定と, sense probe および陰性コントロールによる検討も行った (表 2)。

表 1. 免疫組織化学で用いた抗体

抗体 (製造元)	クローン	希釈
α -SMA (DAKO)	1A4	1 : 300
PDGF (Santa Cruz)	Rabbit polyclonal	1 : 300
IGF-1 (Chemicon)	Sheep polyclonal	1 : 200

表 2. In situ hybridization で使用したプローブ

プローブ	配列
PDGF	Brigati probe (Research genetics)
IGF-1	AS; 5'-ctgcttttgatttcttgaaggtgaagatgcacac-3'
	AS; 5'-gacgaaaacactaaagaacttccacttctacgtgtg-3'
	S; 5'-gaactacaggatgtaggaagacctcctgaggagt-3'
	S; 5'-ctgcttttgatttcttgaaggtgaagatgc acac-3'

結 果

膵障害, すなわち, 腺房の萎縮, 線維化, 膵管上皮の変性・脱落・再生等は, 検討した 21 例全例のどの部分かに認められた。そのうち線維化はほとんどないもの (35 片中 10 片) から小葉間にのみ軽度あるもの (11 片), 小葉間のみならず小葉内にも見られる高度なもの (14 片) と様々であった (図 1)。

免疫組織化学的に線維化は小葉間・小葉内とも α -SMA 陽性の紡錘形細胞, すなわち, 筋線維芽細胞の増生が主体をなしていた (図 2)。成長因子である IGF-1 と PDGF は, 免疫組織化学ならびに ISH において, いずれも線維化が見られる部位でのみ腺房中心細胞/介在部の約 10% にその発現を認めた (図 3, 4)。IGF-1 receptor は線維化の有無にかかわらず小葉間・小葉内の膵管と腺房中心細胞/介在部の約 50% にその染色性を認めたが筋線維芽細胞に相当する紡錘形細胞には発現を認めなかった。

PDGF は, 同様に免疫組織化学ならびに ISH において高度に進行した小葉間・小葉内線維化葉の筋線維芽細胞に相当する紡錘形細胞の約 40% に染色性を認めた (図 5)。

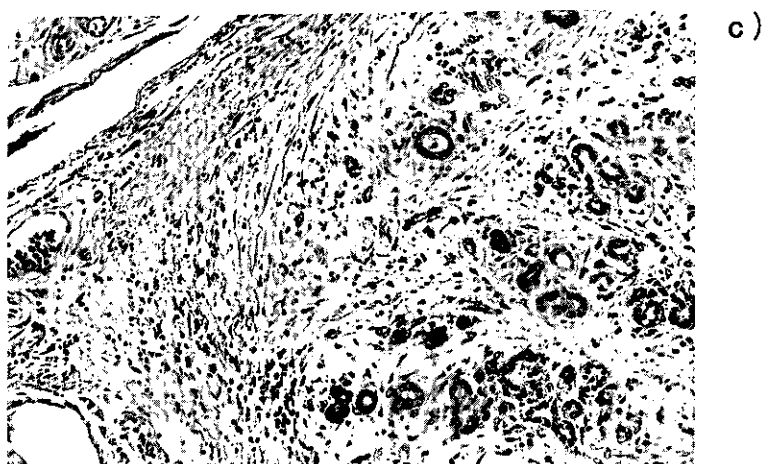
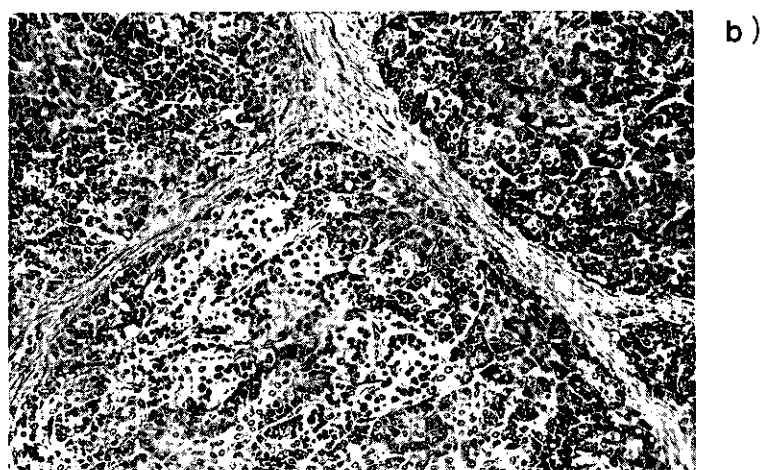
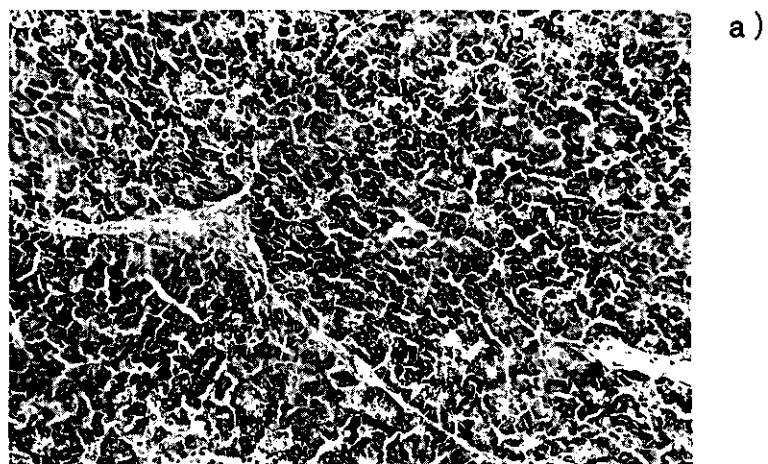


図1. 膵管閉塞症例における膵組織像

a) 非線維化部分，小葉間・小葉内とも線維化が見られない。b) 軽度線維化部分，小葉間に線維化を認める。c) 高度線維化部分，小葉間および小葉内に線維化を認める。腺房細胞の脱落が著しく小葉が荒廃している。H.E. 染色，各 x200

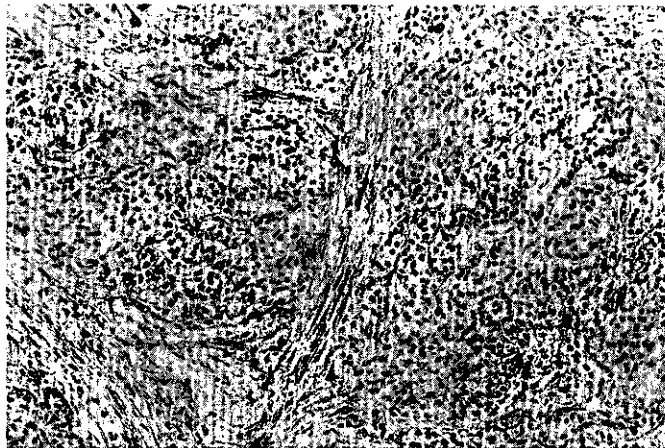


図 2. 筋線維芽細胞の増生

小葉間・小葉内線維化にほぼ一致して α -SMA 陽性の筋線維芽細胞が増生している。

α -SMA に対する免疫染色, x 200

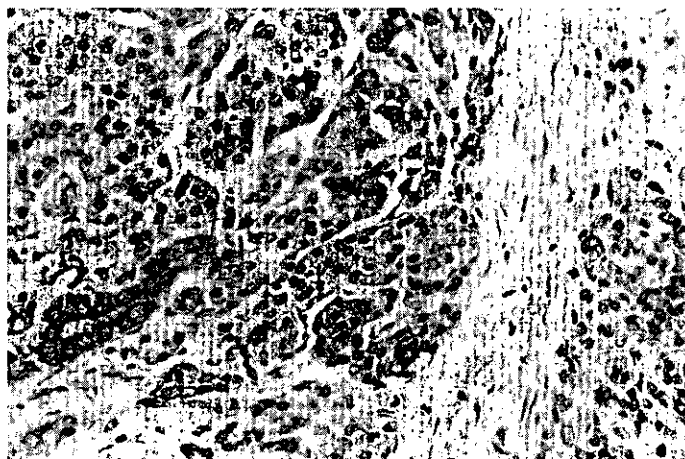


図 3. IGF-1 の局在

腺房中心細胞／介在部に IGF-1 の免疫染色性を認める。

IGF-1 に対する免疫染色, x400

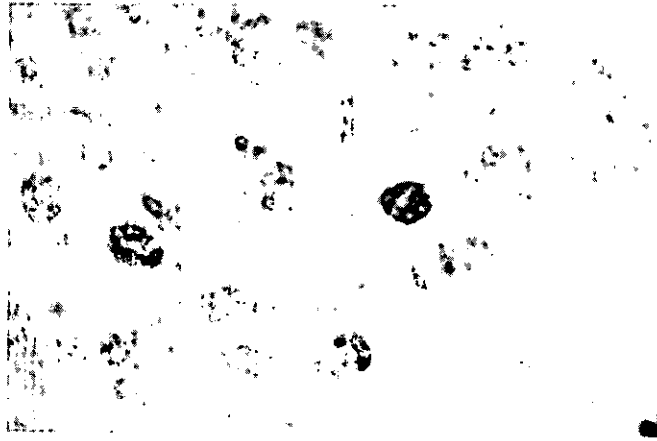


図 4. IGF-1 の発現性

高度線維化症例の腺房中心細胞／介在部に IGF-1 messenger RNA の発現を認める。

IGF-1 の *in situ* hybridization, x400

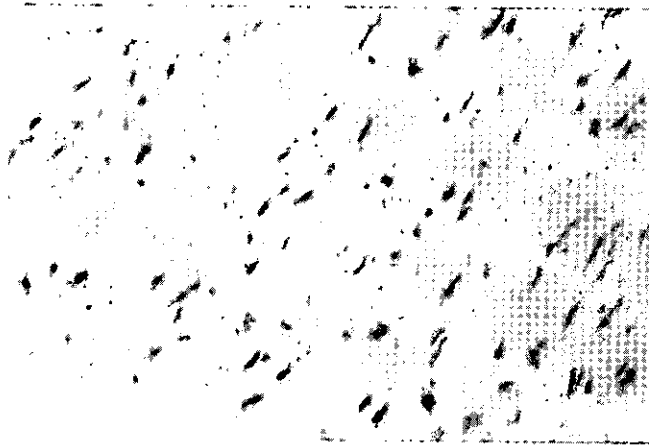


図 5. PDGF の発現性

高度線維化症例の紡錘形細胞に PDGF messenger RNA の発現を認める。

PDGF の *in situ* hybridization, x400

考 察

今回検討した癌による膵管閉塞21症例における膵線維化像は、程度の軽いものから高度なものまで様々で、いずれも α -SMA陽性の筋線維芽細胞が主体をなしていた。これらの所見は筆者らの既報⁴⁾、すなわち、膵管閉塞の上流組織では初期には小葉間にのみ、次いで小葉間に加えて小葉内にも線維化を来とし、それらが筋線維芽細胞の増生より成る、に合致するものであった。このように膵の様々な線維化像は筋線維芽細胞の増生よりなっていた。

筋線維芽細胞は、膵では肝における伊東細胞と同様に pancreatic stellate cell がその前駆細胞といわれている³⁾。今回、成長因子である PDGF と IGF-1 が線維化巣でのみ腺房中心細胞／介在部に発現し、このことより線維化の主体をなす筋線維芽細胞との関わりが注目された。IGF-1 receptor は筋線維芽細胞と考えられる紡錘形細胞には検出されなかったが、in vitro の報告では前述のように PDGF, TGF- β , IGF-1, FGF 等の成長因子が筋線維芽細胞の形質転換・増生・コラーゲン分泌に関与しているとされている。以上より、腺房中心細胞／介在部より発現・分泌された PDGF と IGF-1 が線維化の mediator として周囲の筋線維芽細胞にパラクライン的に作用し、小葉内線維化を形成している機序が想定された。

さらに、線維化の進行部位には、免疫組織化学的ならびに ISH において、筋線維芽細胞の主たる増生因子である PDGF が筋線維芽細胞に局在・発現していた。PDGF に関する従来^{5),6)}の報告によれば、その局在・発現は血小板・単球／マクロファージ・血管内皮／平滑筋細胞等に認められているが、筋線維芽細胞では確認されていない。この違いは、検出方法、すなわち in vitro と in vivo の違いによるか、さらに検討を要するが、筆者らの今回の結果から、線維化の進行期においては、筋線維芽細胞が PDGF を発現・分泌し、オートクライン的に自身の増生とコラーゲンの分泌に関わっていると考えられた。

結 語

膵の小葉内線維化には腺房中心細胞／介在部が分泌した成長因子が、また、線維化進行期には筋線維芽細胞自身が分泌した成長因子が関わっている可能性が示唆された。今後、TGF- β の関与についても確認していきたいと考える。

参 考 文 献

- 1) Powell W, Mifflin C, Valentich D, et al. Myofibroblasts. I. Paracrine cells important in health and disease. Am J Physiol 1999 ; 277 : C1-19.
- 2) Schneider E, Schmid-Kotsas A, Zhao J, et al. Identification of mediators stimulating proliferation and matrix synthesis of rat pancreatic stellate cells. Am J Physiol 2001 ; 281 : C532-43.
- 3) Bachem M, Schneider E, Gro β H, et al. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. Gastroenterology 1998 ; 115 : 421-32.
- 4) 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.
- 5) Ross R, Raines E, Bowen-Pope D, et al. The biology of platelet-derived growth factor. Cell 1986 ; 46 : 155-69.
- 6) Buetow B, Crosby J, Kaminski W, et al. Platelet-derived growth factor B-chain of hematopoietic origin is not necessary for granulation tissue formation and its absence enhances vascularization. Am J Pathol 2001 ; 159 : 1869-76.

慢性膵炎における CFTR の機能

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 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 洋子 竹村 俊洋
 水野 聡巳 藤木 理代 近藤 孝晴

要旨： 嚢胞線維症 (cystic fibrosis ; CF) の原因遺伝子である CFTR の異常が慢性膵炎患者に認められることが報告されている。CFTR は Cl⁻チャネルであるので、CFTR 機能を評価するために、汗中の Cl⁻濃度を測定した。対象は慢性膵炎確定25例 (アルコール性21例, 特発性4例) と、性および年齢が対応 (±3歳) した健常ボランティア25名とした。発汗量は、両群間で差は見られなかった。慢性膵炎患者の汗の Cl⁻濃度は、65±29 mmol/L であり、健常ボランティア (43±16 mmol/L) に比べて有意に高かった (p<0.05)。欧米で嚢胞線維症の診断基準に使われている60 mmol/L をカットオフ値とすると、慢性膵炎患者では56%が異常高値であった。

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 (cystic fibrosis : CF) の原因遺伝子である *CFTR* (cystic fibrosis transmembrane regulator) の変異が見られる¹⁻³⁾。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⁴⁾。しかし、われわれは自験例で同様の検討を行ったところ、慢性膵炎確定52例 (アルコール性40例, 特発性12例) に欧米で多く見られる20種類の CFTR 変異は認められず、イントロン8のポリ T 配列と TG repeat の多型も健常対照者との差は見られなかった⁵⁾。本邦の慢性膵炎の *CFTR* 変異は cystic fibrosis と同様に稀な変異がほとんどであると考えられ、遺伝子検索で慢性膵炎患者の *CFTR* の異常をスクリーニングするのは現実的ではない。

CFTR は、上皮細胞において cAMP 依存性 Cl⁻チャネルとして機能し、膵導管細胞の HCO₃⁻分泌に重要な役割を果たしているとされている⁶⁾。われわれの検討でも、△F508変異 CFTR を導入した△Fマウスから単離した小葉間膵管では、cAMP 刺激による水分分泌は認められなかった⁵⁾。従来遺伝子検索が一般に行われる以前は、CF の診断は汗中の Cl⁻濃度の測定、すなわち CFTR の機能を評価することによって行われてきた⁷⁾。今回は、慢性膵炎患者の汗の Cl⁻濃度を測定し、CFTR 機能の評価を試みた。

対象と方法

1. 対象 (表1)

慢性膵炎確診25例と、定期健康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25名とした。

2. 発汗量の測定と汗の採取

(1) 湿度センサを利用したデジタル発汗計 (Kenz Perspiro 201, スズケン) を用いて、一方の手の拇指球で発汗量を10分間測定した。

(2) 同時に、他方の手の拇指球で100 μ l の蒸留水が入ったエッペンドルフチューブを保持し、10分間の汗を採取した。

両手の同じ部位で測定した場合、発汗量はほぼ同量と報告されている⁸⁾。

3. 汗中 Cl^- 濃度の測定

(1) 汗中 Cl^- 濃度はキャピラリー電気泳動装置 (Bio-Rad 社製) を用いて、間接的 UV 検出法 (250nm) により測定し、4.0–4.5分で泳動される部分の面積から Cl^- 含有量を算出した。

Promellitic acid および hexamethonium hydroxide を含んだ泳動バッファーを用いた。

(2) 汗の Cl^- 濃度は Cl^- 含有量を発汗量で除して求めた。

表1. 汗の測定の対象者

対象

	健常人	慢性膵炎
	25 名	25 名
男:女	24 : 1	24 : 1
年齢(歳)	58.4 \pm 7.6	62.4 \pm 8.9
成 因	アルコール性	21 名
	特発性	4 名

結 果

(1) 対象のうち2名について異なる日に4回ずつ汗中 Cl^- 濃度を測定した。平均の汗中 Cl^- 濃度が107 mmol/L と45 mmol/L の2名の汗中 Cl^- 濃度の日差変動の変動係数 (CV) は、それぞれ6.6%と3.3%であった。

- (2) 発汗量は、慢性膵炎患者で $2.7 \pm 0.6 \mu\text{l}/\text{cm}^2/\text{min}$ (mean \pm SD), 健常ボランティアで $2.5 \pm 0.9 \mu\text{l}/\text{cm}^2/\text{min}$ であり, 有意差は見られなかった。
- (3) 図1に汗の Cl^- 濃度をヒストグラムで示す。慢性膵炎患者の汗の Cl^- 濃度は, $65 \pm 29 \text{ mmol/L}$ であり, 健常ボランティア ($43 \pm 16 \text{ mmol/L}$) に比べて有意に ($p < 0.05$) 高かった。欧米で嚢胞線維症の診断基準に使われている 60 mmol/L をカットオフ値とすると, 慢性膵炎患者では56%, 健常ボランティアでは16%が異常高値となる。また, 80 mmol/L をカットオフ値とすると, 慢性膵炎患者では40%が異常高値となるが, 健常ボランティアでは異常高値がなくなる。

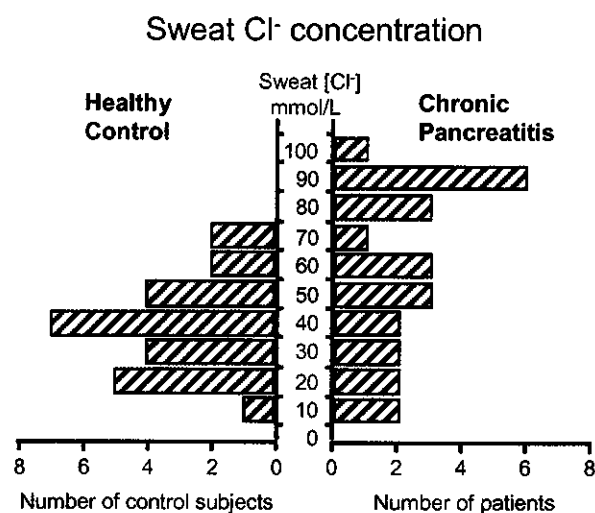


図1. 慢性膵炎確診例と正常対照群の汗の Cl^- 濃度

考 察

嚢胞線維症 (cystic fibrosis : CF) は, *CFTR* Cl^- チャネルの遺伝子異常を原因とする常染色体劣性の遺伝性疾患である。CFTRは消化管, 気管, 汗腺など全身の外分泌腺に発現しており, CF患者は出生直後より胎便イレウス, 膵外分泌不全, 難治性の気道感染症を繰り返す。最近, *CFTR* 遺伝子異常は嚢胞線維症のみならず, 慢性膵炎, 慢性気管支炎, 副鼻腔炎, 先天性男性不妊症などの遺伝性背景因子として注目されており, 欧米の慢性膵炎患者では *CFTR* 遺伝子変異を高頻度に合併する¹⁻³⁾。

慢性膵炎は良性の疾患であるが, 早期診断は困難であり, 診断時には既に膵が荒廃している場合もある。また悪性腫瘍の合併頻度も高く, 早期診断のためのマーカーが求められている。*CFTR* 遺伝子異常の検索は有用な手段と考えられるが, わが国の *CFTR* 変異は稀な変異がほとんどであることから, 遺伝子検索で *CFTR* の異常をスクリーニングするのは現実的ではない⁹⁾。

汗は, secretory coil から等張の NaCl 液として分泌される。この primary sweat が absorptive duct を通る間に apical membrane 上の *CFTR* Cl^- チャネルを介して Cl^- が吸収され, 同部位の水の透過性が低いために, 低張の NaCl 液の汗として最終的に排出される。このため, 汗中の Cl^- 濃度は *CFTR* 機能の良い指標となる。

汗中 Cl^- 濃度の測定は欧米では嚢胞線維症の標準的診断法であるが、わが国では一般化していない。標準法は Gibson-Cook による pilocarpine iontophoresis 法であるが、患者の負担も大きく、正確に測定するために熟練を要する。今回、われわれは、左右の指先からの発汗量がほぼ等しいことを利用し、自然発汗で得られる微量の汗を用いて Cl^- 濃度を測定する方法を開発し、慢性膵炎患者の汗中 Cl^- 濃度を測定した。

今回の検討では、慢性膵炎確定例の56%で汗中 Cl^- 濃度が60 mmol/L以上の高値であった。約50%の慢性膵炎患者が、CFTR の機能異常を有すると推定される。今回の対象は、アルコール性の慢性膵炎が8割以上を占めている。アルコールの多飲は慢性膵炎の主な原因であるが、大酒家の一部にのみしか慢性膵炎が発症しない理由は明らかにされていない。最近、アルコール性慢性膵炎患者の CFTR 遺伝子変異について欧米の数施設で検討されたが、一定の見解は得られていない。今回の結果は、アルコールに対する感受性あるいはアルコール性慢性膵炎の発症基盤として、CFTR 機能異常の関与があることを示唆している。今後、これらの症例について、膵外分泌機能検査（セクレチン試験）、CFTR 遺伝子の解析を行い、慢性膵炎に関与する CFTR 遺伝子変異と CFTR 機能異常、重炭酸塩分泌機能異常の関係を明らかにする必要がある。

結 語

慢性膵炎患者（確定例）の汗中 Cl^- 濃度を測定した。約50%に異常高値がみられ、CFTR の機能異常が推定される。

参 考 文 献

- 1) Sharer N, Schwarz M, Malone G, Howarth A, Painter J, Super M, Braganza J. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998; 339: 645-52.
- 2) Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998; 339: 653-8.
- 3) Noone PG, Zhou Z, Silverman LM, Jowell PS, Knowles MR, Cohn JA. Cystic fibrosis gene mutations and pancreatitis risk: relation to epithelial ion transport and trypsin inhibitor gene mutations. *Gastroenterology* 2001; 121: 1310-9.
- 4) Kimura S, Okabayashi Y, Inushima K, Yutsudo Y, Kasuga M. Polymorphism of cystic fibrosis gene in Japanese patients with chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 2007-12.
- 5) 早川哲夫. 慢性膵炎の病態における CFTR の関与. 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12年度研究報告書. 2001: 183-8.
- 6) Case RM, Argent BE. Pancreatic duct cell secretion, control and mechanisms of transport. In: Go VLW, Dimagno EP, Gardner JD, et al. editors. *The pancreas: biology, pathobiology, and disease*. New York: Raven Press, 1993: 301.
- 7) Stern RC. The diagnosis of cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1997; 336: 487-91.
- 8) Tsuda T, Noda S, Kitagawa S, Morishita T. Proposal of sampling process for collecting human sweat and determination of caffeine concentration in it by using GC/MS. *Biomed Chromatogr* 2000; 14: 505-10.
- 9) Naruse S, Kitagawa M, Ishiguro H. Molecular understanding of chronic pancreatitis: a perspective on the future. *Mol Med Today* 1999; 5: 493-9.
- 10) Hanawa M, Takebe T, Takahashi S, Koizumi M, Endo K. The significance of the sweat test in chronic pancreatitis. *Tohoku J Exp Med* 1978; 125: 59-69.

EUSによる膵実質の線維化の評価

研究報告者 池田靖洋

福岡大学第一外科

共同研究者 濱田義浩 眞栄城兼清 中山吉福

福岡大学第一外科

福岡大学第一病理

要旨：内視鏡的超音波検査（endoscopic ultrasonography : EUS）を用いて膵線維化の程度を評価し、内視鏡的膵管造影検査（endoscopic pancreatography : ERP）像および膵機能検査との関連について検討した。

EUSによる膵実質像は点状エコー群、斑状エコー群、不均一な高エコーが混在した群の3群に分類された。ERP像との対比では、点状エコー群に膵管像の異常所見を示すものはなかったが、斑状エコー群から不均一な高エコー群になるに従い主膵管や分枝膵管に不整拡張像といった所見を認めるようになった。切除標本から組織像との検討を行うと、点状エコーを示す群は線維化が軽度みられ、線維化の進展に伴い斑状エコー、不均一高エコーと表現されていた。とくに不均一高エコー群の組織像には高度の小葉間、小葉内線維化と腺房萎縮がみられた。一方、EUSによるエコーパターンの変化は膵機能検査との相関もみられた。本研究の結果より、EUSはERP像で判定困難な膵炎初期像の変化を描出することが可能であることから、慢性膵炎の診断基準に必須な画像検査法となり得ることが示唆された。

目 的

慢性膵炎の病理組織像は炎症の持続反復による実質の萎縮と腺房細胞の脱落と小葉内、小葉間の不規則な線維化を特徴とする^{1,2)}。特に、小葉間や小葉内線維化は慢性膵炎の診断に重要な所見である。一方、ERPによる膵管の不整拡張・狭窄像は慢性膵炎の診断基準に欠かせない画像所見であり、膵管周囲の不規則な線維化により形成された膵管系の変化を表現している。しかし、慢性膵炎において外分泌腺の導管系である膵管を造影するERPは病変を間接的に表現しているにすぎず、膵実質の炎症像を直接的に描出しているわけではない。炎症の程度が軽く主膵管や比較的大きな分枝膵管に所見を示さない時期の慢性膵炎においてはERPの診断能に限界がみられる。したがって、慢性膵炎の初期像を捕え、より詳細に検討していくためには、実質の炎症や線維化を直接的に描出可能な画像診断法の確立が望まれている。本研究の目的は膵実質の描出能に最も優れたEUSを用いて³⁾、組織像および機能的検査との対比により膵実質における線維化像の評価を試みることにある。

対 象 と 方 法

術前にEUSおよびERP、膵機能検査を実施し膵切除術が施行された46例を対象とした。EUSの観測装置およびスコープはEUM-20, GF type UM 3（オリンパス社製）を使用し、7.5MHzの周波数により

十二指腸と胃内から走査した。得られた画像はビデオ装置に記録し、最も明らかな所見を示す部位をプリントアウトした。切除標本の取り扱いは固定後全割連続切片を作製し、画像と一致する部位における切片の組織像を検討した。また、膵機能検査としてPFD試験と75g経口ブドウ糖負荷試験(75gOGTT)を実施し、その時期は血液生化学検査で炎症反応の消退した時点に行った。

結 果

1. エコーパターンと組織学的所見

EUS像は、主として小さめの形の均一な高エコーで占められるもの(点状エコー群, 図1 a), 点状エコーよりも大きめの斑状の高エコーを主体とするもの(斑状高エコー群, 図2 a), 大小不同の高エコーが混在する中で周囲膵エコーレベルの低いもの(不均一高エコー群, 図3 a)の3つのパターンに大別した。これら3つのエコーパターン別に各組織像をみると、点状エコー群としたものには肉眼的に炎症所見を確認できず、組織学的に小葉内と小葉間の膵管周囲に軽度の線維化が認められた(図1 b)。斑状エコー群としたものは、点状エコー群に比べ線維化が明瞭になり、小葉の軽度萎縮を伴う小葉間線維化がみられた(図2 b)。不均一高エコー群になると小葉間のみならず小葉内にも線維化が進展し、小葉の萎縮も著明であった(図3 b)。この段階の組織像では主膵管の狭窄や膵管内に膵石、蛋白栓を認める症例が多くみられた。

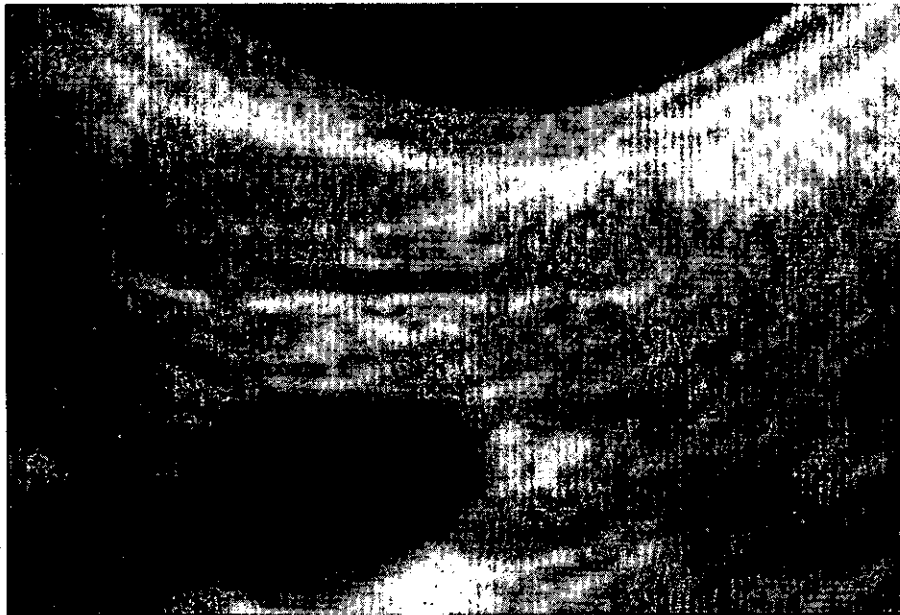


図1 a. 1群(点状エコー)のEUS像
膵実質は均一な点状エコー像として抽出される。

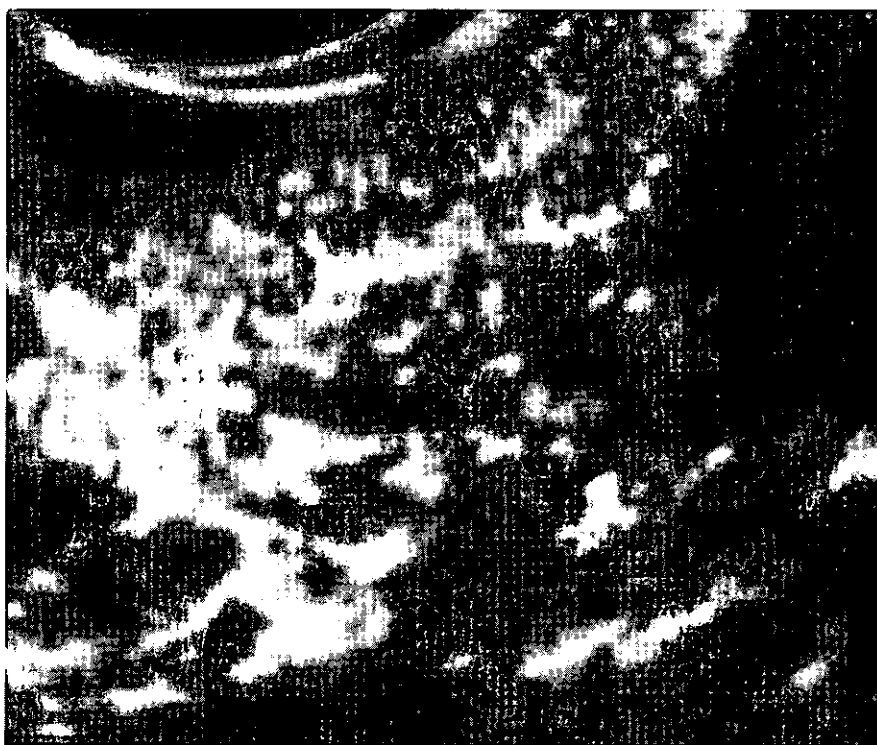


図 2 a. 斑状エコー群の EUS 像

膵実質は比較的均一な斑状のエコー像として描出される。

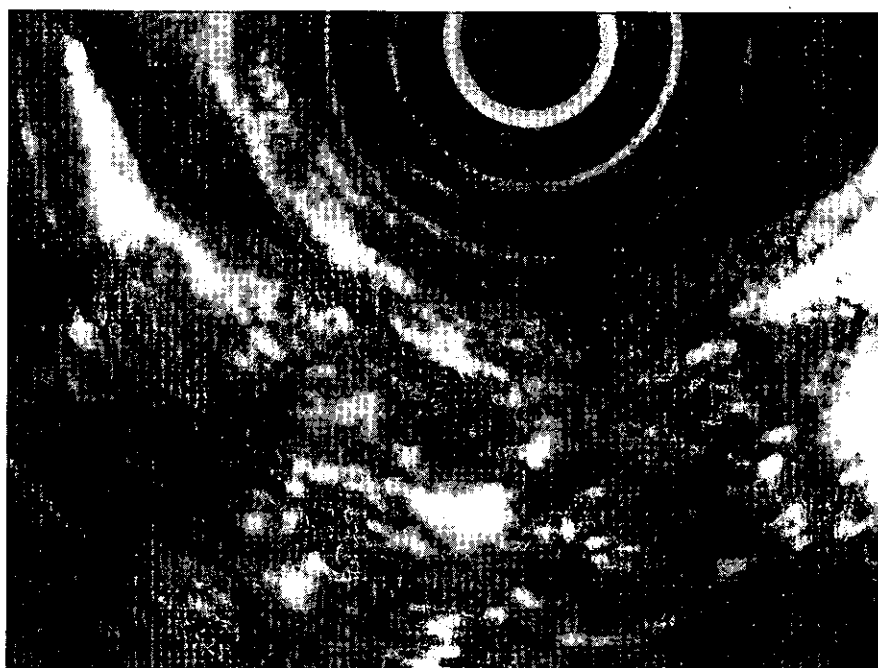


図 3 a. 不均一な高エコー群の EUS 像

膵実質内に大小の高エコーが不均一に散在し，主膵管も拡張している。

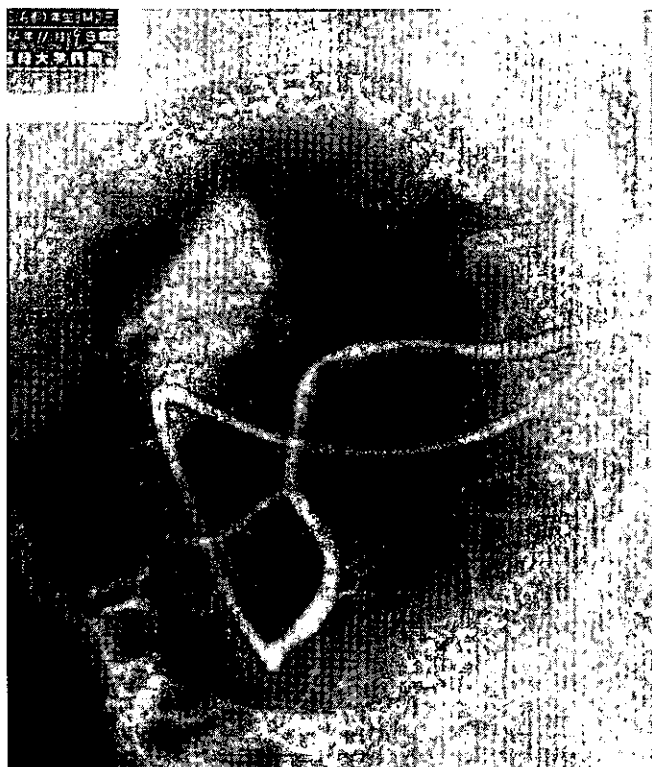


図1 b. 図1 aの膵管造影像

主膵管，分枝膵管に不整拡張像はみられない。



図2 b. 図2 aの膵管造影像

分枝膵管や主膵管に軽度の不整拡張像を認める。



図3 b. 図3 aの膵管造影像

主膵管，分枝膵管共に不整拡張像がみられる。

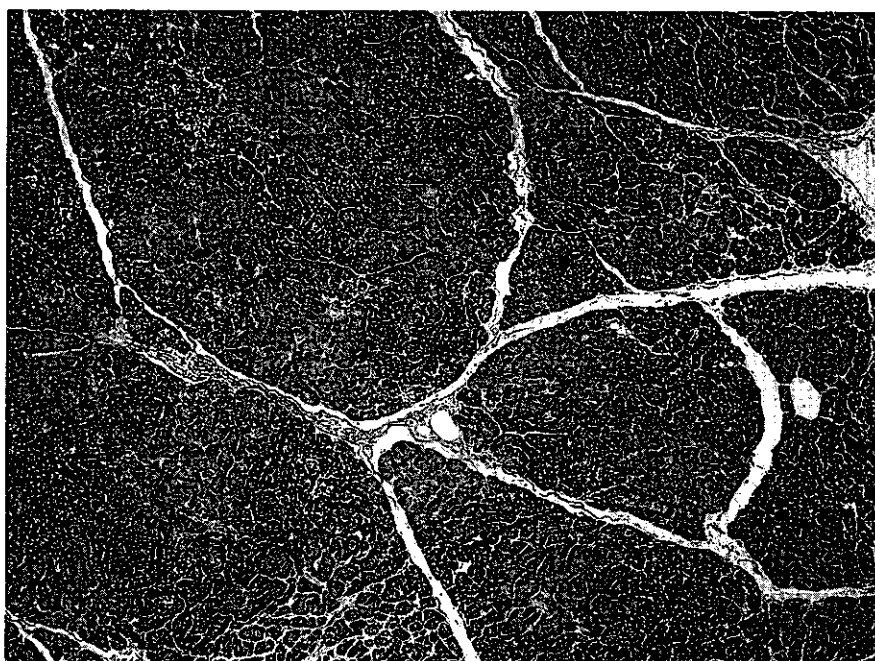


図1 c. 点状エコー群の病理組織像

小葉内や小葉間膵管周囲にごく軽度の線維化を認める。

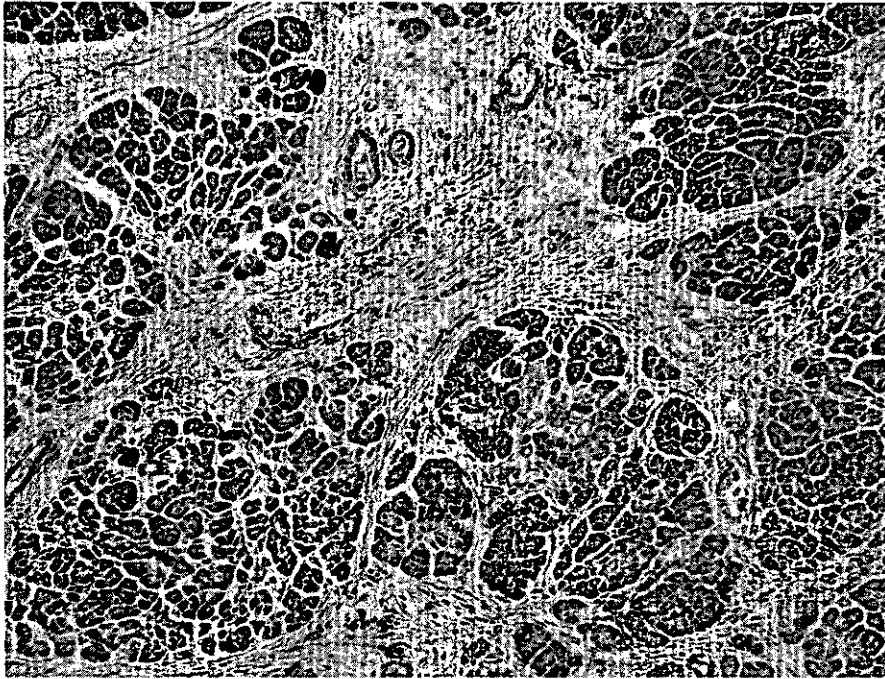


図 2 c. 図 2 a の病理組織像

小葉間を中心に小葉内にも線維化がみられ、小葉の軽度萎縮もみられる。

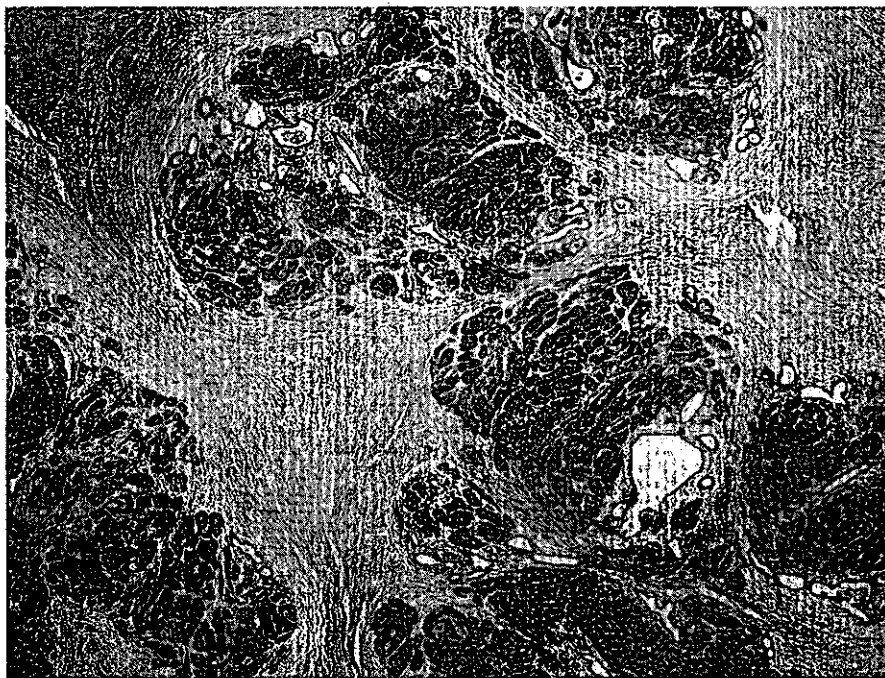


図 3 c. 図 3 a の病理組織像

小葉間、小葉内に著明な線維化がみられ、小葉も萎縮している。拡張した小葉内膵管もみられる。