

- 4) 若林時夫, 里村吉威, 澤武紀雄. 血清免疫学的異常の有無からみた膵管狭細型膵炎の病態. 第33回日本膵臓学会大会(ワークショップ) 仙台 2002年9月4-5日
- 5) 元雄良治, 澤武紀雄. 慢性膵炎の発症と進展の分子機構: 自然発症慢性膵炎モデルにおける検討. 第44回日本消化器病学会大会(パネルディスカッション) 横浜 2002年10月24-26日

#### 1. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

# 重症急性膵炎に対する持続動注療法の解剖学的検討 ：特に横走る膵の動脈について

研究協力者 木村 理 山形大学医学部第一外科 教授

## 【研究要旨】

解剖学的に膵頭部の動脈の走行を検討したところ、膵頭部から膵頸部の重症急性膵炎症例では、動注カテーテルはGDAに留置すべきであると考えられた。

## 共同研究者

神賀正博、平井一郎

(山形大学医学部第一外科)

## A. 研究目的

重症急性膵炎に対し、膵周囲の動脈から膵酵素阻害剤および抗菌薬を投与する持続動注療法は一般的な初期治療法となっているが、カテーテルは通常1本のみ留置する。しかし膵の動脈の分布は症例によって様々であり<sup>1,2)</sup>、どの血管に持続動注を行えば効果的であるかを検討したい。

## B. 研究方法

解剖遺体38体を用いて剖出し、膵の動脈を観察する。胃十二指腸動脈(GDA)または背膵動脈(DPA)から分岐し、膵頭部上縁に存在する動脈を上横行膵動脈(superior-TP)とした。

(倫理面への配慮)

解剖実習、研究目的に遺体を使用する承諾を得ている。

## C. 研究結果

【横行膵動脈(TP)の走行について】 ASPDから左に向かって横走る動脈<sup>3)</sup>が、DPAとの吻合後、さらに左に向かって横走るのは19/31(不明例を除く)例(61.3%)で、これらはいずれも膵の下縁に沿って横走した。

横行膵動脈は平均 $1.3 \pm 0.5$ 本であった。また横行膵動脈の太さは平均 $1.9 \pm 0.5$  mmであった。

【上横行膵動脈(superior TP)の存在について】 前述の横行膵動脈と異なり、膵上部を横走る動脈について注目し、解剖学的に検討した。

Superior TPは24/38例(63.2%)に認められた。その血管径の平均は $1.3 \pm 0.5$  mmであった。Superior TPの19/24例(79.2%)は膵上部・膵前面を走行し

た。Superior TPの起始部で最も頻度が高かったのはGDAで20例であった。次がDPA(6例)であった。Superior TPのほとんどはGDAとDPAとのアーケードを形成していた。

## D. 考察

急性壊死性膵炎では通常、持続動注チューブは1カ所にしか留置できない。解剖学的には、横行膵動脈の起始部で最も太いものはGDAであった。大膵動脈<sup>4)</sup>は横行膵動脈のfeederとして重要であったが、膵鉤部は還流しない。Superior TPがGDAから分岐することも考え合わせると、膵頭部から膵頸部の重症急性膵炎症例では動注カテーテルはGDAに留置すべきであると考えられた。

## E. 結論

解剖学的に膵頭部の動脈の走行を検討したところ、膵頭部から膵頸部の重症急性膵炎症例では、動脈カテーテルはGDAに留置すべきであると考えられた。

## F. 参考文献

- 1) Kimura W, Nagai H. Study of surgical anatomy for duodenum-preserving resection of the head of the pancreas. *Ann Sur* 1995; 221: 359-63.
- 2) Kimura W. Surgical anatomy of the pancreas of limited. *J Hep-Bil Panc Surg* 2000; 7: 473-9.
- 3) Bertelli E, Di Gregorio F, Bertelli L, Mosca S. The arterial blood supply of the pancreas: a review I. The superior pancreaticoduodenal and the anterior superior pancreaticoduodenal arteries. An anatomic review and a radiologic study. *Surg Radiol Anat* 1995; 17: 97-106.
- 4) Kimura W, Inoue T, Futagawa N, Shinkai

H, Han I, Muto T. Spleen-preserving distal pancreatectomy with conservation of the splenic artery and vein. Surgery 1996; 120: 885-90.

#### G. 健康危険情報

該当なし

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 木村 理, 平井一郎, 村上 弦. 膵頭部の血管解剖. 胆と膵 2003(in press)

##### 2. 学会発表

- 1) 平井一郎, 山口洋志, 脇口定衛, 村上 弦, 木村優子, 木村 理. 膵を横走する動脈の解剖学的検討. 第6回臨床解剖研究会 東京 2002年7月20日
- 2) 平井一郎, 山口洋志, 脇口定衛, 村上 弦, 木村優子, 木村 理. 膵を横走する動脈の解剖学的検討. 第33回日本膵臓学会大会 仙台 2002年9月5日

#### I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

# 実験的急性膵炎モデルにおける substance P の役割

研究協力者 中村 光男 弘前大学医学部保健学科 教授

## 【研究要旨】

今回我々は、急性膵炎における substance P の機能や作用機序を解明するためのプレリミナルな実験として、substance P のラット膵腺房細胞に対する直接作用について検討した。substance P 投与により、投与から30分後にかけて、p38の誘導と JNK1/2の著明な誘導が認められたが、I $\kappa$ B- $\alpha$ の分解は認められなかった。JNKは、細胞のアポトーシスを惹起する事が知られているが、急性膵炎時に、JNKが実際にどのような役割を果たしているのか、今後更に検討することが必要と考えられた。

## 共同研究者

松橋有紀、丹藤雄介、柳町 幸、田中 光  
(弘前大学医学部第三内科)

## A. 研究目的

Substance Pは疼痛や血管拡張に関与することが知られているが、膵腺房細胞に対する役割については明らかではない。本研究では、substance P のラット膵腺房細胞に対する直接作用について検討した。

## B. 研究方法

Wistar系雄生ラット(体重250~300g)よりエーテル麻酔下に膵を摘出し、膵腺房初代培養系を作成した。Substance P(SIGMA S2136)で刺激し、一定時間培養した。培養後、膵腺房より細胞質蛋白質を抽出し、以下のアッセイに供した。

### 1. I $\kappa$ B- $\alpha$ の動態

I $\kappa$ B- $\alpha$ (Santa Cruz, sc-371)の抗体を用い、Western blottingにて細胞質中のI $\kappa$ B- $\alpha$ の動態を検討した。

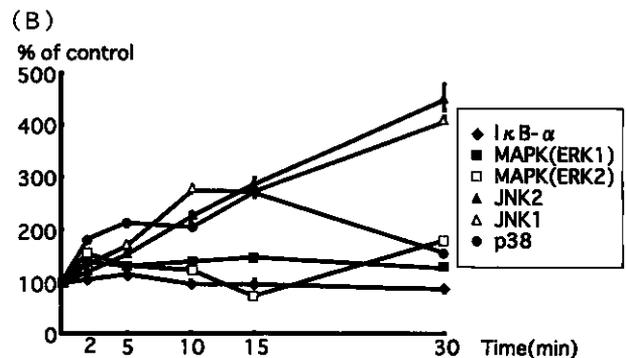
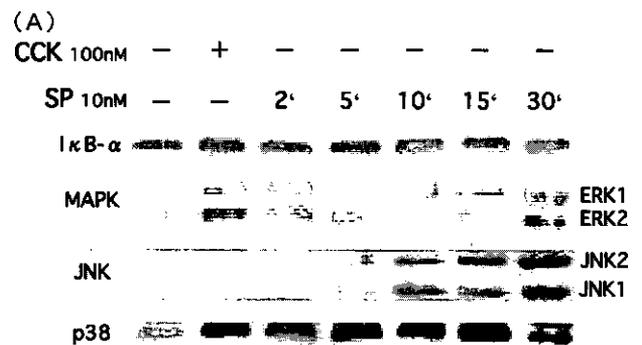
### 2. MAPキナーゼ群の動態

MAPK (Promega anti-ACTIVE MAPK pAb, V8031)、JNK (Promega anti-ACTIVE JNK pAb, V7931)、p38 (Promega anti-ACTIVE p38 pAb, V1211)の抗体を用い、Western blottingにて細胞質中のMAPK(ERK1, ERK2)、JNK(JNK1, JNK2)、p38の動態を検討した。

なお本実験は弘前大学動物実験に関する指針の規定に基づき行った(承認番号M00121)。

## C. 研究結果(図1)

Western blottingの結果(A)及びその反応をデン



Time course of SP-induced activation of I $\kappa$ B- $\alpha$ , MAPKs, JNKs and p38 in rat pancreatic acini

図 1

シトメトリーで評価した結果(B)を示す。Substance P 投与から30分後にかけて、p38の誘導と JNK1及び JNK2の著明な誘導が認められたが、I $\kappa$ B- $\alpha$ の分解は認められなかった。I $\kappa$ B- $\alpha$ は有意な減少を示さなかったが、JNK2は substance P 投与30分後で453%、JNK1は30分後で412%と著明に増加した。p38は15分後で273%と増加した。

## D. 考察

Substance Pは、疼痛のシグナル伝達に関与する

事が知られている<sup>1)</sup>。また CGRP と同様<sup>2)</sup>、血管拡張性に作用することが知られている<sup>3)</sup>。急性膵炎時にみられる膵の虚血再灌流は、急性膵炎の重症度に関与する事が考えられており、substance P が膵周囲の微小循環に関与している可能性が考えられている。急性膵炎における substance P の機能や作用機序を解明するためのプレリミナルな実験として、substance P のラット膵腺房細胞に対する直接作用について検討した。今回の検討では、substance P により p38 の増加と JNK1/2 の著明な増加を認めたが、I $\kappa$ B- $\alpha$  はほとんど減少しなかった。このことから、膵では substance P が NF $\kappa$ -B を直接誘導していないことが示唆された。JNK は、c-Jun や ATF-2 のような転写因子をリン酸化し、その活性を制御しており、また細胞のアポトーシスを惹起する事が知られている<sup>4)</sup>。急性膵炎時に、JNK が実際にどのような役割を果たしているのか、今後更に検討することが必要であると考えられた。

#### E. 結論

Substance P により、JNK1/2 及び p38 が誘導された。急性膵炎における、substance P の膵腺房細胞に対する直接作用について、今後も検討することが必要である。

#### F. 参考文献

- 1) Snijdelaar DG, Dirksen R, Slappendel R, Crul BJ. Substance P. Eur J Pain 2000; 4: 121-35.
- 2) Wimalawansa SJ. Calcitonin gene-related peptide and its receptors: molecular genetics, physiology, pathophysiology, and therapeutic potentials. Endocr Rev 1996; 17: 533-85.
- 3) Holzer P. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. Neuroscience 1988; 24: 739-68.
- 4) Xia Z, Dickens M, Raingeaud J, Davis RJ, Greenberg ME. Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. Science 1995; 270: 1326-31.

#### G. 健康危険情報

該当なし

#### H. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

#### I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

# 急性膵炎重症化における腹腔内マクロファージの役割

分担研究者 松野 正紀 東北大学大学院消化器外科学 教授

## 【研究要旨】

急性膵炎の重症化、特に臓器障害に対する腹腔内マクロファージの関与は明らかにされているとは言い難い。そこで、今回、Liposome-encapsulated dichloromethylene bisphosphonate (Cl<sub>2</sub>-MBP liposomes) を用いて腹腔内マクロファージ除去モデルを作成し、急性膵炎重症化に対する腹腔内マクロファージの関与について検討した。本研究では腹腔内マクロファージのみを選択的に除去することは困難であったため、(1)正常ラット、(2)Cl<sub>2</sub>-MBP liposomes 1 ml (i.v.)によって腹腔内以外のマクロファージを除去したラット、(3)Cl<sub>2</sub>-MBP liposomes 1ml (i.v.) plus 2 ml (i.p.)によってさらに腹腔内のマクロファージも除去したラットを作成し、それぞれに3%タウロコール酸(3% TCA)膵炎を誘導して、各群の変化を比較検討した。本研究では3群とも膵の炎症性変化は同程度であったが、腹腔内のマクロファージを除去した群では他の群に比べて腹腔内の炎症性変化が改善していた。また、腹腔内のマクロファージを除去した群では他の群に比べて肺障害が著明に改善していた。腹腔内マクロファージは急性膵炎において膵から腹腔内への炎症の波及に重要な役割を果たしており、さらに肺障害の出現にも関与していると考えられた。

## 共同研究者

武田和憲、三上幸夫、松田和久、砂村眞琴、  
江川新一  
(東北大学大学院消化器外科学)

投与群では正常ラットに比べて有意に除去されていたが、Cl<sub>2</sub>-MBP liposomes 1 ml (i.v.)投与群ではほとんど除去されていなかった。しかし、Cl<sub>2</sub>-MBP liposomes 1 ml (i.v.)投与群とCl<sub>2</sub>-MBP liposomes 1 ml (i.v.) plus 2 ml (i.p.)投与群では腹腔外のマクロファージは同程度に除去されていた。

## A. 研究目的

急性膵炎の重症化、特に臓器不全に対する腹腔内マクロファージの関与については明らかにされているとは言い難い。そこで今回、腹腔内マクロファージを除去したモデルを作成し、急性膵炎の重症化に対する腹腔内マクロファージの関与を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

### (A) マクロファージの除去

ラットにPBS-liposomesを①2 ml (i.p.) (n=4)、Liposome-encapsulated dichloromethylene bisphosphate (Cl<sub>2</sub>-MBP)-liposomesを②1 ml (i.v.) (n=4) ③2 ml (i.p.) (n=4) ④1 ml (i.v.) + 2 ml (i.p.) (n=4)投与し、48時間後の腹腔内マクロファージ数(ED1陽性細胞数)をFlowcytometryを用いて評価した。また、正常ラット、Cl<sub>2</sub>-MBP liposomes 1 ml (i.v.)、Cl<sub>2</sub>-MBP liposomes 1 ml (i.v.) plus 2 ml (i.p.)投与群では肝、脾、肺、腸間膜リンパ節、胸腺、骨髄のマクロファージ数(ED1陽性細胞数)を免疫組織化学染色を用いて評価した。結果を図1、表1に示す。腹腔内マクロファージはCl<sub>2</sub>-MBP liposomes 1ml (i.v.) plus 2ml (i.p.)

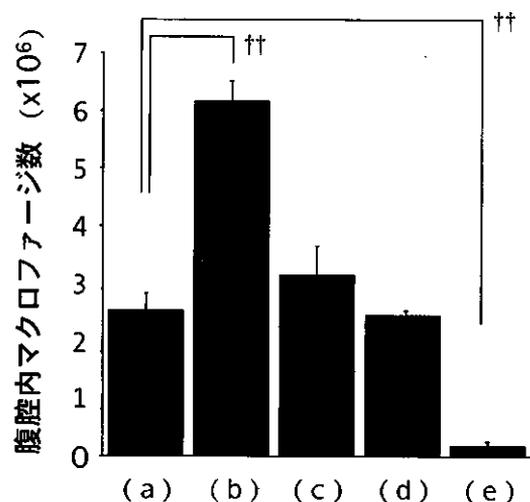


図1. 腹腔内マクロファージ数

(a) normal rats; (b) rats injected with PBS-liposomes, 2ml i.p.; (c)-(e) rats injected with Cl<sub>2</sub>MBP liposomes: (c) 1ml i.v., (d) 2ml i.p., (e) 1ml i.v. plus 2ml i.p. Mean ± S.E. (n=5), †† p < 0.005 vs. normal rat.

表1. 各臓器のマクロファージ数

+++ , >100; ++, 50-100; +, 5-50; -, <5 macrophages (ED1 positive cells) per representative area (Original magnification x 200) of organ section per rat.

	normal rat	Cl <sub>2</sub> MBP liposomes 1ml i.v.	Cl <sub>2</sub> MBP liposomes 1ml i.v. plus 2ml i.p.
Liver	+++	-	-
Lung	+++	+++	+++
Spleen	+++	+	+
Pancreas	++	+	+
Lymph nodes	+++	+++	+++
Thymus	+++	+++	+++
Bone marrow	++	+	+

### (B) Study design

以上の結果から、実験群を以下の3群に分類した。Group 1; 正常ラット+3%タウロコール酸(3% TCA) 膵炎、Group 2; Cl<sub>2</sub>-MBP liposomes 1 ml (i.v.)+3% TCA 膵炎、Group 3; Cl<sub>2</sub>-MBP liposomes 1 ml (i.v) plus 2 ml (i.p.)+3% TCA 膵炎。Group 2, 3についてはCl<sub>2</sub>-MBP liposomes 投与後、48時間目に3%TCA 膵炎を作製した。各群において腹腔内洗浄液中の好中球数、洗浄液中IL-1 beta, TNF alpha 値、腹水量、膵および肺の組織学的所見、myeloperoxidase (MPO) 活性、湿/乾重量比を測定し、3群間で比較検討した。

### C. 研究結果

#### (1) 膵組織学的所見：

全ての群で炎症性細胞浸潤と腺房細胞の部分的な壊死をほぼ同程度に認めた。

#### (2) 膵MPO活性、膵湿/乾重量比

膵MPO活性、膵湿/乾重量比は全ての群の間に有意な差を認めなかった(表2)。

#### (3) 腹腔内洗浄液中好中球数：

腹腔内洗浄液中の好中球数は、膵炎作成後12時間目ではGroup 1; 22.7±3.0, Group 2; 15.2±0.6, Group 3; 4.5±0.7 x 10<sup>6</sup>であり、Group 2でGroup 1に比べて有意に低値であり、Group 3ではさらに有意に低値であった。

#### (4) 腹水量：

急性膵炎作成後の腹水量は膵炎作成後12時間目ではGroup 1; 10.0±1.1, Group 2; 8.3±1.1, Group 3; 1.8±0.5 mlであり、Group 3ではGroup 1, Group 2に比べて有意に低値であったが、Group 1とGroup 2との間には有意な差を認めなかった。

#### (5) 洗浄液中IL-1β、TNF-α：

急性膵炎作成後の洗浄液中IL-1β、TNF-α値はGroup 1, Group 2では3~6時間を頂点として上昇したが、Group 3ではGroup 1, Group 2に比べて有意に低値であった(図2)。

#### (6) 肺myeloperoxidase (MPO)活性、肺湿/乾重量比：

肺MPO活性はGroup 2ではGroup 1に比べて有意に低値であり、Group 3ではGroup 2に比べて、さらに有意に低値であった。

肺湿/乾重量比はGroup 3ではGroup 1に比べて有意に低値であった(表2)。

#### (7) 肺組織学的検討：

肺の組織学的所見では、Group 1で著明な間質の肥厚と炎症細胞浸潤を認めたが、Group 2ではこれらの所見が改善傾向を示し、Group 3ではさらに改善していた(図3)。

表2. Myeloperoxidase (MPO) 活性と湿/乾重量比 Mean±S.E.(n=5, \*)p<0.05 vs. Group 1, †) p<0.05 vs. Group 2.(Groups as for Fig.2)

	Group 1	Group 2	Group 3
<b>Pancreas</b>			
MPO activity	3.3±0.7	2.2±0.3	1.8±0.4
wet / dry ratio	4.3±0.3	4.2±0.1	4.3±0.2
<b>Lung</b>			
MPO activity	11.2±0.4	7.0±0.8 <sup>*)</sup>	4.2±0.5 <sup>*)†)</sup>
wet / dry ratio	5.7±0.3	4.8±0.3	4.0±0.3 <sup>*)</sup>

### D. 考察

マクロファージは種々の炎症性化学物質を産生、放出することから、炎症の中心的な細胞であると考えられている。急性膵炎においても、膵炎の進展に対するマクロファージの関与が指摘されており、Gloorら<sup>1)</sup>やFolchら<sup>2)</sup>は gadolinium chloride 投与によって肝のKupffer細胞を不活化し、急性膵炎の重症化に対するKupffer細胞の関与を明らかにしている。ところで、マクロファージは腹腔内にも多く常在していることから、急性膵炎の重症化に対する腹腔内マクロファージの関与も示唆されている。しかし、これまでに急性膵炎の重症化、特に臓器不全に対する腹腔内マクロファージの関与を明らかにした報告はない。

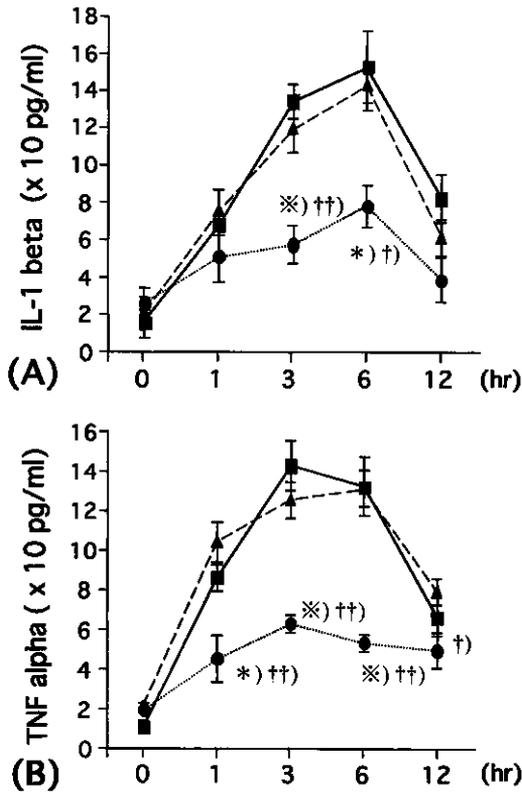


図2. 腹腔内洗浄液中サイトカイン値 (A)IL-1 beta; (B) TNF-alpha.  
 —■— Group 1, --▲-- Group 2, .....●..... Group 3.  
 Group 1, normal rats; Group 2, rats injected with Cl<sub>2</sub>MBP liposomes (1ml i.v.); Group 3, rats injected with Cl<sub>2</sub>MBP liposomes (1ml i.v. plus 2ml i.p.).  
 Mean±S.E. (n=5), \*) p<0.05, ※) p<0.005 vs. Group 1, †) p<0.05, ††) p<0.005 vs. Group 2.

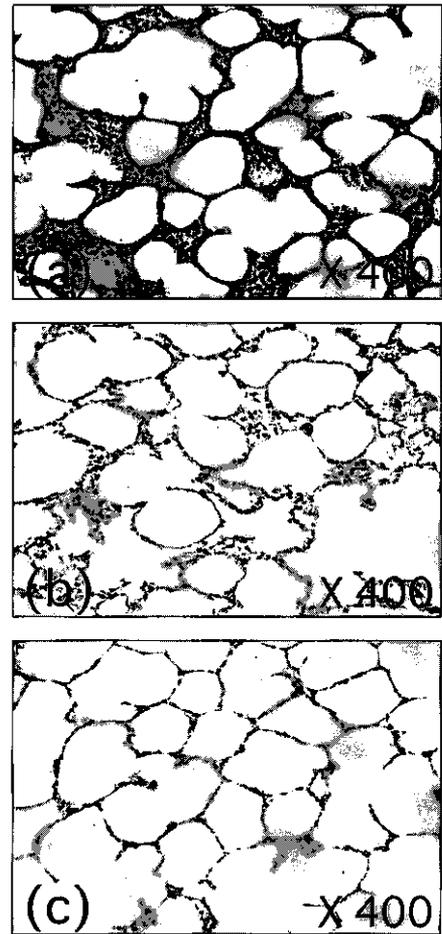


図3. 肺組織学的所見  
 (a) Group 1; (b) Group 2; (c) Group 3.  
 Haematoxylin and eosin. (Original magnification × 400).(Groups as for Fig.2)

急性肺炎重症化における腹腔内マクロファージの関与を明らかにするためには腹腔内マクロファージを選択的に除去したモデルが有効である。Cl<sub>2</sub>MBP-liposomesはliposomeの脂質二重膜の中にCl<sub>2</sub>MBPを封入した物質であり、マクロファージがCl<sub>2</sub>MBP-liposomesを貪食すると細胞内のペルオキシターゼによって脂質二重膜が破壊され、Cl<sub>2</sub>MBPが細胞内に放出してマクロファージは自滅する<sup>3)</sup>。Cl<sub>2</sub>MBP-liposomesはマクロファージを特異的に除去し、好中球など他の細胞に対する影響が少ないことから、近年、マクロファージの除去に利用されている。

今回我々は、当初、腹腔内マクロファージの選択的な除去を試みたが、技術的に困難であった。そこで、Cl<sub>2</sub>MBP-liposomesを様々な方法で投与し、主要存在臓器のマクロファージ除去効果について検討した。その結果、正常ラット、Cl<sub>2</sub>MBP-liposomes 1 ml

(i.v)投与群、Cl<sub>2</sub>MBP-liposomes 1 ml(i.v)plus 2 ml (i.p)投与群の3群に急性肺炎を誘導し、各群間での変化を比較検討することによって、急性肺炎重症化に対する腹腔内マクロファージの関与を明らかにすることが可能であると考えられた。

急性肺炎時におけるマクロファージ除去効果について、Schleicherら<sup>4)</sup>は膵局所の炎症が悪化したと報告しているが、Gloorら<sup>5)</sup>やFolchら<sup>6)</sup>は膵局所の炎症は変化しなかったと報告している。本研究では全ての群の間で膵湿/乾重量比、膵MPO活性、膵組織学的所見に差を認めなかったことから、マクロファージは3%TCA肺炎モデルにおいては膵局所の炎症に影響しないと考えられた。

本研究では腹腔内マクロファージ除去によって、腹腔内のIL-1βやTNF-α値が低下しただけでなく、腹腔内への好中球浸潤、腹水量の増加も抑制された。

マクロファージは炎症の中心的な細胞であると考えられているが、急性膵炎においても膵から腹腔内への炎症の波及に重要な役割を担っており、腹腔内マクロファージを除去することによって、腹腔内の炎症が軽減したと考えられた。

本研究ではまた、肺の湿／乾重量比がGroup 1 に比べGroup 3 で有意に低値であり、肺の組織学的な所見上も、Group 1 で認めた肺胞壁の肥厚と炎症細胞浸潤がGroup 2 では改善傾向を示し、Group 3 ではほとんど認められなかった。即ち、腹腔内マクロファージは肝Kupfferなどの腹腔外のマクロファージと同様に、肺障害の出現にも関与していると考えられた。

#### E. 結論

急性膵炎において腹腔内マクロファージは膵から腹腔内への炎症の波及に重要な役割を果たしており、さらに肺障害の出現にも関与していた。今後、腹腔内マクロファージを標的とした治療の可能性が示唆された。

#### F. 参考文献

- 1) Gloor B, Blinman TA, Rigberg DA, Todd KE, Lane JS, Hines OJ, Reber HA. Kupffer cell blockade reduces hepatic and systemic cytokine levels and lung injury in hemorrhagic pancreatitis in rats. *Pancreas* 2000; 21: 414-20.
- 2) Folch E, Prats N, Hotter G, Lopez S, Gelpi E, Rosello-Catafau J, Closa D. P-selectin expression and Kupffer cell activation in rat acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1535-44.
- 3) Van Rooijen N, Sanders A. Liposome mediated depletion of macrophages: mechanism of action, preparation of liposomes and applications. *J Immunol Methods* 1994; 174: 83-93.
- 4) Schleicher C, Baas JC, Elser H, Senninger N. Reticuloendothelial system blockade promotes progression from mild to severe acute pancreatitis in the opossum. *Ann Surg* 2001; 233: 528-36.

#### G. 健康危険情報

該当なし

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Mikami Y, Takeda K, Shibuya K, Qiu-Feng H, Egawa S, Sunamura M, Matsuno S. Peritoneal inflammatory cells in acute pancreatitis: Relationship of infiltration dynamics and cytokine production with severity of illness. *Surgery* 2002; 132: 86-92.

##### 2. 学会発表

- 1) Mikami Y, Takeda K, Shibuya K, Qiu-Feng H, Egawa S, Sunamura M, Miyagawa K, Matsuno S. Peritoneal macrophages play an central role in the progression of rat acute pancreatitis? Joint Meeting of the European Pancreatic Association and International Association of Pancreatology. Heidelberg, Germany June 21, 2002.

##### 1. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

# 重症急性膵炎における腸粘膜上皮の変化について

分担研究者 黒田 嘉和 神戸大学大学院医学系研究科消化器外科学 教授

## 【研究要旨】

ラット重症急性膵炎モデルにおける腸管粘膜の障害を解析すると同時にフッ素化合物である perfluorochemical と caspase 阻害剤である ZVAD-fmk の効果を検討した。重症急性膵炎モデルでは粘膜絨毛の萎縮、粘膜上皮における TUNEL 陽性細胞、断片化 DNA 量の増加が認められ、急性膵炎における腸管粘膜上皮の apoptosis が確認された。さらに膵炎モデルでは末梢血中の endotoxin 濃度が上昇しており、摘出回腸を用いた検討では内腔からの FITC-Dextran の漏出が認められた。酸素化した perfluorochemical、ZVAD-fmk それぞれの腹腔内投与によって、これらの変化を抑制されることが確認された。これより重症急性膵炎においては、酸素化障害および他の原因によって腸管粘膜上皮の apoptosis が進み、腸管壁の透過性が亢進することによって bacterial translocation もしくは endotoxin trans location が惹起される可能性が示唆された。

## 共同研究者

竹山宜典、新関 亮、安田武生、上田 隆  
(神戸大学大学院医学系研究科消化器外科学)

## A. 研究目的

重症急性膵炎において腸管からの bacterial translocation は敗血症や膵、膵周囲感染を引き起こし、後期死亡の最大の原因となっていると考えられる。腸管内からどのようにして細菌が粘膜バリアーを通過するのか未だ不明な点が多いが、腸管上皮の透過性の亢進や apoptosis、粘膜の微小循環障害が関係していると報告されている<sup>1,4)</sup>。重症急性膵炎モデルにおける腸管粘膜の変化を解析するとともに、効率のよい酸素運搬体である perfluorochemical による腸管の酸素化、および caspase 阻害剤である ZVAD-fmk の投与が及ぼす効果について検討した。

## B. 研究方法

麻酔下に Wistar 系雄性ラット (300-350 g) を以下の 6 群にわけて実験を行った。すべてのモデルにおいて、閉腹後直ちに生食 10ml を皮下投与した。なお、perfluorochemical としては perfluorodecalin を使用した。なお、本動物実験の研究計画は、動物愛護および倫理面に関して神戸大学大学院医学系研究科 animal committee の承認を得た上で実施したものである。

- 1) 単開腹群：単開腹のみ
- 2) 重症急性膵炎群 (SAP 群)：胆膵管を末梢で結紮、カニューレーションし、3% デオキシコール酸 100

μl を逆行性に注入。

- 3) 酸素化 PFC 投与群 (PFC-O2(+)) 群：膵炎作成直後に bubbling にて十分に酸素化した perfluorodecalin 10ml を腹腔内に投与。
- 4) 非酸素化 PFC 投与群 (PFC-O2(-)) 群：膵炎作成直後に酸素化していない perfluorodecalin 10ml を腹腔内に投与。
- 5) ZVAD-fmk 投与群 (ZVAD 群)：膵炎作製直後に ZVAD-fmk 500 μg を腹腔内に投与。

各モデル作製後、8, 12, 18, 24 時間後に犠死させ、回腸末端を摘出して以下の検討を行った。

1. 腸管粘膜の形態変化の検討  
摘出回腸の H. E. 染色標本で形態変化を検討した。
2. 腸管粘膜上皮における apoptosis の検討  
摘出回腸の TUNEL 染色および、粘膜における断片化 DNA 量を ELISA 法で検討した。
3. 腸管壁の透過性変化の検討  
末梢血中における endotoxin 濃度、および盲管とした摘出回腸の内腔からの FITC-Dextran (MW=71,200) の漏出量を検討した。
4. bacterial translocation の検討  
回結腸動脈に沿う腸間膜リンパ節を培養し、培養陽性率、菌量を検討した。

## C. 研究結果

1. 膵炎作製 8 時間後では sham 群と SAP 群に差は認められなかったが、18 時間後には SAP 群において粘膜絨毛の荒廃、萎縮、粘膜高の低下が認め

られた。SAP 群に比べて ZVAD 群では粘膜高の有意な改善が認められた(図 1)。

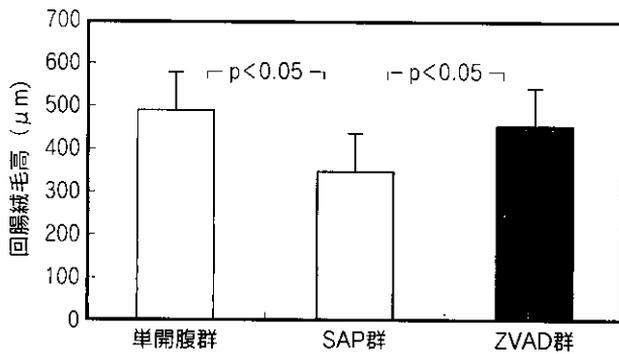


図 1. ラット重症急性膵炎作成18時間後の回腸絨毛高の低下と caspase 阻害剤の効果

2. 膵炎作製12時間後において sham 群に比べ SAP 群では粘膜上皮における TUNEL 陽性細胞率が有意に増加しており、PFC-O<sub>2</sub>(+)群では sham 群とほぼ同等まで減少していた(図 2)。

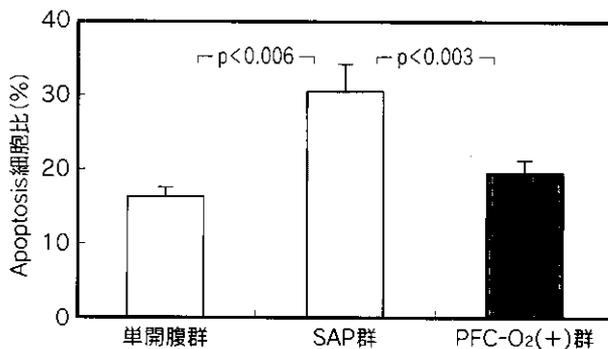


図 2. ラット重症急性膵炎作成12時間後の回腸粘膜上皮細胞におけるapoptosisの誘導と酸化PFC腹腔内投与の効果

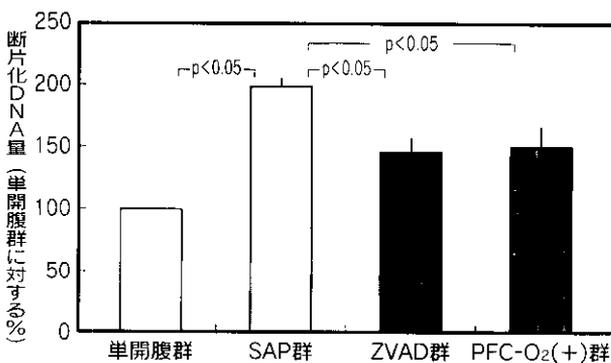


図 3. ラット重症急性膵炎作成18時間後における回腸粘膜の断片化DNA量に対する caspase 阻害剤または酸化PFCの効果

同様に sham 群に比べ SAP 群では粘膜における断片化 DNA 量が有意に増加していたが、PFC-O<sub>2</sub>(+)群、ZVAD 群では共に SAP 群に比べて有意に低下していた(図 3)。

3. 膵炎作製6時間後に摘出した回腸において、sham 群では FITC-Dextran の漏出はほとんど認めなかったが、SAP 群では有意な漏出量の増加が認められた。これに比べて ZVAD 群では漏出量が有意に低下していた(図 4)。さらに膵炎作製12時間後では SAP 群においても末梢血中の endotoxin はほとんど検出されなかったが、18時間後には sham 群に比べて有意に増加していた。しかし ZVAD 群では SAP 群に比べて有意に低下していた(図 5)。

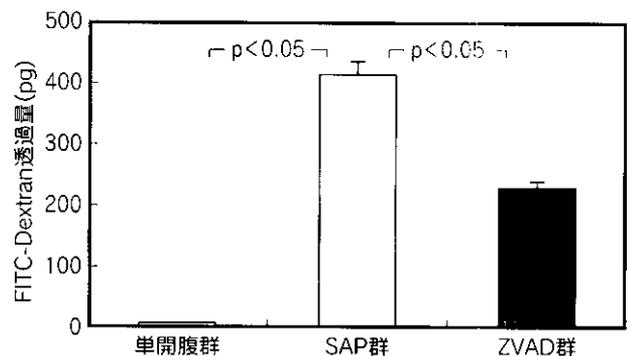


図 4. ラット重症急性膵炎作成6時間後における回腸からの FITC-Dextran (分子量: 71,200) の透過性亢進に対する caspase 阻害剤の効果

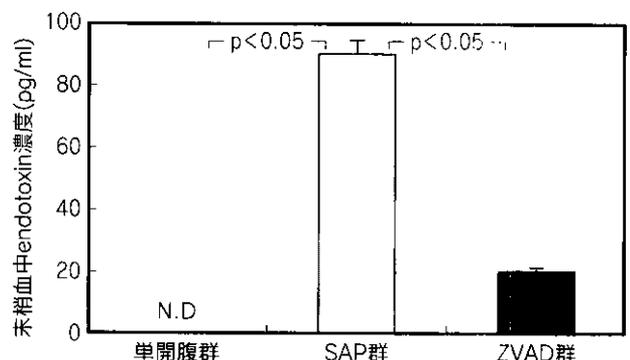


図 5. ラット重症急性膵炎作成18時間後の血中エンドトキシン上昇と caspase 阻害剤の効果

4. sham 群では膵炎作製12時間後のリンパ節培養はすべて陰性であったのに対して SAP 群では60%と増加していた。PFC-O<sub>2</sub>(+)群では培養陽性率37%と低下していた(表 1)。

表 1. 腸間膜リンパ節への bacterial translocation に対する PFC 投与の効果

実験群	単開腹群	SAP群	PFC-O <sub>2</sub> (-)群	PFC-O <sub>2</sub> (+)群
感染率	0%	60%	61%	37%
	(0/11)	(9/15)	(11/18)	(7/19)

ラット重症急性膵炎作成12時間後の腸間膜リンパ節を採取し、細菌培養を施行した。PFCは膵炎作成直後に腹腔内投与した。

なお、すべての実験においてPFC-O<sub>2</sub>(-)群ではSAP群と比べて有意な差は認められなかった。

#### D. 考察

重症急性膵炎において、腸管の微小循環障害、血中、腹水中の細胞障害因子の存在が報告されている。今回の検討では重症急性膵炎において、腸管粘膜上皮の apoptosis が加速していることが確認された。この変化は酸素化 perfluorochemical、ZVAD-fmk それぞれの投与によって抑制することができた。さらに perfluorochemical は腸間膜リンパ節への bacterial translocation、ZVAD-fmk は腸管壁の透過性亢進現象、endotoxin 血症を抑制し、粘膜上皮細胞の apoptosis 抑制による効果が示唆された。perfluorochemical、ZVAD-fmk の作用機序はいまだ未解明な点が多く、今後検討すべき課題である。腸管壁透過性亢進の機序を解明するとともに、有効な治療法を検討することが重症急性膵炎における予後改善に寄与すると考えられる。

#### E. 結論

重症急性膵炎において腸間膜粘膜上皮の apoptosis が加速しており、この変化を caspase 阻害剤である ZVAD-fmk、酸素運搬体である酸素化 perfluorochemical それぞれの腹腔内投与によって抑制することにより、腸管壁透過性の亢進、endotoxin 血症、bacterial translocation を減少させることができた。

#### F. 参考文献

- 1) Runkel NS, Moody FG, Smith GS, Rodriguez LF, LaRocco MT, Miller TA. The role of the gut in the development of sepsis in acute pancreatitis. *J Surg Res* 1991; 51: 18-23.
- 2) Isaji S, Suzuki M, Frey CF, Ruebner B, Carlson J. Role of bacterial infection in diet-induced acute pancreatitis in mice. *Int J Pancreatol* 1992; 11: 49-57.
- 3) Medich DS, Lee TK, Melhem MF, Rowe MI, Schraut WH, Lee KK. Pathogenesis of pan-

creatic sepsis. *Am J Surg* 1993; 165: 46-52.

- 4) Tarpila E, Nystrom PO, Franzen L, Ihse I. Bacterial translocation during acute pancreatitis in rats. *Eur J Surg* 1993; 159: 109-113.

#### G. 健康危険情報

該当なし

#### H. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表
  - 1) Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, Shinzeki M, Kishi S, Kuroda Y. Increase in intestinal permeability in rat experimental severe acute pancreatitis. American Gastroenterological Association Annual Meeting, San Francisco, U.S.A. 2002
  - 2) 安田武生, 竹山宜典, 上田 隆, 西川淳介, 新関 亮, 岸 真示, 黒田嘉和. 重症急性膵炎ラットモデルにおける bacterial translocation. 第38回日本腹部救急医学会総会 下関 2002年3月21-22日
  - 3) 安田武生, 竹山宜典, 上田 隆, 西川淳介, 新関 亮, 岸 真示, 黒田嘉和. ラット重症急性膵炎モデルでの bacterial translocation に対する caspase inhibitor の効果. 第33回日本膵臓学会大会 仙台 2002年9月4-5日
  - 4) 新関 亮, 竹山宜典, 上田 隆, 西川淳介, 安田武生, 岸 真示, 黒田嘉和. 重症急性膵炎モデルにおける perfluorochemical 腹腔内投与の効果. 第33回日本膵臓学会大会 仙台 2002年9月4-5日
  - 5) 安田武生, 竹山宜典, 上田 隆, 西川淳介, 新関 亮, 岸 真示, 黒田嘉和. ラット重症急性膵炎モデルでの bacterial translocation に対する caspase inhibitor の効果. 第44回日本消化器病学会大会 横浜 2002年10月24-26日

#### 1. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

# Macrophage migration inhibitory factor (MIF) をターゲットとした 膵炎治療の基礎的検討

分担研究者 下瀬川 徹 東北大学大学院消化器病態学 教授

## 【研究要旨】

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、MIF をターゲットとした膵炎治療の可能性について検討した。Wistar 系雄性ラットにタウロコール酸を胆膵管内に逆行性に注入することにより(TCA 膵炎)、CD-1 系雌性マウスにコリン欠乏エチオニン添加飼料を摂食させることにより(CDE 膵炎)、各々致死性膵炎を作成した。TCA 膵炎ラットとCDE 膵炎マウスにおいて、抗MIF 抗体の投与により有意に生存率が改善した。以上よりMIF をターゲットとした膵炎治療の可能性が示唆された。

## 共同研究者

正宗 淳、境 吉孝

(東北大学大学院消化器病態学)

## (倫理面への配慮)

今回の動物実験は全て、東北大学医学部の動物実験倫理委員会の承認を受けた後に施行した。

## A. 研究目的

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<sup>1)</sup>、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TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6等の発現を誘導し、炎症反応に強く関与するとされる<sup>2)</sup>。我々はこれまで、タウロコール酸膵炎(TCA膵炎)ラットにおいて、その腹水、血清、及び肺組織中のMIF濃度が有意に上昇し、抗MIFを前投与することにより生存率を改善させることを明らかにした<sup>3)</sup>。今回、MIFをターゲットとした膵炎治療の可能性について検討した。

## B. 研究方法

実験1：TCA膵炎ラットモデルにおける検討

TCA膵炎作成の直後、1時間後に抗MIF抗体(16mg/kg)、または同量のコントロール抗体(ウサギIgG)を腹腔内に投与し、2グループ間の生存率について比較検討した。

実験2：CDE膵炎マウスモデルにおける検討

CD-1系雌性マウス(10~12g)にコリン欠乏エチオニン添加(CDE)飼料を48時間摂食させ、致死性膵炎を作成する。CDE膵炎マウスの肺において、MIFの免疫染色を行い、正常マウスと比較する。CDE食開始と同時に12時間毎に5回、抗MIF抗体(10mg/kg)、または同量のコントロール抗体(ウサギIgG)を腹腔内に投与し、両群間において、生存率を比較検討した。

## C. 研究結果

実験1

膵炎作成の直後に抗MIF抗体を投与した場合、33%から92%と有意に生存率の改善効果を認めた(\*\*：p<0.01、n=12 各群)(図1A)。膵炎作成の1時間後

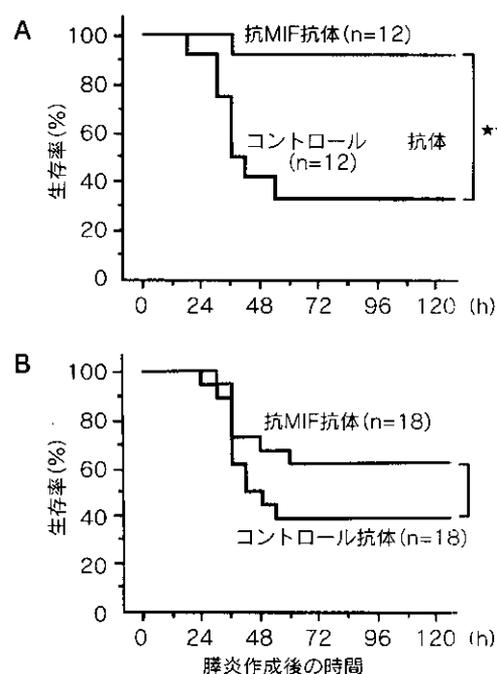


図1. 抗MIF抗体投与の生存率に与える影響(TCA膵炎ラット)  
TCA膵炎ラットに抗MIF抗体、またはコントロール抗体を膵炎誘導の直後(A、n=12各群)、1時間後(B、n=18各群)に腹腔内投与し、生存率を120時間まで観察。\*\*：p<0.01

に投与した場合、有意差はないものの、生存率の改善傾向を認めた(39%より61%へ、 $p=0.18$ ,  $n=18$ 各群)(図1B)。

## 実験2

CDE 膵炎の肺においても、TCA 膵炎の場合と同様、正常のマウスと比べて気管支上皮細胞にMIFの発現増強が認められた(図2A:正常マウス、B:CDE 膵炎マウス)。また、抗MIF抗体の投与により、



図2. CDE 膵炎マウスの肺組織中のMIF発現  
A: 正常マウス気管支上皮のMIF免疫活性  
B: CDE 膵炎マウス気管支上皮のMIF免疫活性  
(倍率×400)

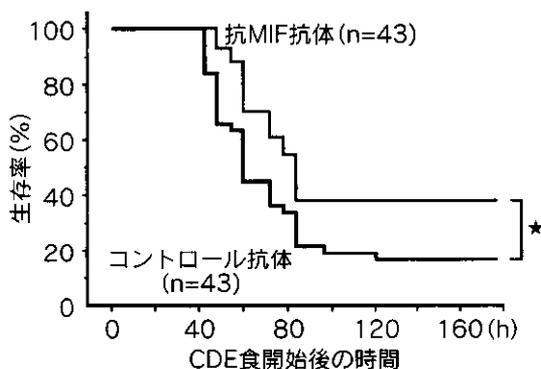


図3. 抗MIF抗体投与の生存率に与える影響(CDE膵炎マウス)  
CDE食開始と同時に抗MIF抗体、またはコントロール抗体を12時間毎に5回、腹腔内投与し、生存率を観察。\*:  $p < 0.05$ ,  $n=43$ 各群

膵炎誘導後72時間には有意に生存率の改善が認められた(15%より36%へ、\*:  $p < 0.05$ ,  $n=43$ 各群)(図3)。

## D. 考察

急性膵炎の重症化機序については不明であるが、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-8などのサイトカインの関与が報告されている<sup>4)</sup>。我々はこれまで、TCA膵炎ラットにおいて、その腹水、血清、及び肺組織中のMIF濃度が有意に上昇し、抗MIF抗体を前投与することにより生存率を改善させることを明らかにしてきた。今回、我々は、1)TCA膵炎作成の直後に抗MIF抗体を投与した場合でも、生存率の有意な改善効果を認めること、2)CDE膵炎マウスモデルにおいても、TCA膵炎の場合と同様、気管支上皮細胞にMIFの発現増強が認められ、抗MIF抗体の投与により生存率が有意に改善することを明らかにした。

重症膵炎はしばしば多臓器不全をもたらし、特に adult respiratory distress syndrome (ARDS)をはじめとする肺障害は最も深刻な合併症の一つである<sup>5)</sup>。しかしながら、重症膵炎における肺障害の発症の機序に関しては、未だに完全には解明されていない。本研究において、CDE膵炎マウスの肺組織においてMIFの発現増強が認められた。TCA膵炎とCDE膵炎の2つの急性膵炎モデルの肺組織におけるMIFの発現増強は、膵炎における肺障害の病態にMIFが関与していることを示唆する。最近、ARDSにおけるMIFの役割が明らかになってきている<sup>6)</sup>。ARDSの患者では血清中のみならず、肺胞洗浄液中でMIF濃度は有意に上昇しており、またMIFの刺激により肺胞細胞から炎症性サイトカインが分泌されることが報告されている<sup>6)</sup>。MIFのこのような機能を考えると、膵炎により誘導された肺障害においても、肺組織中のMIFが重要な働きをしていることが想定される。

これまで抗MIF抗体の生存率改善効果については敗血症<sup>7)</sup>、糸球体腎炎<sup>8)</sup>等の炎症性疾患の実験モデルにおいて確認されている。今回、抗MIF抗体をTCA膵炎誘導の直後に投与した場合、生存率が有意に改善し、1時間後に投与した場合でも、有意差はないものの、生存率の改善傾向が認められるという結果であった。1時間後の投与で効果が少なかった原因としては、TCA膵炎においてこの時点ではすでに腹水中のMIFが最高値に達していたため、病態の進行を止めることができなかった可能性が考えられた。更に抗MIF抗体による生存率改善効果がTCA膵炎ラットモデルにのみ特異的でないことを確認するた

めに、別の致死性膵炎モデルであるCDE膵炎マウスにおいても検討を行い、抗MIF抗体の投与により生存率が有意に改善した。この2つの致死性膵炎モデルにおける抗MIF抗体の生存率改善効果は、重症膵炎においてMIFが重要な働きをしていることを示唆し、この研究が重症膵炎に対する新たな治療法につながる可能性が考えられる。今後、臨床例を用いた更なる検討が必要である。

## E. 結論

膵炎(特に重症膵炎)における、MIFをターゲットとした治療の可能性が示唆された。

## F. 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) Calandra T, Spiegel LA, Metz CN, Bucala R. 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.
- 3) Sakai Y, Masamune A, Satoh A, Nishihira J, Yamagawa T, Shimosegawa T. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of severe acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2003 (in press).
- 4) Gloor B, Reber HA. Effects of cytokines and other inflammatory mediators on human acute pancreatitis. *J Int Care Med* 1998; 13: 305-12.
- 5) Banks PA. Medical management of acute pancreatitis and complications. In: Go VLW, DiMagno EP, Gardner JD, Lebenthal E, Reber HA, Scheele GA, eds. *The pancreas: biology, pathobiology, and disease*. New York: Raven, 1993; 593-611.
- 6) Donnelly SC, Haslett C, Reid PT, Grant IS, Wallace WAH, Metz CN, Bruce LJ, Bucala R. Regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome. *Nat Med* 1997; 3: 320-3.
- 7) Calandra T, Echtenacher B, Roy DL, Pugin J, Metz CN, Hultner L, Heumann D, Mannel D, Bucala R, Glauser MP. Protection from septic shock by neutralization of macro-

phage migration inhibitory factor. *Nat Med* 2000; 6: 164-70.

- 8) Lan HY, Bacher M, Yang N, Mu W, Nikolic-Paterson DJ, Metz C, Meinhardt A, Bucala R, Atkins RC. The pathogenic role of macrophage migration inhibitory factor in immunologically induced kidney disease in the rat. *J Exp Med* 1997; 185: 1455-65.

## G. 健康危険情報

該当なし

## H. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Sakai Y, Masamune A, Satoh A, Nishihira J, Yamagawa T, Shimosegawa T. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of severe acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2003 (in press)

### 2. 学会発表

- 1) 境 吉孝, 正宗 淳, 下瀬川徹. 重症急性膵炎の治療戦略 Macrophage migration inhibitory factor(MIF)の急性膵炎における関与. 第88回日本消化器病学会総会(ワークショップ) 旭川 2002年4月24-26日
- 2) 境 吉孝, 正宗 淳, 佐藤晃彦, 下瀬川徹. 膵炎とサイトカイン, ケモカイン Macrophage migration inhibitory factor(MIF)の急性膵炎における関与. 第33回日本膵臓学会大会(ワークショップ) 仙台 2002年9月4-5日
- 3) 境 吉孝, 正宗 淳, 下瀬川徹. Macrophage migration inhibitory factor(MIF)の急性膵炎における意義について. 第3回膵臓病研究会 松島 2002年2月23日
- 4) Sakai Y, Masamune A, Satoh A, Yamagawa T, Shimosegawa T. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of severe acute pancreatitis. 103st Annual Meeting of the American Gastroenterological Association. San Francisco May 19-22, 2002

### I. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得 該当なし

- 2. 実用新案登録 該当なし
- 3. その他 該当なし

# 急性壊死性膵炎モデルにおける好中球オプソニンレセプターの発現に対する G-CSF 投与の効果

研究協力者 杉山 政則 杏林大学医学部第一外科 助教授

## 【研究要旨】

急性壊死性膵炎においては感染防御能低下が易感染性の重要な原因と考えられ、腹腔浸出好中球のオプソニン・レセプター(CD11bおよびCD32/16)の発現低下が示されてきた。今回、マウス急性壊死性膵炎モデルを用いて、granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)投与の末梢血および腹腔浸出液中の好中球のオプソニン・レセプター発現を検討した。G-CSF投与により末梢血および腹腔浸出液中の好中球のCD11bおよびCD32/16の発現亢進を認めた。急性壊死性膵炎においてG-CSF投与が局所感染防御能を改善する可能性が示唆された。

## 共同研究者

脱 紅芳、阿部展次、中島正暢、跡見 裕  
(杏林大学医学部第一外科)

## A. 研究目的

急性壊死性膵炎では発症早期の循環障害や臓器不全を乗り切っても、その後に高頻度に合併する感染症により重篤化し治療も困難であるため、いまだに死亡率が高い。急性壊死性膵炎の治療成績向上のためには感染症、特に膵および膵周囲の細菌感染の予防・治療が重要である。膵および腹腔内へ浸出した好中球などの食細胞が局所感染防御機構を担っており、壊死性膵炎においては感染防御能低下が易感染性の重要な原因と考えられる。我々はこれまでマウス急性膵炎モデルを用いて、壊死性膵炎では浮腫性膵炎と比べ、腹腔浸出好中球が減少し、腹腔浸出好中球のオプソニン・レセプター(CD11bおよびCD32/16)の発現が低下していることを報告してきた<sup>1)</sup>。Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)は好中球の増殖、成熟および機能亢進の作用を有する。急性壊死性膵炎時の感染防御機能の保持・改善をめざした治療法の確立のために、マウス急性壊死性膵炎モデルにG-CSFを投与し、末梢血および腹腔浸出液中の好中球のCD11b、CD32/16の発現を検討した。

## B. 研究方法

Balb/cマウスを用い、caerulein 50  $\mu$ g/kg体重を1時間毎に13回皮下投与し急性壊死性膵炎を作成した(膵炎群; n=18)。さらに膵炎+G-CSF群(n=18)では、膵炎作成3日間前から12時間毎にG-CSF

(50  $\mu$ g/kg体重)を皮下投与した。各群でcaerulein投与前、最終投与6時間後、24時間後に犠牲解剖し(各n=6)、末梢血、腹腔浸出液、膵組織を採取した。FACScanを用いフローサイトメトリーにより、末梢血および腹腔浸出液中の好中球のCD11b、CD32/16の発現を検討した。NIHの指針に則って動物を扱った。

## C. 研究結果

マウスは屠殺まですべて生存していた。膵組織は膵炎群、膵炎+G-CSF群ともに壊死性膵炎像を呈し、両群間で差異を認めなかった。血中アミラーゼ値は両群ともcaerulein投与6時間後に上昇したが、膵炎群の方が上昇が著明であった(図1)。投与前、24時間後では両群で差を認めなかった。

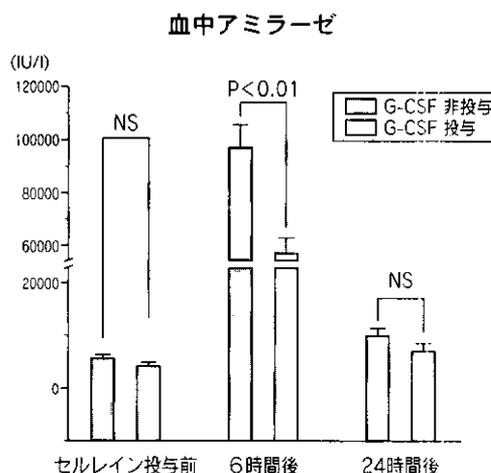


図1 血液アミラーゼ濃度

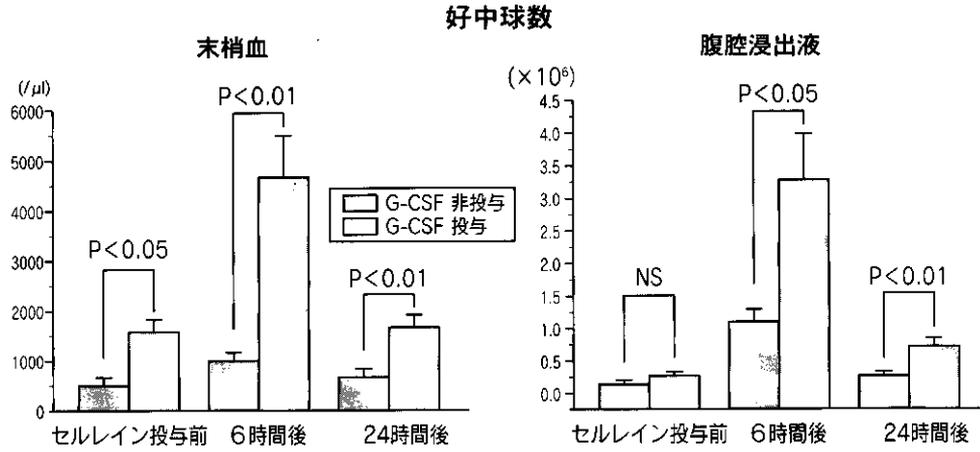


図2 末梢血および腹腔浸出液中の好中球数

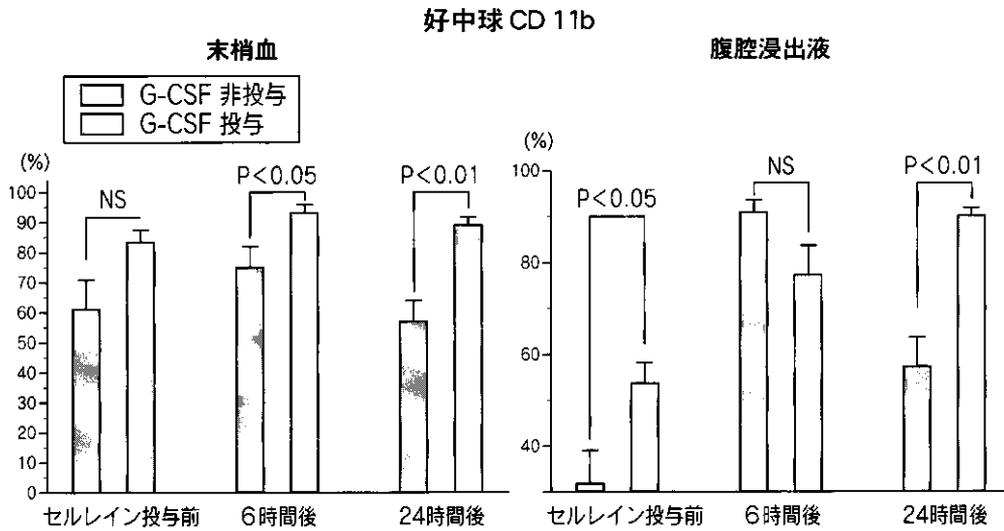


図3 末梢血および腹腔浸出液中の好中球 CD11b 発現

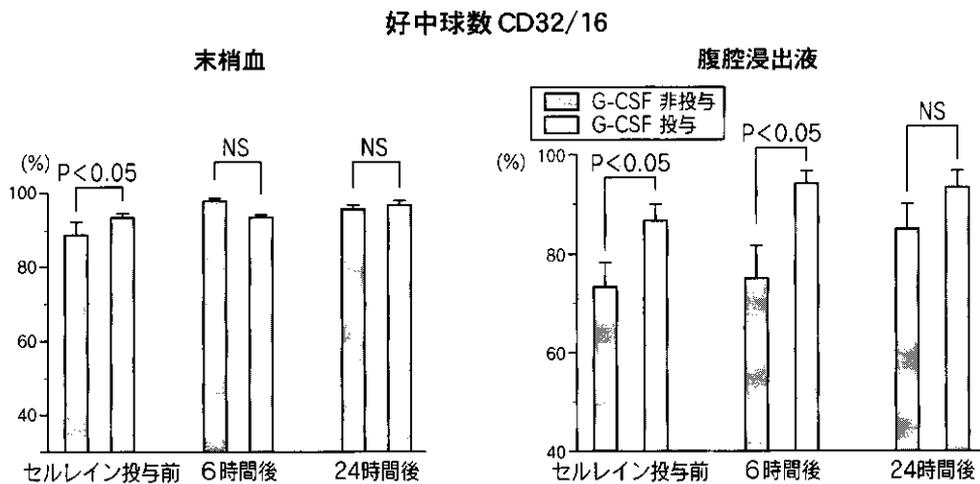


図4 末梢血および腹腔浸出液中の好中球 CD32/16発現

末梢好中球数は膵炎群で caerulein 投与 6 時間後に増加し、24 時間後に前値に復した(図 2)。膵炎+G-CSF 群では膵炎群と比べ、caerulein 投与前、6 時間後、24 時間後に高値を示した。腹腔浸出好中球数は膵炎群で caerulein 投与 6 時間後に増加し、24 時間後に前値に復した。膵炎+G-CSF 群では膵炎群と比べ、caerulein 投与 6 時間後、24 時間後に高値を示した。

末梢好中球の CD11b 発現は膵炎群で 6 時間後に亢進し 24 時間後に前値に復した(図 3)。膵炎+G-CSF 群では膵炎群と比べ、6 時間後、24 時間後に発現が亢進した。腹腔浸出好中球の CD11b 発現は、膵炎群で caerulein 投与に亢進し、6 時間後で著明であった。膵炎+G-CSF 群では、膵炎群と比べ、caerulein 投与前、24 時間後に発現が亢進した。

末梢好中球の CD32/16 発現は、膵炎群で caerulein 投与により変化を認めなかった(図 4)。膵炎+G-CSF 群では、膵炎群と比べ、caerulein 投与前のみ発現が亢進した。腹腔浸出好中球の CD32/16 発現は、膵炎群で caerulein 投与 24 時間後に亢進した。膵炎+G-CSF 群では、膵炎群と比べ、caerulein 投与前、6 時間後に発現が亢進した。

#### D. 考察

今回のマウス急性壊死性膵炎モデルを用いた実験で、G-CSF の前投与により末梢血および腹腔浸出液中の好中球のオプソニン・レセプター (CD11b および CD32/16) の発現が亢進することを示した。今後、好中球オプソニン・レセプター発現亢進が実際に局所感染防御能の改善をもたらすか否かを検討する予定である。また膵炎惹起後の G-CSF 投与(後投与)のオプソニン・レセプター発現に対する効果も検討する予定である。

#### E. 結論

急性壊死性膵炎において G-CSF 投与が、好中球オプソニン・レセプター発現亢進を介して、局所感染防御能を改善する可能性が示唆された。

#### F. 参考文献

- 1) Hatano N, Sugiyama M, Watanabe T, Atomi Y. Opsonin receptor expression on peritoneal exudative and circulatory neutrophils in murine acute pancreatitis. *Pancreas* 2001; 23: 55-61.

#### G. 健康危険情報

該当なし

#### H. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

#### I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

## Ⅱ. 慢性膵炎

### 1) 共同研究プロジェクト