

重症急性膵炎における腸管粘膜上皮のアポトーシスに対するVEGFの効果

研究報告者 黒田嘉和 神戸大学大学院消化器外科学 教授

共同研究者

中島高広, 上田 隆, 安田武生, 沢 秀博 (神戸大学大学院消化器外科学)

【研究要旨】

私どもはこれまでにラット重症急性膵炎において腸管粘膜上皮のアポトーシス誘導が加速されbacterial translocationと関連していること、また急性膵炎において血清VEGF値が有意に上昇していることを明らかにしてきた。そこで、本研究では重症急性膵炎における腸管粘膜上皮のアポトーシスに対するVEGFの効果を検討した。ラット重症急性膵炎モデルにおいて、VEGF投与群は膵炎群に比べ回腸粘膜のアポトーシスが有意に低下していた。VEGFは膵炎自体には影響しなかった。さらにVEGF投与群では膵炎群に比べ腸粘膜の萎縮が改善し、bacterial translocationが有意に抑制された。以上、VEGFは小腸粘膜のアポトーシスおよび萎縮を改善しbacterial translocationを抑制した。

A. 研究目的

重症急性膵炎では感染性合併症が予後を左右しており、感染成立機序としてbacterial translocationが重要であると考えられている¹⁾。私どもはこれまでにラット重症急性膵炎モデルにおいて、腸管粘膜上皮のアポトーシス誘導が加速されており腸管壁の透過性亢進やbacterial translocationと関連していることを明らかにしてきた^{2,3)}。一方、vascular endothelial growth factor (以下VEGF)は血管内皮細胞に作用する増殖因子で、血管新生の促進、血管内皮のアポトーシスの抑制、血管透過性の亢進などをきたす⁴⁾といわれている。私どもは、急性膵炎臨床例およびラット急性膵炎モデルにおいて血清VEGF値が有意に上昇しており、VEGFが肝・腎のアポトーシスを抑制し肝・腎障害の防御因子として作用していることを報告してきた⁵⁾。そこで今年度は、重症急性膵炎における腸管粘膜上皮のアポトーシス誘導の加速に対するVEGFの効果を検討した。

B. 研究方法

Wistar系雄性ラット(体重250~300g)を麻醉下に以下の群に分類して実験を行った。

- (1) Sham群:生食1mlを静注後、単開腹。
- (2) SAP群:生食1mlを静注後、3%デオキシコー

ル酸(0.1ml)を膵管に逆行性注入して出血性壊死性膵炎(DCA膵炎)を作成。

- (3) VEGF + SAP群: recombinant rat VEGF (2 μ g/ml, 1ml)を静注後、DCA膵炎を作成。

モデル作製8, 18, 21時間後に犠牲死させ以下の検討を行った。

1. 膵炎作製8時間後、回腸粘膜におけるアポトーシスの状態をDNA fragmentation ELISAとTUNEL染色で検討した。
2. 膵炎作製8時間後、血清アミラーゼ値とリパーゼ値を測定するとともに、膵組織のHE染色を行い、膵炎の程度を検討した。
3. 膵炎作製18時間後、回腸末端の絨毛高をHE染色で検討した。
4. 膵炎作製21時間後、腸間膜リンパ節の細菌培養を行いbacterial translocationを検討した。
(倫理面への配慮)

本動物実験は、神戸大学大学院医学系研究科動物実験指針に基づき、同大学動物実験委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

1. DNA fragmentation ELISAの結果、回腸粘膜の断片化DNA量はsham群に比べSAP群で有意に増加していた。VEGF + SAP群では断片化DNA量は有意に抑制されていた(図1)。回腸

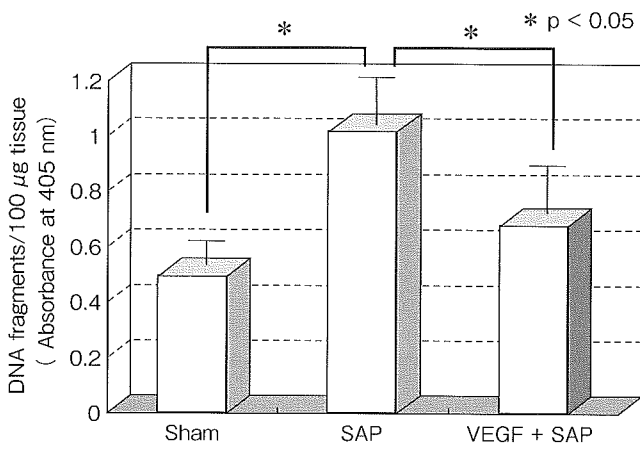


図1 回腸粘膜のDNA断片化量(3% DCA 痔炎 8時間後)

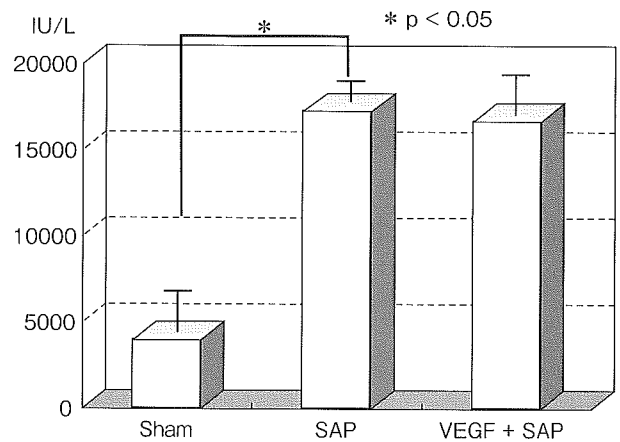


図2 血清アミラーゼ値(3% DCA 痔炎 8時間後)

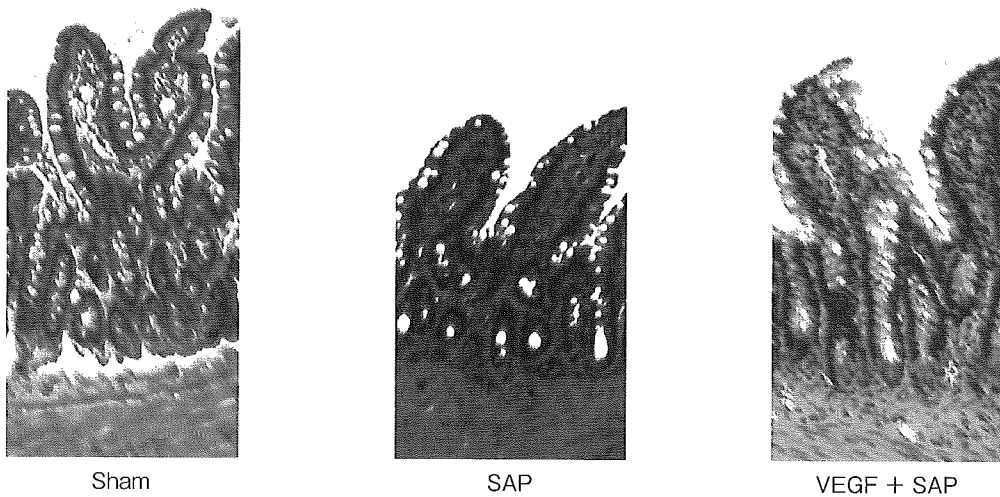


図3 小腸絨毛高(3% DCA 痔炎 18時間後)

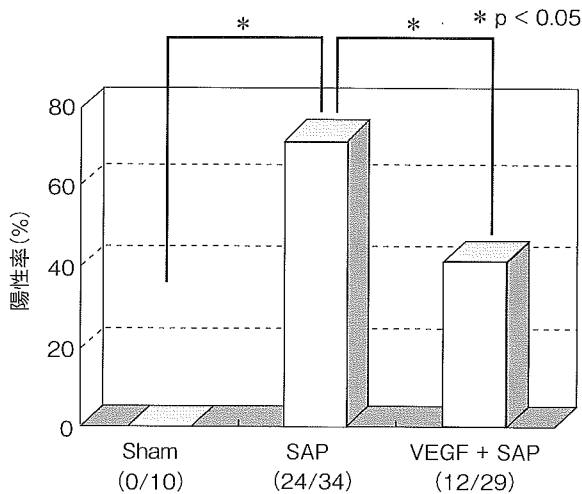


図4 腸間膜リンパ節の細菌培養(3% DCA 痔炎 21時間後)

のTUNEL染色では、sham群に比べSAP群でTUNEL陽性細胞が増加していたが、VEGF + SAP群ではSAP群に比べTUNEL陽性細胞が減少していた(data not shown).

2. Sham群に比べSAP群で血清アミラーゼ値の有意な上昇がみられた。VEGF + SAP群では

SAP群と比べ血清アミラーゼに変化はなかった(図2)。血清リパーゼ値についても同様の結果であった(data not shown)。また、痔炎の組織像自体もVEGFの投与で変化を認めなかった(data not shown)。

3. HE染色の結果、SAP群ではSham群に比べ小腸絨毛高の著明な低下が認められたが、VEGF + SAP群では小腸絨毛高の低下が改善していた(図3)。

4. 腸間膜リンパ節の細菌培養の結果、細菌培養陽性率はSham群で0% (0/10)であるのに対し、痔炎群では71% (24/34)と有意に増加していた。VEGF + SAP群では41% (12/29)であり、SAP群に比して有意に改善していた(図4)。

また、細菌培養の程度を検討したところSAP群では(1+)が65%、(2+)が6%みられたのに対しVEGF + SAP群では(1+)が41%であった。

D. 考察

私どもは重症急性膵炎発症早期に腸管粘膜上皮のアポトーシスを制御することがbacterial translocationの抑止につながるのではと考えている。そこでこれまで報告してきた重症急性膵炎の肝・腎障害に対して防御作用を有するVEGFに着目し、本検討を行った。VEGFは小腸粘膜のアポトーシスおよび萎縮を改善し、腸間膜リンパ節へのbacterial translocationを抑制した。VEGFの腸管粘膜上皮のアポトーシス抑制の機序に関しては現時点では詳細不明である。VEGFの受容体は血管内皮細胞に存在するといわれており、小腸粘膜上皮細胞には存在しないと考えられる。よってVEGFの血管新生促進作用により腸管への血流が修復される機序や、血管内皮細胞自体のアポトーシス抑制作用により血管内皮障害が抑制される機序が推測され、腸管粘膜の微少循環が改善することにより腸管粘膜上皮のアポトーシスの加速が抑制されることが考えられる。現在、血管内皮細胞障害のマーカーとしてのplasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) やトロポモジュリンの重症急性膵炎における動態とこれらのマーカーに対するVEGFの効果について解析を進めている。また本研究結果より、重症急性膵炎発症早期において腸管粘膜上皮のアポトーシスを制御することが感染性合併症(bacterial translocation)対策として重大な意義がある可能性が示された。

E. 結論

ラット重症急性膵炎モデルにおいて、VEGFは小腸粘膜のアポトーシス誘導および小腸粘膜の萎縮を改善し、腸間膜リンパ節へのbacterial translocationを抑制した。

F. 参考文献

1. Beger HG, Bittner R, Block S, Buchler M. Bacterial contamination of pancreatic necrosis. A prospective clinical study. *Gastroenterology* 1986; 91: 433-438.
2. Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, Shinzeki M, Sawa H, Nakajima T, Kuroda Y. Breakdown of intestinal mucosa via accelerated apoptosis increases

intestinal permeability in experimental severe acute pancreatitis. *J Surg Res*; in press.

3. Shinzeki M, Takeyama Y, Ueda T, Yasuda T, Kishi S, Kuroda Y. Intraperitoneal administration of oxygenated perfluorochemical inhibits bacterial translocation associated with severe acute pancreatitis. *Kobe J Med Sci* 2003; 49: 17-24.
4. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18: 4-25.
5. Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, Matsumura N, Sawa H, Nakajima T, Kuroda Y. Vascular endothelial growth factor increases in serum and protects against the organ injuries in severe acute pancreatitis. *J Surg Res*; in press.

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(予定を含む)

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

ラット重症急性膵炎における好中球に由来した Gut Bacterial Translocationの検討

研究報告者 砂村真琴 東北大学大学院消化器外科学 助教授

共同研究者

三上幸夫, 福山尚治, 江川新一, 海野倫明 (東北大学大学院消化器外科学)

【研究要旨】

重症急性膵炎における感染性膵壊死合併の機序としてbacterial translocation (BT)の関与が明らかとなってきた。しかし、重症急性膵炎におけるBTと好中球、matrix metalloproteinases (MMP)との関連は不明である。そこで今回、ラット重症急性膵炎モデルにおいてBTと好中球、MMPとの関連について検討した。ラット重症急性膵炎は5%タウロコール酸を胆膵管内に逆行性に注入して作成した。また、膵炎作成前に抗好中球抗体またはMMP阻害剤を投与した群を設定した。膵炎作成の24時間後に血液、膵、腸間膜リンパ節を採取して細菌培養を行い、各群間の感染率の差を比較検討した。抗好中球抗体投与群、MMP阻害剤投与群では回腸のMPO活性が非投与群に比べて有意に低値を示した。また、抗好中球抗体投与群、MMP阻害剤投与群では回腸の総活性酸素濃度も対照群に比べて有意に低値を示し、回腸のMMPの発現も対照群に比べて減少していた。抗好中球抗体投与群、MMP阻害剤投与群では血液、膵、腸間膜リンパ節の細菌感染率が非投与群に比べて低下した。以上より、ラット重症急性膵炎では好中球除去またはMMP阻害によってBTが抑制された。ラット重症急性膵炎におけるBTに対して好中球、MMPの関与が示唆された。

A. 研究目的

重症急性膵炎では感染を合併することが多く、特に感染性膵壊死は死亡率が高く、大きな臨床的問題となっている。近年、重症急性膵炎における細菌感染合併の機序としてbacterial translocation (BT)の関与が明らかとなってきた^{1,2)}。しかし、このBT発症の詳細な機序についてはいまだ明らかにはなっていない。ところで、重症急性膵炎では肺などの重要臓器に好中球が集積し、集積した好中球がさまざまな炎症性化学物質を放出して臓器障害を誘導する^{3,4)}。この炎症性化学物質の中でmatrix metalloproteinase (MMP)は好中球の重要臓器への集積や基底膜障害に関与すると考えられている^{5,6)}。しかし、重症急性膵炎におけるBTと好中球・MMPとの関連は不明である。一方、同じ炎症性疾患である熱傷においてFazalらは腸管粘膜に好中球が集積し、この集積した好中球がBTを誘導することを報告している^{7,8)}。そこで、今回われわれは重症急性膵炎におけるBTと好中球およびMMPとの関連について検討した。

B. 研究方法

SDラット(200~250 g)を23°C、12時間毎の明暗サイクル下に自由飲水、標準実験食とした。ラットはa) Sham群、b)重症急性膵炎群、c)抗好中球抗体投与群、d)MMP阻害剤投与群の4群に無作為に分類した。抗好中球抗体投与群では重症急性膵炎作成の24時間前に抗好中球抗体を投与し、MMP阻害剤投与群では膵炎誘導の48時間、24時間、直前にMMP阻害剤を投与した。急性膵炎作成の12時間前よりラットを絶食、自由飲水とし、出血性壊死性膵炎をAhoら⁹⁾の方法に準じて作成した。すなわち、ラットをisofluraneで麻酔後に開腹し、5% sodium taurocholate (TCA; Sigma Chemical Co., USA)を体重1 kgあたり1 ml定流量(0.2 ml/分)で胆膵管内に逆行性に注入して膵炎を誘導した。Sham群では5% sodium taurocholateを注入せず、同様の操作のみ行った。

膵炎誘導の24時間後に脱血犠死させ、回腸、膵、腸間膜リンパ節を無菌的に採取した。採取した回腸は一部を液体窒素で凍結保存し、MPO

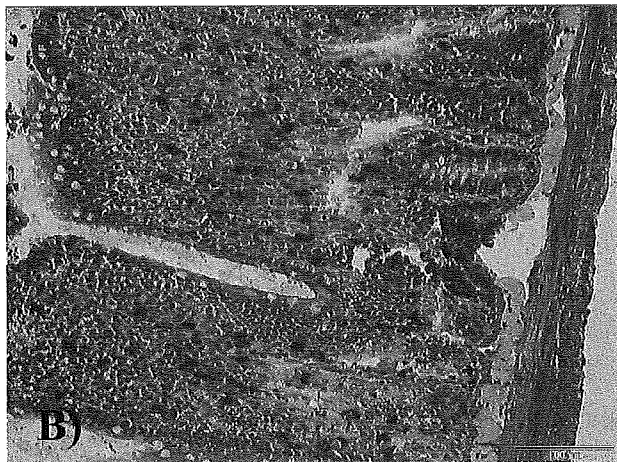
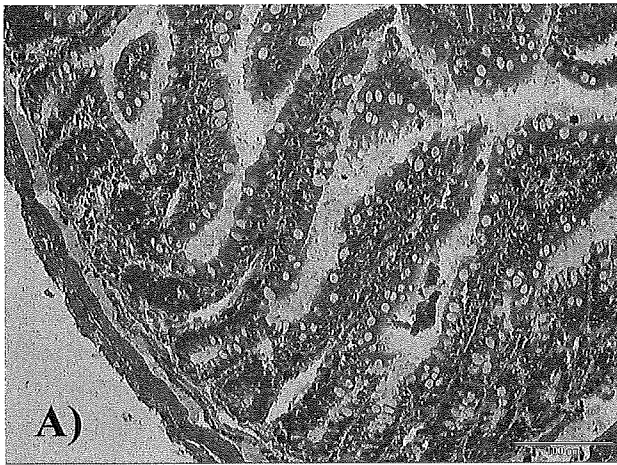


図1 回腸 Naphthol AS-D chloroacetate esterase (NACE) 染色所見

A: 正常,
B: 重症膵炎作成後24時間(Original magnification × 200)

活性, 総活性酸素濃度, gelatin zymography によってMMPを測定した。

血液, 膵, 腸間膜リンパ節には72時間の細菌培養を行って, 細菌感染の頻度を検討した。

また, 正常ラットおよび重症急性膵炎作成後24時間目のラットから回腸の一部を採取し, NACE染色を行って回腸への好中球の集積を観察した。

結果は平均値と平均値からの標準誤差(mean ± S.E)にて示した。One-factor ANOVAによって分散分析を行い, Fisher's PLSDによって有意差検定を行った。危険率5%以下をもって有意と判定した。

(倫理面への配慮)

すべての実験手順はNational Institutes of Health (NIH)の動物取り扱い規約に準じた。

C. 研究結果

Naphthol AS-D chloroacetate esterase (NACE)

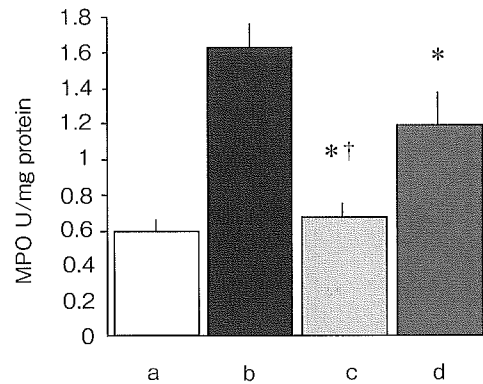


図2 回腸MPO活性

a: Sham群, b: 重症急性膵炎群, c: 抗好中球抗体投与群, d: MMP阻害剤投与群

Mean ± S.E. (n = 6), *: p < 0.05 vs. 重症急性膵炎群,

†: p < 0.05 vs. MMP阻害剤投与群

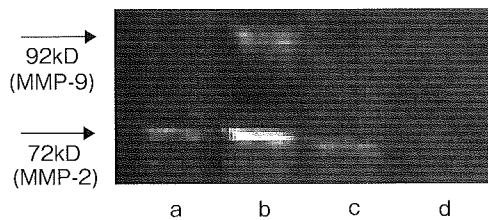


図3 Gelatin zymographyによる回腸MMPの測定

a: Sham群, b: 重症急性膵炎群, c: 抗好中球抗体投与群, d: MMP阻害剤投与群

染色によって正常ラットでも回腸粘膜に好中球が散見された。重症急性膵炎作成後24時間目のラットでは回腸粘膜への好中球の著明な集積が観察された(図1)。

重症急性膵炎群では回腸MPO活性の上昇が観察された。MMP阻害剤投与群では重症膵炎群に比べてMPO活性が有意に低下し, 抗好中球抗体投与群では重症急性膵炎群, MMP阻害剤投与群に比べてさらに有意に低値を示した(図2)。

Gelatin zymographyによって重症急性膵炎群ではMMP-2,9の発現の増強を認めた。抗好中球抗体投与群ではこれらの発現が現弱し, MMP阻害剤投与群では発現がほぼ消失していた(図3)。

回腸の総活性酸素濃度は重症急性膵炎群で上昇した。抗好中球抗体投与群, MMP阻害剤投与群では重症急性膵炎群に比べて回腸の総活性酸素濃度が有意に低下した(図4)。

細菌培養ではSham群のすべての検体に感染を認めなかった。重症急性膵炎群では逆に多くの検体で感染を認めたが, 特に腸間膜リンパ節および膵ではすべての検体に感染を認めた。MMP阻害剤投与群では重症急性膵炎群に比べて感染

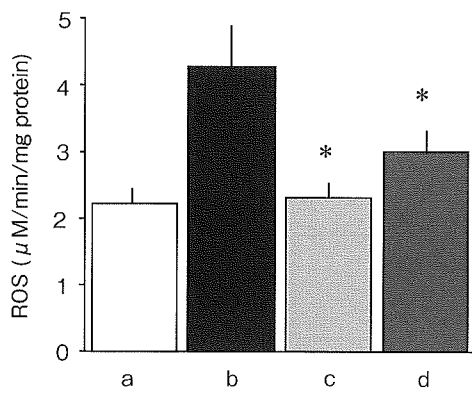


図4 回腸総活性酸素濃度

a: Sham群, b: 重症急性膵炎群, c: 抗好中球抗体投与群, d: MMP阻害剤投与群
Mean ± S.E. (n = 6), *: p < 0.05 vs. 重症急性膵炎群

の頻度が低下し、抗好中球抗体投与群では感染の頻度がさらに低下した(表1).

D. 考察

重症急性膵炎では細菌感染を高率に合併するが、この機序としてBTの関与が明らかになってきた。しかし、重症急性膵炎におけるBTと好中球、MMPとの関連については明らかにされていない。重症急性膵炎モデルの腸管では組織学的に粘膜の浮腫、絨毛高の低下と絨毛の肥大化、炎症性細胞浸潤がみられる¹⁰⁾。Takagiらはイヌ重症急性モデルにおいて、回腸への好中球の集積を示しているが¹¹⁾、本研究でもNACE染色とMPO活性の測定から5%タウロコール酸重症急性膵炎モデルでも回腸への好中球の集積を確認した。本研究ではこの好中球の回腸への集積が抗好中球抗体投与、MMP阻害剤投与によって抑制された。抗好中球抗体投与では血液中の好中球が除去されるためと考えられるが、MMP阻害剤投与では血液中の好中球数は変化しない(データ呈示せず)。しかし、MMPは重要臓器への好中球の遊走に関与すると考えられていることからMMP阻害剤投与によってこの遊走が阻害され、回腸への好中球の集積が抑制されたと考えられる。MMPは一般に集積した好中球から放出されるが、重症急性膵炎群では回腸に好中球が集積したため、Sham群に比べてMMPの発現が増加していた。MMP阻害剤投与群では回腸に好中球を認めたが、阻害剤によってMMPの発現が抑えられていた。抗好中球抗体投与群でもMMPの発現の減弱を認めたが、これは回腸

表1 腸間膜リンパ節、膵、血液の細菌感染陽性率

グループ	腸間膜リンパ節(%)	膵(%)	血液(%)
Sham群	0/6 (0)	0/6 (0)	0/6 (0)
重症急性膵炎群	6/6 (100)	6/6 (100)	4/6 (66)
抗好中球抗体投与群	4/6 (66)	3/6 (50)	2/6 (33)
MMP阻害剤投与群	5/6 (83)	5/6 (83)	3/6 (50)

への好中球の集積が抑制されたためであると考えられた。回腸の総活性酸素濃度は重症急性膵炎群で上昇した。活性酸素も集積した好中球から放出されるが、その他に血管内皮細胞などからも放出される¹²⁾。しかし、本研究ではキサンチン誘導活性酸素濃度は各群間に有意差を認めなかった(データ呈示せず)ことから、今回観察された活性酸素濃度の上昇には主に集積した好中球の関与が想定された。細菌培養では重症急性膵炎作成後24時間目の多くの検体から細菌感染が確認された。この細菌感染は抗好中球抗体投与、MMP阻害剤投与によって抑制された。この機序としては回腸での活性酸素濃度の低下やMMPの低下があげられるが、今後、腸管粘膜障害や透過性亢進についてもさらに検討を行う必要があると考えられる。

E. 結論

本研究ではラット5%重症急性膵炎モデルにおいて好中球除去またはMMP阻害によってBTが抑制された。ラット重症急性膵炎におけるBTでは好中球、MMPの関与が示唆された。

F. 参考文献

1. Tarpila E, Nystrom PO, Franzen L, Ihse I. Bacterial translocation during acute pancreatitis in rats. *Eur J Surg* 1993; 159 : 109-113.
2. Gianotti L, Munda R, Alexander JW, Tchervenkov JI, Babcock GF. Bacterial translocation: a potential source for infection in acute pancreatitis. *Pancreas* 1993; 8 : 551-558.
3. Inoue S, Nakao A, Kishimoto W. Anti-neutrophil antibody attenuates the severity of acute lung injury in rats with experimental acute pancreatitis. *Arch Surg* 1995; 130 : 93-98.
4. Bhatia M, Saluja A, Hofbauer B, Lee HS, Frossard JL, Steer ML. The effects of neutrophil depletion

on a completely noninvasive model of acute pancreatitis-associated lung injury. *Int J Pancreatol* 1998; 24 : 77-83.

5. Van Den Steen PE, Proost P, Wuyts A, Van Damme J, Opdenakker G. Neutrophil gelatinase B potentiates interleukin-8 tenfold by aminoterminal processing, whereas it degrades CTAP-III, PF-4, and GRO-alpha and leaves RANTES and MCP-2 intact. *Blood* 2000; 96 : 2673-2681.
6. Keck T, Balcom JHI, Castillo CF, Antoniu BA, Warshaw AL. Matrix metalloproteinase-9 promotes neutrophil migration and alveolar capillary leakage in pancreatitis-associated lung injury in the Rat. *Gastroenterology* 2002; 122 : 188-201.
7. Fazal N, Shamim M, Khan SS, Gamelli RL, Sayeed MM. Neutrophil depletion in rats reduces burn-injury induced intestinal bacterial translocation. *Crit Care Med* 2000; 28 : 1550-1555.
8. Fazal N, Shamim M, Zagorski J, Choudhry MA, Ravindranath T, Sayeed MM. CINC blockade prevents neutrophil Ca (2+) signaling upregulation and gut bacterial translocation in thermal injury. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1535 : 50-59.
9. Aho HJ, Koskensalo SML, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat: Sodium-taurocholate induced acute hemorrhagic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15 : 411-416.
10. Wang X, Wang B, Wu J, Wang G. Beneficial effects of growth hormone on bacterial translocation during the course of acute necrotizing pancreatitis in rats. *Pancreas* 2001; 23 : 148-156.
11. 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 : 279-289.
12. Schimpl G, Pesendorfer P, Steinwender G, Feierl G, Ratschek M, Hollwarth ME. Allopurinol reduces bacterial translocation, intestinal mucosal lipid peroxidation, and neutrophil-derived myeloperoxidase activity in chronic portal hypertensive and common bile duct-ligated growing rats. *Pediatr Res* 1996; 40 : 422-428.

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) 三上幸夫, 武田和憲, 松田和久, 阿部 永, 元井冬彦, 福山尚治, 江川新一, 砂村真琴, 松野正紀. ラット急性膵炎における matrix metalloproteinases 阻害による腸管障害の検討. 第36回日本膵臓学会大会, 東京 2005年7月28-29日

I. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

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

2. 慢性腭炎

日本人における *CEL* 遺伝子多型とアルコール性膵炎の関連について

研究報告者 船越顕博 国立病院機構九州がんセンター消化器内科 医長

共同研究者

志津野江里, 柳町 幸, 丹藤雄介 (弘前大学医学部内分泌・代謝・感染症内科)

太田 稔, 宮坂京子 (東京都老人総合研究所), 中村光男 (弘前大学医学部病因・病態検査学)

【研究要旨】

アルコールによる膵の障害には、嫌気性代謝の結果生じる脂肪酸エチルエステルが関与すると報告されている。カルボキシルエステルリパーゼ(carboxylester lipase; CEL)は、脂肪酸エチルエステル(fatty acid ethyl esters; FAEEs)の合成酵素であり、*CEL* 遺伝子のエクソン11にはタンデムリピート多型(variable number of tandem repeat; VNTR)があることが報告されている。今回われわれは、*CEL* 遺伝子多型とアルコール性膵炎の関連について調査した。PCRにより、アルコール性膵炎患者、非アルコール性膵炎患者、アルコール依存症患者、高脂血症患者、コントロール群における *CEL* 遺伝子多型を調査し、比較した。コントロール群において最も頻度の高かったものをNNタイプと定義したところ、アルコール性膵炎群では、NNタイプの頻度が有意に低く、Nよりもサイズの大きいLアリの頻度が有意に高くなっていった。*CEL* 遺伝子多型の意義は不明であるが、*CEL* 遺伝子がLアリルである患者ではアルコールによる膵の障害が生じやすい可能性が示唆された。

A. 研究目的

膵炎の原因としてはアルコールの大量摂取によるものが最も多いが、一方で、膵炎を発症するのは、アルコール多飲者のすべてではなく、せいぜい5%程度に過ぎない^{1,2)}。このギャップを説明する要素として個人の素因が関係することが予測されてきたが、アルコール性膵炎の遺伝的素因はいまだ不明である。アルコールによる膵の障害機序は不明であるが、アルコールの嫌気性代謝の結果生じる脂肪酸エチルエステル(fatty acid ethyl esters; FAEEs)が膵の障害機序において重要な役割を果たしている可能性がこれまでに報告されている³⁾。カルボキシルエステルリパーゼ(carboxylester lipase; CEL)は膵から分泌される脂肪分解酵素の1つで、脂肪酸とエタノールからFAEEsを合成する酵素でもある⁴⁾。*CEL* 遺伝子は9番染色体領域q34.3に位置しており、11のexonが存在する。Exon 11はproline-richなO-glycosylation domainをコードし、Exon 11には塩基の単純反復配列の繰り返し回数多型性であるVNTR(variable number of tandem repeat)が存在することが報告されている⁵⁾。その生物学的意義は不明であるが、蛋白質の安定

性や他の酵素の分泌に関与している可能性が報告されている⁶⁾。今回われわれは、アルコール性膵炎と*CEL* 遺伝子多型に関連があるかどうか調査した。

B. 研究方法

対象：久里浜アルコール症センター、九州がんセンター、横浜市立みなと赤十字病院、東京老人医療センターを受診した、アルコール性膵炎患者100人(男性98人、女性2人)、膵炎のないアルコール症患者52人(すべて男性)、非アルコール性膵炎患者53人(男性16人、女性37人)、高脂血症患者96人(男性27人、女性69人)、コントロール435人(男性328人、女性107人)、計736人。

方法：慢性膵炎の診断には、日本膵臓学会の診断基準を用い、膵炎のないアルコール症患者には全例ERCPを施行して膵炎を除外した。

遺伝子の解析：患者白血球からDNAを採取し、*CEL* 遺伝子のVNTRの解析はHiguchiらの方法⁷⁾によりPCRを用いて行った。

コントロール群において最も頻度の高かったVNTRをNNタイプ、Nアリルよりサイズの大き

表1 コントロール群(n = 435)のCEL遺伝子多型

Polymorphism	SS	SN	NN	NL	LL	SL
男性(n)	8	107	115	91	0	7
(%)	2.4	32.6	35.1	27.7	0.0	2.1
女性(n)	1	26	40	32	2	56
(%)	0.9	24.3	37.4	29.9	1.9	5.1

表3 男性アルコール性膵炎(n = 98)とアルコール依存症(n = 52)の比較

Polymorphism	SS	SN	NN	NL	LL	SL
アルコール (n)	1	14	21	10	1	5
依存症 (%)	1.9	26.9	40.4	19.2	1.9	9.5
アルコール性(n)	2	32	21*	38**	0	5
膵炎 (%)	2.0	32.7	21.4*	38.8**	0.0	5.0

*p < 0.015, **p < 0.002

いものをLアリル, 小さいものをSアリルと定義したところ, SS, SN, NN, NL, LL, SLの6つのタイプのVNTRが認められた. 対象とした5つの群におけるVNTRについて, χ^2 乗検定, ロジスティック解析を用いて検討した. なお, P < 0.05を有意とした.

(倫理面への配慮)

事前に倫理委員会の規定に基づき文書での同意を得て行った.

C. 研究結果

1. コントロール群におけるCEL遺伝子多型(表1)

コントロール群では, NNタイプの頻度が最も高く(男性35.1%, 女性37.4%), SNタイプ, NLタイプが次いで高かった. SSタイプとSNタイプの頻度は男性よりも女性で低い傾向にあったが, 明らかな性差は認められなかった.

2. アルコール性膵炎患者群とコントロール群の比較(表2)

2人の女性アルコール性膵炎群はどちらもSNタイプであった. 98人の男性アルコール性膵炎群と328人の男性コントロール群の比較では, アルコール性膵炎群でNNタイプの頻度が有意に低く(P = 0.01), NLタイプの頻度はアルコール性膵炎群で有意に高かった(P < 0.01). Lアリル(NLとSLの合計. LLは両群で認められず.)の頻度をロジスティック解析により検討したとこ

表2 男性アルコール性膵炎(n = 98)と男性コントロール(n = 328)の比較

Polymorphism	SS	SN	NN	NL	LL	SL
コントロール(n)	8	107	115	91	0	7
(%)	2.4	32.6	35.6	27.7	0.0	2.1
アルコール性(n)	2	32	21*	38**	0	5
膵炎 (%)	2.0	32.7	21.4*	38.8**	0.0	5.0

*p = 0.01, **p < 0.01

表4 アルコール性膵炎(n = 100)と非アルコール性膵炎(n = 50)の比較

Polymorphism	SS	SN	NN	NL	LL	SL
非アルコール性(n)	2	10	23	14	0	7
膵炎 (%)	4.0	20.0	46.0	28.0	0.0	14.0
アルコール性(n)	2	34	21*	38	0	5
膵炎 (%)	2.0	34.0	21.0*	38.0	0.0	5.0

*p < 0.004

ろ, コントロールに比べアルコール性膵炎群で有意に高くなっていた(P = 0.002). Sアリル(SS, SN, SLの合計)の頻度は, 両群において有意差はなかった(P = 0.07).

3. アルコール性膵炎患者群と膵炎のないアルコール依存症患者群の比較(表3)

アルコール依存症患者はすべて男性であったため, 98人の男性アルコール性膵炎群と52人のアルコール依存症群の比較を行った. アルコール性膵炎群では, アルコール依存症群に比べ, NNタイプの頻度が有意に低く, NLタイプの頻度が有意に高くなっていた(P < 0.015, P < 0.002). Lアリルの頻度もアルコール性膵炎群で有意に高くなっていた(P = 0.01). Sアリルの頻度は, 両群において有意差はなかった(P = 0.07).

4. アルコール性膵炎患者群と非アルコール性膵炎患者群の比較(表4)

男女合計100人のアルコール性膵炎群と男女合計50人の非アルコール性膵炎群の比較を行った. アルコール性膵炎群では, 非アルコール性膵炎群に比べ, NNタイプの頻度が有意に低かった(P < 0.004). NLタイプの頻度はアルコール性膵炎群において高い傾向にあったが, 有意ではなかった(P = 0.20). LまたはSアリルの頻度は, アルコール性膵炎群において, 有意に高くなっていた(P = 0.007, P = 0.004).

5. アルコール性膵炎患者群と高脂血症患者群の比較

男女合計100人のアルコール性膵炎患者と男女合計96人の高脂血症患者の比較を行った。ここでも、アルコール性膵炎群におけるNNタイプの頻度は、高脂血症群に比べ、有意に低かった($P < 0.005$)。NLタイプの頻度は、アルコール性膵炎群において高い傾向にあったが、有意ではなかった($P = 0.19$)。アルコール性膵炎群では、高脂血症群に比べてLアリル、Sアリルのどちらも頻度が高くなっていた($P = 0.002$, $P = 0.012$)。

6. アルコール依存症患者群、非アルコール性膵炎患者群、高脂血症患者群、コントロール群の比較

この4群において、VNTRの6つのタイプの頻度に有意な差は認められなかった。

D. 考察

アルコール性膵炎患者群では、*CEL*遺伝子のNNタイプの頻度は他の群に比べ、有意に低かった。Sアリルの頻度に有意差はなかったが、Lアリルの頻度は、他の群に比べ、アルコール性膵炎患者群で有意に高かった。コントロール、非アルコール性膵炎患者、膵炎のないアルコール症患者、高脂血症患者の4群では*CEL*遺伝子多型の分布に有意な差は認められなかった。*CEL*遺伝子のNNタイプが低頻度で、Lアリルが高頻度であることは、アルコール性膵炎と正の相関を示し、*CEL*遺伝子がLアリルの者では、アルコールによる膵の障害が生じやすいことが示唆された。

アルコール性膵炎群において、非アルコール性膵炎群と高脂血症群と比べSアリルは高頻度であったが、膵炎のないアルコール依存症群、コントロール群とは有意差は認められなかったことから、*CEL*遺伝子がSアリルであることとアルコールによる膵の障害には関連はないと考えられた。

Proline-rich repeatはO-glycosylationや蛋白安定の維持に重要である⁶⁾。*CEL*遺伝子上のproline-rich repeatは、分泌後の水溶性環境下での安定性だけでなく、その分泌前のプロセッシングに

重要と考えられるが、その数が、酵素活性に関与しているかどうかは明らかではない。*CEL*のlength variantがその酵素活性に関与するか否かが今後の検討課題である。

E. 結論

*CEL*遺伝子多型のLアリルの頻度は、アルコール性膵炎患者で多かった。*CEL*遺伝子がLアリルである者では、アルコールによる膵の障害が発生しやすい可能性が示唆された。

F. 参考文献

1. Nakamura Y, Ishikawa A, Sekiguchi S, Kuroda M, Imazeki H, Higuchi S. Spirits and gastrectomy increase risk for chronic pancreatitis in Japanese male alcoholics. *Pancreas* 2003; 26 : e27-e31.
2. Dufour M, Adamson MD. The epidemiology of alcohol-induced pancreatitis. *Pancreas* 2003; 27 : 286-290.
3. Gukovskaya AS, Mouria M, Gukovsky I, Reyes CN, Kasyo VN, Faller LD, Pandol SJ. Ethanol metabolism and transcription factor activation in pancreatic acinar cells in rats. *Gastroenterology* 2002; 122 : 106-118.
4. Tsujita T, Okuda H. The synthesis of fatty acid ethyl ester by carboxylester lipase. *Eur J Biochem* 1994; 224 : 57-62.
5. Lindquist S, Bluackberg L, Hernell O. Human bile salt-stimulated lipase has a high frequency of size variation due to a hypervariable region in exon 11. *Eur J Biochem* 2002; 269 : 759-767.
6. Bruneau N, Nganga A, Fisher EA, Lombardo D. O-Glycosylation of C-terminal tandem-repeated sequences regulates the secretion of rat pancreatic bile salt-dependent lipase. *J Biol Chem* 1997; 272 : 27353-27361.
7. Higuchi S, Nakamura Y, Saito S. Characterization of a VNTR polymorphism in the coding region of the *CEL* gene. *J Hum Genet* 2002; 47 : 213-215.

G. 健康危険情報

該当なし

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyasaka K, Ohta M, Takano S, Hayashi H, Higuchi S, Maruyama K, Tando Y, Nakamura T, Takata Y, Funakoshi A. Carboxylester lipase gene polymorphism as a risk factor of alcohol-induced pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30 : e87-e91.

2. 学会発表

- 1) 志津野江里, 宮坂京子, 丹藤雄介, 中村光男, 船越顕博. 日本人における CEL 遺伝子多型とアルコール性膵炎の関連について. 第 36 回日本膵臓学会大会, 東京 2005 年 7 月 28 日
- 2) Miyasaka K, Ohta M, Takano S, Hayashi H, Higuchi S, Maruyama K, Tando Y, Nakamura M, Funakoshi A. Association of carboxylester lipase (CEL) gene polymorphism with alcoholic pancreatitis in a Japanese Population. The 36th Annual Meeting of the American Pancreatic Association, Chicago, U.S.A. November 3-4, 2005

I. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

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

ヒストグラム解析を用いた超音波内視鏡による慢性膵炎の早期診断

研究報告者 須賀俊博 札幌厚生病院 院長

共同研究者

宮川宏之，岡村圭也，長川達哉，平山 敦，松永隆裕，大関令奈（札幌厚生病院）

【研究要旨】

超音波内視鏡(EUS)による慢性膵炎の早期診断を目的として膵のEUS像をヒストグラムにより解析し、これをWallaceらのEUSの慢性膵炎所見と対比し、その所見数とヒストグラムの変化の関係を検討した。

A. 研究目的

慢性膵炎の早期診断を行うため超音波内視鏡(EUS)による診断において客観的な指標の導入を目指した。膵の慢性膵炎の変化がEUSで観察できることがこれまでこの研究班で検討されてきた¹⁾。この検討からEUSにより慢性膵炎に現れやすい実質の異常像としてhyperechoic foci (foci) (点状高エコー)，hyperechoic strand (strand) (線状高エコー)，lobularity (lob) (実質分葉化)，lobular out gland margin (logm) (辺縁不整)の所見に着目し各症例の異常所見数を観察した。また実質EUS像のgray-scaleヒストグラムを解析しヒストグラムパターンの変化とEUS所見数の変化を比較検討し慢性膵炎の早期変化を捉えようと試みた。

B. 研究方法

症例は2003年4月より2005年12月にEUSが行われた症例で腫瘍性疾患を除き、さらに胆道系の何らかの膵への影響も考え、胆石などの胆道疾患があるものを除いた114例である。EUSの使用機種はOLYMPUS EUM-2000，GF-UM2000を使用した。観察時に描出良好な部位で同一のゲイン，コントラストの設定を用いSTCはほぼ同一の勾配をかけて膵体部の膵実質像を機器本体のハードディスクに保存した。この保存した画像からretrospectiveに検討がなされた。EUSの所見の検討としてWallaceら²⁾の慢性膵炎の所見を用いた。このEUS所見はhyperechoic foci，hyperechoic strand，lobular out gland margin，

lobularity，cyst，stone，ductal dilatation，side branch dilation，duct irregularity，hyperechoic duct margins，atrophy，inhomogeneous echo patternの12所見である。今回は膵実質の変化を捉えるため、実質に関わる所見を検討した。このうちこれまでの検討で膵実質野に、ある程度の頻度で見られた¹⁾hyperechoic foci，hyperechoic strand，lobularity，lobular out gland marginの4所見を用いることとした。

次に保存した画像を画像解析ソフトでgray-scaleヒストグラムに変換しその分布を解析した。膵体部のスキャンは主膵管を含まないように実質の静止画像を保存した。通常の検査では各症例ごとにゲイン，コントラスト，STCなどで画質を調節しより判断しやすい画像で病変を診断するが、この調節でヒストグラムに影響が出るか否かを膵体部の同一部位で機種の設定を一種ずつ変化させ、ヒストグラムに対する影響を検討した。

またEUSでの慢性膵炎見られやすい前記の4所見の出現数とヒストグラム値の関係を検討した。

(倫理面への配慮)

今回の検討はすでに同意を得て行った通常検査の保存画像の検討が対象であり倫理面で問題ないと思われた。

C, D. 研究結果および考察

対象症例の内訳は表1のとおりである。対象症例114例は入院や外来受診やドックの2次検査な

表1 症例

正常	41
慢性膵炎	41
膵酵素上昇例	17
膵管単純拡張	8
EUS上慢性膵炎	7

表2 各疾患の所見の頻度(%)

	foci	strand	lob	logm
正常	39	71	34	14
慢性膵炎	12	22	2	2
膵酵素上昇例	6	23	6	6
膵管単純拡張	0	14	14	14
EUS上慢性膵炎	57	86	0	43

foci; hyperechoic foci, strand; hyperechoic strand
lob; lobularity, logm; lobular out gland margin

表3 コントラストを一定にした場合の変化

コントラスト	ゲイン	輝度平均	分散平均	歪度平均	尖度平均
5	1	76.10	211.29	-0.24	2.98
5	2	83.10	211.29	-0.24	2.98
5	3	87.10	211.29	-0.24	2.98
5	4	96.10	211.29	-0.24	2.98
5	5	100.10	211.29	-0.24	2.98
5	6	109.10	211.29	-0.24	2.98
5	7	114.10	211.29	-0.24	2.98
5	8	119.10	211.29	-0.24	2.98
5	9	126.10	211.29	-0.24	2.98
5	10	132.10	211.29	-0.24	2.98
5	11	136.10	211.29	-0.24	2.98
5	12	144.10	211.29	-0.24	2.98
5	13	147.10	211.29	-0.24	2.98
5	14	155.10	211.29	-0.24	2.98
5	15	161.10	211.29	-0.24	2.98
5	16	166.10	211.29	-0.24	2.98
5	17	172.10	211.29	-0.24	2.98
5	18	178.10	211.29	-0.24	2.98
5	19	185.10	211.29	-0.24	2.98

どによってEUSが行われた例でEUS以外には臨床症状や血液生化学検査, さらにUS, CT検査や, MRCP, ERCP検査により最終診断された. 慢性膵炎の診断は日本膵臓学会(2001年)の診断基準によった.

1. 異常所見の頻度

各症例における膵実質の異常所見は表2に示す. 正常と診断された例においても一定の所見が認められる. foci 12%, strand 22%, lob 2%, logm 2%である. これは最終診断が非慢性膵炎と考えられる膵酵素上昇例や膵管単純拡張例とほぼ同様の結果であった. これに対し慢性膵炎ではfoci 39%, strand 70%, lob 34%, logm 14%であった. EUS上でのみ慢性膵炎と診断された例ではすべての症例で所見がありそれぞれ出現頻度はfoci 57%, strand 86%, lob 0%, logm 43%と高率であった. これらは現在の診断

基準では慢性膵炎とされない例であるが, これらの中には症状のない慢性膵炎が含まれる可能性もある. なお慢性膵炎診断例でも41例中8例がEUS上実質には異常所見なしであったが, これらは, 一部は膵管系に変化がありEUSで診断可能であった.

2. ヒストグラムの検討

ヒストグラムの検討はこれまでに報告してきた方法によった. 今回は条件が一定でない一般の検査時にヒストグラムの変化がどう影響を受けるか検討した. まずゲインを変化させ他の設定を一定とした場合(表3), 輝度以外は変化しない. 次にコントラストを変化させた場合には輝度と分散が上昇した(表4). そしてSTCを全深度で最低値から最高値にわたり, 中間は浅部より深部になだらかな強調をかけ測定すると, 分散, 歪度, 尖度はほぼ変化しなかった(図1). これら

表4 ゲインを一定にした場合の変化

コントラスト	ゲイン	輝度平均	分散平均	歪度平均	尖度平均
1	10	81.73	80.94	-0.24	2.97
2	10	92.91	104.83	-0.24	2.98
3	10	100.74	122.94	-0.23	2.98
4	10	115.30	161.24	-0.23	2.98
5	10	132.10	211.29	-0.24	2.98
6	10	154.49	289.10	-0.24	2.97
7	10	184.73	414.56	-0.24	2.98
8	10	229.23	488.75	-0.82	3.19

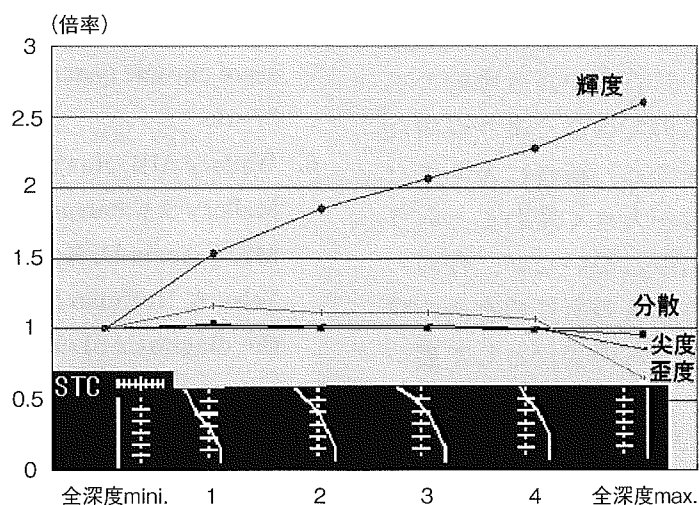


図1 STCの変化による各パラメーターの変化

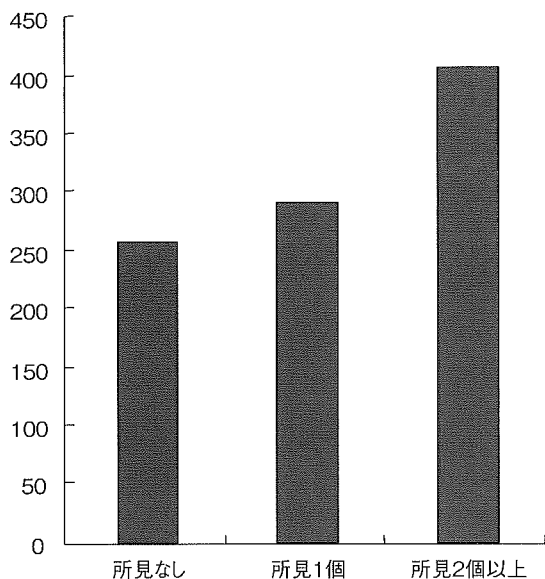


図2 所見数による分散の変化

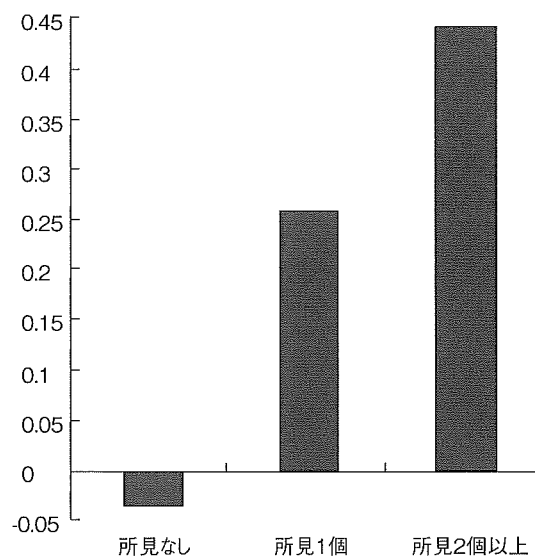


図3 所見数による歪度の変化

から各種設定(ゲイン, コントラスト, STC)で表示を強調するとすべてにおいて輝度が上昇する。歪度, 尖度はすべての設定を変化させても変化はほとんどなく, 分散はコントラストの強調のみで上昇する。したがって通常の検査においてコントラストを一定にして画像を保存しておけば, 分散, 歪度, 尖度を条件が違って

も設定の違いの影響は極めて少なく互いに比較ができることがわかった。

3. ヒストグラムとEUS所見

これまでの検討で慢性膵炎の変化として分散と歪度の上昇が有用であった¹⁾。今回はEUSによる所見数とヒストグラムの変化を比較した。分散と歪度で所見数のないものと1個のみ, 2個

以上に分けてみると明らかに平均値の上昇が見られた。この結果，所見の多いものほど分散歪度の上昇が見られることが示された。この慢性膵炎の所見の多いものは慢性膵炎である可能性が強いのは諸家の報告のとおりである³⁻⁶⁾。したがってEUSで判定された慢性膵炎所見の多いものが数量的に分散と歪度の上昇例と一致することから，術者による画像の読みの違いを補うものとしての価値があると考えられる。

現在慢性膵炎をEUSで診断できるのは検査医の共通の認識であるが，結石例や高度膵管の不整拡張などの進展したものではなくより軽微なまたは早期の膵炎の診断では，術者によりまた画像の判断医により診断が大きく変わるという客観性の問題がまだ解消されていない。今回の検討はこれらに対し慢性膵炎の所見の有無の判定が定量化したヒストグラムの変化として裏づけされたものであれば，より客観性を持った診断として評価できることが示された。

E. 結論

EUSによる慢性膵炎の診断で所見のterminologyが定着しつつある。この所見が実質で多く見られる例ではヒストグラムでも分散や歪度が上昇し客観的に異常が評価できた。慢性膵炎のEUS所見とヒストグラムによる分散と歪度の増加を確認できれば，他の検査で診断が難しい慢性膵炎をより客観的に診断できる可能性が示唆された。

F. 参考文献

1. 須賀俊博，宮川宏之，岡村圭也。ヒストグラム解析を用いた超音波内視鏡による慢性膵炎の早期診断。厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業難治性膵疾患に関する調査研究分担報告書 平成16年度；159-162, 2005.
2. Wallace MB, Hawes RH. Endoscopic ultrasound in the evaluation and treatment of chronic pancreatitis. *Pancreas* 2001; 23 : 26-35.
3. Catalano MF, Greenen JE. Diagnosis of chronic pancreatitis by endoscopic ultrasonography. *Endoscopy* 1998; 30 : A111-A115.
4. Sahai AV, Zimmerman M, Aabakken L, Tarnasky

PR, Cunningham JT, van Velse A, Hawes RH, Hoffman BJ. Prospective assessment of the ability of endoscopic ultrasound to diagnose, exclude, or establish the severity of chronic pancreatitis found by endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Gastrointest Endosc* 1998; 48 : 18-23.

5. Songur Y, Oguz D, Gurkaynak G, Demirci F, Sahin B. Endoscopic ultrasonography and endoscopic retrograde pancreatography in the diagnosis of chronic pancreatitis. *Dig Endosc* 2000; 12 : 37-41.
6. Wallace MB, Hawes RH, Durkalski V, Chak A, Mallery S, Catalano MF, Wiersema MJ, Bhutani MS, Ciaccia D, Kochman ML, Gress FG, Van Velse A, Hoffman BJ. The reliability of EUS for the diagnosis of chronic pancreatitis: interobserver agreement among experienced endosonographers. *Gastrointest Endosc* 2001; 53 : 294-299.

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) 岡村圭也，宮川宏之，須賀俊博。超音波内視鏡（EUS）による慢性膵炎の診断に関する検討～ERCPとの対比～。第69回日本消化器内視鏡学会総会，東京2005年5月26-28日。

I. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

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

Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanineを用いた膵外分泌不全の診断

研究報告者 中村光男 弘前大学医学部病因・病態検査学 教授

共同研究者

松本敦史, 田村綾女, 志津野江里, 松橋有紀, 田中 光, 柳町 幸, 長谷川範幸, 丹藤雄介
(弘前大学医学部第三内科)

野木正之 (弘前大学医学部保健学科)

【研究要旨】

われわれは膵外分泌機能不全を診断するための新たな検査として, benzoyl-l-tyrosyl-[1-¹³C]alanineを用いた呼気試験について検討した. 膵外分泌機能不全患者では, 健常者と比較し, 呼気に排出される¹³CO₂存在比のピーク値が低く, またピークに到達する時間の遷延が認められた. このため, benzoyl-l-tyrosyl-[1-¹³C]alanineを用いた呼気試験は, 膵外分泌機能不全の診断に有用であると考えられる.

A. 研究目的

慢性膵炎など各種膵疾患を診断するうえで, 膵外分泌機能の評価は欠かせないものである. これまで膵外分泌機能検査法として, 摂取脂肪量を一定にして72時間蓄便した後にその中に含まれる脂肪量を測定するバランススタディが最も信頼度の高い検査とされてきたが, 手技が煩雑, 不快であり, より簡便で信頼性の高い検査が望まれていた. 現在, 多くの臨床現場では, PFD試験¹⁾が唯一行われている膵外分泌機能検査法であるが, 今回われわれは, 新たな基質を用いた呼気試験²⁾が, その代用とならないかを検討した.

B. 研究方法

70例(70歳未満の健常者16例, 膵外分泌機能不全14例, 慢性膵炎代償期8例, 70歳以上の高齢健常者10例, 糖尿病19例, 肝硬変4例, 腎不全3例, 呼吸不全3例などを含む)を対象とした. 膵外分泌機能不全の基準は①肉眼的脂肪便を認めるもの, または②1日の糞便中の脂肪排泄量5g以上のもの(脂肪40g/day以上摂取)とした³⁾.

検査は以下のように行った. ①検査前日夕食後より絶食とし, 早朝に被験者の呼気を専用の呼気採取バッグに採取する. ②その後, benzoyl-l-tyrosyl-[1-¹³C]alanine⁴⁾ 0.3gの溶解された溶液

を, 被験者に服用させる. ③服用後, 90分後までは10分毎に, 以降は30分毎に4時間後まで計14回, 被験者の呼気を採取した.

その後UBiT-IR300(大塚製薬)を用いて, 採取した呼気中のCO₂を分析, ¹³CO₂の¹²CO₂に対する割合[¹³CO₂存在比(%)]を各時間で測定し, 前値から見たピーク値, およびピークに達する時間, 累積回収率⁵⁾を求め, おのおのについて検討した.(倫理面への配慮)

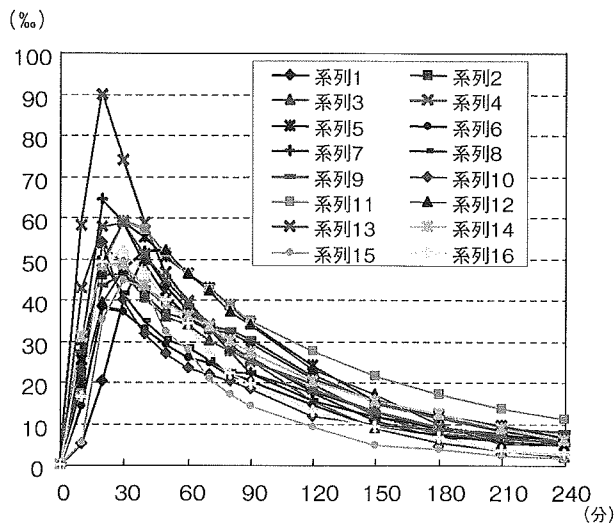
弘前大学の倫理調査委員会に倫理審査申請を行い, 当院への通院患者および入院患者を対象とした上記臨床試験を行う許可を得た.

研究者が被験者に十分な説明を行ったうえで, 同意が得られた場合, 被験者は同意書に署名し, これを研究者が保管した.

また呼気¹³CO₂分析・測定検査は弘前大学保健学科の研究室で行った. 検査後は呼気採取バッグを医療廃棄物として廃棄し, 検体の保管は一切行わなかった. またデータの取り扱いについては個人が特定されないように配慮し, 当該研究以外には用いず, 機密下に保持した. 結果の公表に関しても, プライバシーの保護を最優先した.

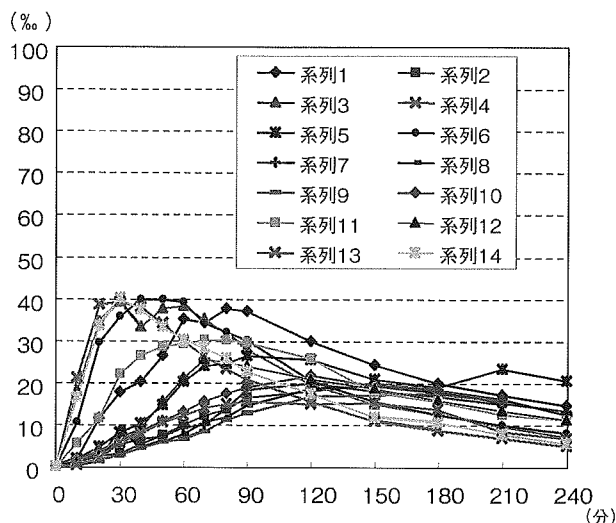
C. 研究結果

健常者, および膵外分泌機能不全患者の個々の



▼健常例の特徴

- ・ピーク値の平均は、54.2%
- ・ピークまでの時間は、負荷後20～50分



▼膵外分泌機能不全例の特徴

- ・ピーク値の平均は、28.0%と低値
- ・ピークまでの時間は、30～80分と遷延傾向

図1 $^{13}\text{CO}_2$ 存在比(%)の経時的変化

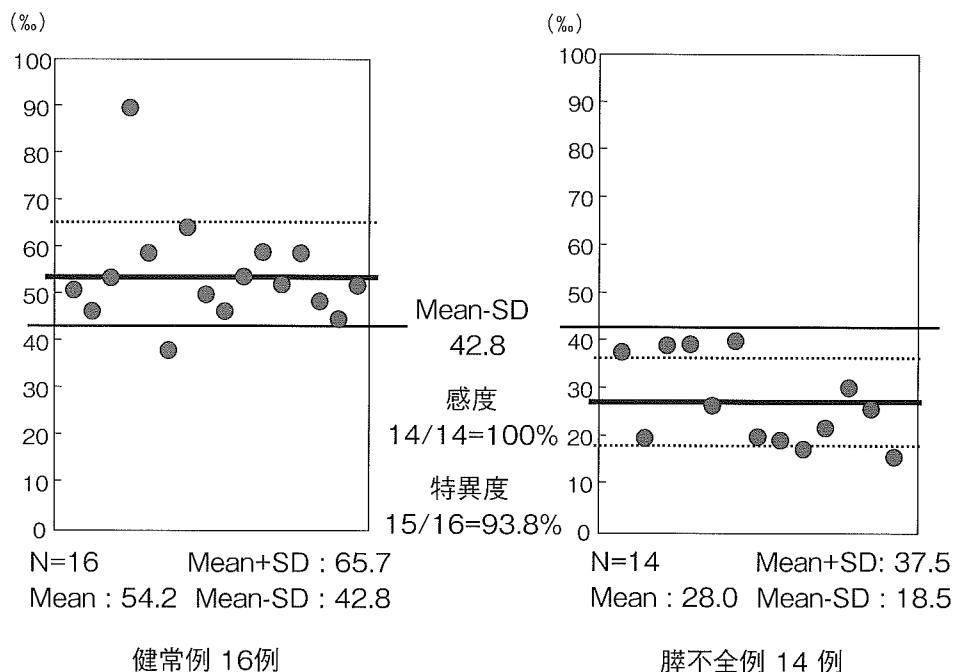


図2 $^{13}\text{CO}_2$ 存在比(%)のピーク値

例で、 $^{13}\text{CO}_2$ 存在比(%)の経時的変化を比較した(図1)。健常者の $^{13}\text{CO}_2$ 存在比ピーク値の平均は54.2%、ピークに到達する時間は20～50分後で1相性であった。一方、膵外分泌機能不全患者ではピーク値の平均は28.0%と健常者に比べ有意に低値を示し、ピークに到達する時間も30～180分後と幅広く、健常者に比べ有意に遷延していた。

次に健常者(16例)と膵外分泌機能不全患者(14例)とで、個々の $^{13}\text{CO}_2$ 存在比のピーク値を比較した(図2)。健常者の $^{13}\text{CO}_2$ 存在比ピーク値の

Mean-SDである42.8をcut-off値として、それ以下を陽性(膵外分泌機能不全)とした場合に、感度：100%，特異度：92.9%となった。さらに膵外分泌機能不全患者(14例)と、残りのすべての被験者56例(健常者、高齢健常者、慢性膵炎非代償期、糖尿病、腎不全、肝硬変、呼吸不全などを含む)とで、個々の $^{13}\text{CO}_2$ 存在比のピーク値を比較した(図3)。健常者の $^{13}\text{CO}_2$ 存在比ピーク値のMean-SDである42.8を同様にcut off値とした場合に、感度：100%，特異度：89.3%であった。

次に健常者(16例)、および膵外分泌機能不全

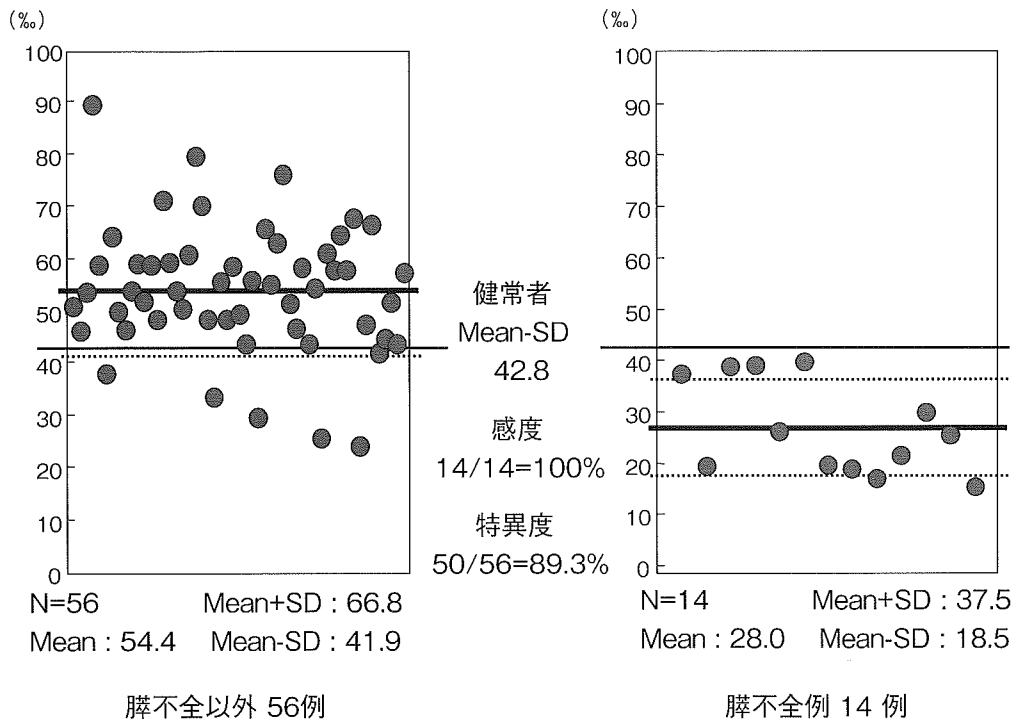


図3 $^{13}\text{CO}_2$ 存在比(%)のピーク値

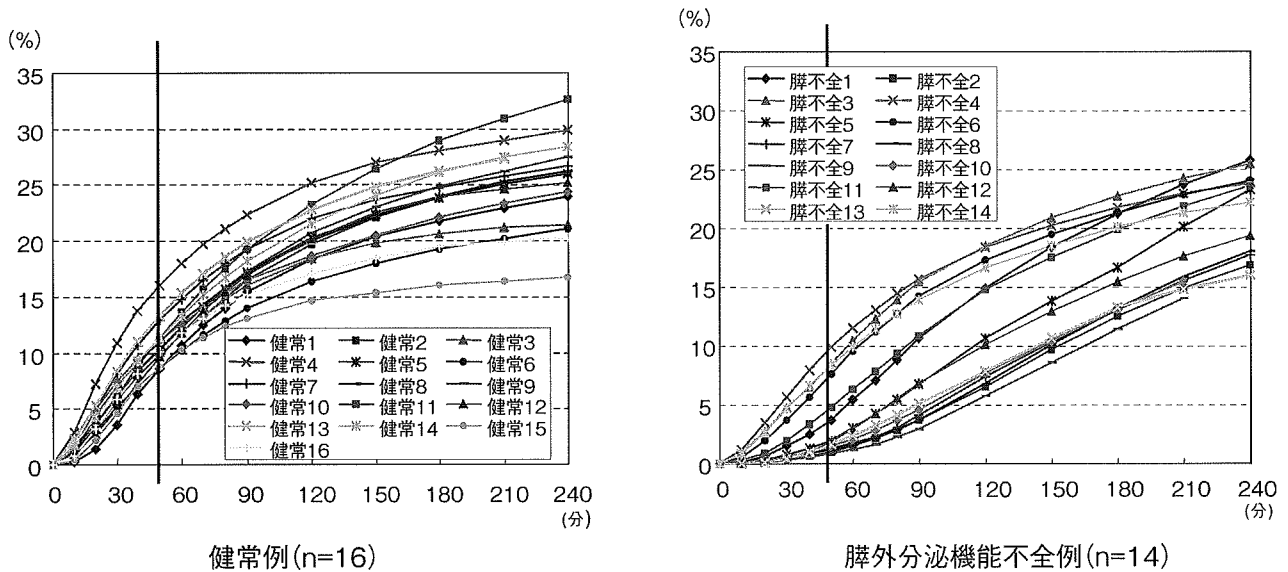


図4 ^{13}C 累積回収率(^{13}C -cumulative% dose)

患者(14例)の個々の例で、 ^{13}C 累積回収率⁵⁾を比較した。その結果、240分までのすべての経過時間において、膵外分泌機能不全患者で有意に ^{13}C 累積回収率の低値を示した。中でも最も有意差を認めたのが、50分後までの累積回収率だった(図4)。そこで負荷後50分の累積回収率について両者で検討した。健常者のMean-SDをcut-off値として、その値以下を陽性とした場合、感度：92.9%、特異度：87.5%であった(図5)。

慢性膵炎代償期、高齢者、糖尿病、腎不全、肝硬変、呼吸不全、胃全摘、バセドウ病の各群

で、個々の $^{13}\text{CO}_2$ 存在比のピーク値を比較した(図6、図7)。慢性膵炎代償期、高齢者、糖尿病、呼吸不全の各群で、 $^{13}\text{CO}_2$ 存在比のピーク値において、健常者と比較して有意差を認めなかった。

D. 考察

Benzoyl-L-tyrosyl-[1- ^{13}C]alanineを用いた呼気試験において、膵外分泌機能不全例では、ピーク値の平均が、健常者に比べ有意に低値であり、ピークに達する時間も遷延する傾向にあった。

$^{13}\text{CO}_2$ 存在比(%)のピーク値および負荷後50

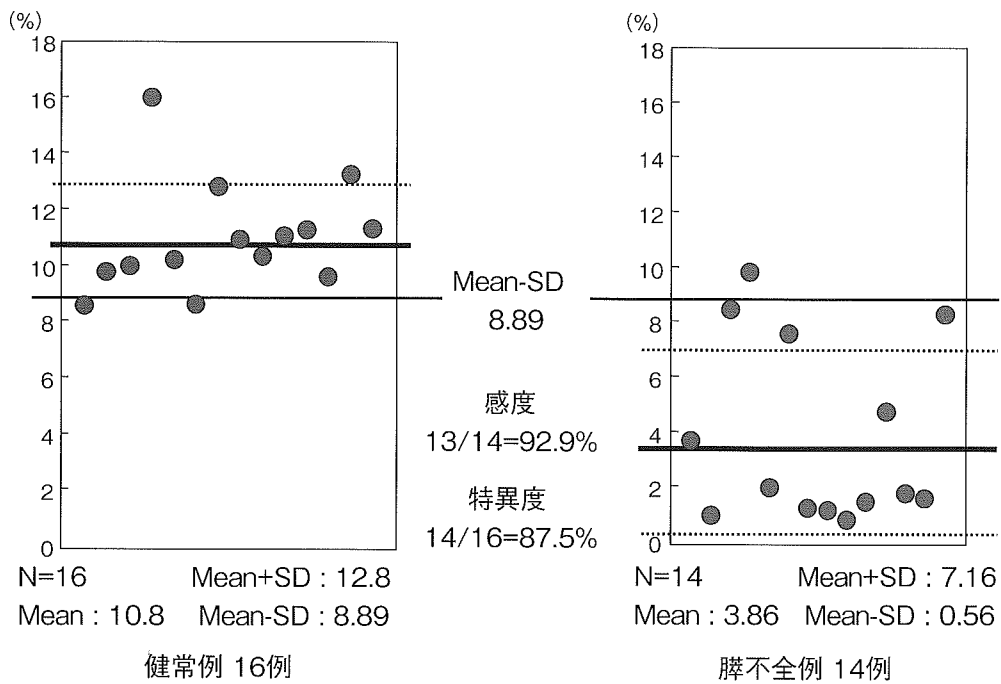


図5 負荷50分後の¹³C累積回収率(%)

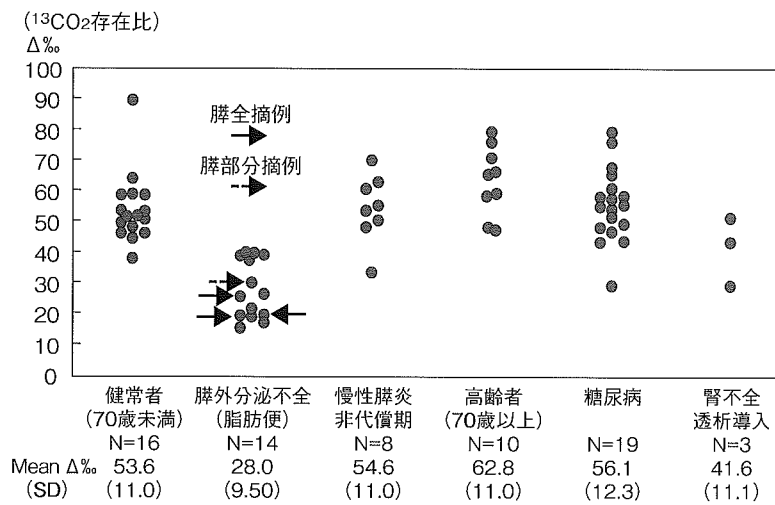


図6 各群のピーク値(1)

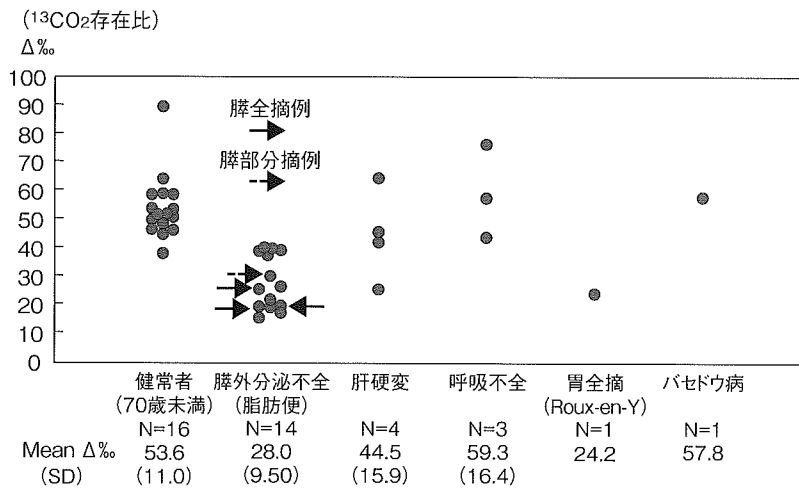


図7 各群のピーク値(2)