

図1 自己免疫性膵炎における再燃の形態

表1 再燃の有無と患者背景，初診時の臨床症状

項目		再燃あり	再燃なし	有意差(p*)
患者背景	男性	30/38 (78.9%)	48/58 (82.8%)	0.640
	発症年齢(年)	62.2 ± 7.5 (48-74; n=38)	64.4 ± 10.3 (27-79; n=58)	0.230
	飲酒歴(>25g/日)	7/37 (18.9%)	4/57 (7.0%)	0.079
臨床症状	上腹部痛・背部痛	16/34 (47.1%)	20/43 (46.5%)	0.962
	黄疸	15/36 (41.7%)	20/43 (46.5%)	0.666
	発熱	2/35 (5.7%)	2/44 (4.5%)	0.814
	腹部圧痛	9/34 (26.5%)	7/44 (15.9%)	0.252

* χ^2 検定, Student's t-test, Welch's t-test

研究者(大槻 眞)の所属する産業医科大学倫理委員会の承認(承認番号：第03-21号)を受け、「疫学研究に関する倫理指針(平成16年文部科学省・厚生労働省告示第1号)」に従い施行した。特に、調査票には個人情報の保護のため、イニシャルを含め患者氏名および患者ID番号を記載せず、各施設で連結可能匿名化した番号あるいは記号の記入をお願いした。

C. 研究結果

1. 検討対象症例

研究班の参加21施設より125症例の調査票が収集された。このうち、重複例(1例)、2006年のAIP診断基準項目についての記載が不十分な症例、あるいは基準を満たさない症例、さらに臨床データ記載の不備な症例を除外し、残りの96例について解析を行った。

2. 再燃の有無と再燃形態

解析対象とした96例は全例で経口プレドニゾロン(PSL)による治療が行われており、38例(40%)で再燃を認めた。胆道ドレナージの併用は再燃例の55% (21/36, 2例で記載なし)、非再燃例の48% (28/54, 4例で記載なし)で施行されていた(有意差なし)。

再燃の形態として、膵病変のみの再燃が19例

(50%)、膵外病変の再燃が11例(29%)、両者の再燃が8例(21%)にみられ、約7割の症例で膵病変の再燃をきたしていた(図1)。

3. 再燃をきたしやすい症例の臨床的特徴

再燃例と非再燃例において、患者背景、初診時の臨床症状(表1)、初診時の検査成績(表2)、合併症(表3)について比較検討した(χ^2 検定, Student's t-test, Welch's t-test)。その結果、患者背景と初診時の臨床症状には有意差はなかったが、画像検査において、再燃例では1/3以上の膵腫大を示す例(p=0.008, odds ratio:10.7)、ガリウムシンチにおける膵外臓器へのガリウムの集積を示す例(p=0.043, odds ratio:6.0)が有意に多かった。また、合併症では下部総胆管を除く硬化性胆管炎の合併率が有意に高かった(p=0.009, odds ratio:3.1)。

4. 維持療法におけるPSL投与量と再燃

PSLの維持投与量別に再燃率を検討した結果(図2)、ステロイド療法を中止した症例が最も再燃率が高く(53.8%；n=26)、PSLの維持投与量が多いほど再燃率は少なかった。再燃率に統計学的な有意差が出る維持投与量のカットオフ値を検討した結果、PSL投与中止と維持投与量1.25～2.5 mg/日を併せた群(n=52, 再燃率：48.1%)、維持投与量5.0 mg/日と7.5 mg/日を併

表2. 再燃の有無と検査所見

項目種	項目	再燃あり	再燃なし	有意差(p*)
血液検査	白血球(/ μ L)	6,118 $\pm$ 1,688 (3,500-10,900; n=38)	5,899 $\pm$ 1,411 (3,480-10,700; n=48)	0.655
	好酸球>5%	16/35 (45.7%)	16/44 (36.4%)	0.400
	CRP>0.7 mg/dL	5/35 (14.3%)	6/47 (12.8%)	0.842
	総ビリルビン>1.2 mg/dL	17/38 (44.7%)	25/48 (52.1%)	0.499
	ALT>35 IU/L	20/38 (52.6%)	28/48 (58.3%)	0.597
	ALP 高値	30/38 (78.9%)	33/48 (68.8%)	0.289
	Amylase 高値	12/37 (32.4%)	15/57 (26.3%)	0.522
	Lipase 高値	11/22 (50.0%)	17/35 (48.6%)	0.916
	γ -globulin (g/dL)	2.19 $\pm$ 0.60 (1.38-3.72; n=29)	2.04 $\pm$ 0.82 (1.14-4.60; n=40)	0.383
	IgG (mg/dL)	2,403 $\pm$ 808 (1,300-3,880; n=36)	2,127 $\pm$ 782 (1,010-4,272; n=45)	0.124
	IgG4 (mg/dL)	779 $\pm$ 1,396 (106-6,700; n=21)	841 $\pm$ 877 (142-4,580; n=39)	0.855
	抗核抗体($\geq$ 80 倍)	14/36 (38.9%)	22/58 (37.9%)	0.926
	リウマチ因子	4/28 (14.3%)	13/51 (25.5%)	0.246
	可溶性IL-2 レセプター (IU/mL)	1,185 $\pm$ 613 (806-2,260; n=5)	822 $\pm$ 301 (440-1,440; n=9)	0.269
	β 2 microglobulin (mg/dL)	2.65 $\pm$ 1.32 (1.39-4.44; n=6)	2.69 $\pm$ 0.99 (1.52-4.40; n=7)	0.951
	補体活性(<30 CH ₅₀ /mL)	4/14 (28.6%)	2/24 (8.3%)	0.099
画像検査	脾腫大>1/3	32/33 (97.0%)	36/48 (75.0%)	0.008
	脾管狭細>1/3	32/35 (91.4%)	37/48 (77.1%)	0.085
	ガリウムシンチ, 脾臓への集積	11/14 (78.6%)	9/14 (64.3%)	0.403
	ガリウムシンチ, 脾外臓器への集積	12/14 (85.7%)	7/14 (50.0%)	0.043
病理検査 (脾臓)	LPSP**	11/11 (100%)	13/15 (86.7%)	0.207
	IgG4 陽性	8/8 (100%)	7/9 (77.8%)	0.156
	形質細胞浸潤			
	閉塞性静脈炎	2/6 (33.3%)	2/11 (18.2%)	0.482

* χ^2 検定, Student's t-test, Welch's t-test. **LPSP, lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis

表3 再燃の有無と脾外合併症

脾外合併症	再燃あり	再燃なし	有意差(p**)
硬化性胆管炎*	21/36 (58.3%)	18/58 (31.0%)	0.009
硬化性唾液腺炎 (Mikulicz 病, Kuttner 腫瘍)	6/38 (15.8%)	12/57 (21.1%)	0.521
涙腺腫脹(Mikulicz 病)	3/38 (7.9%)	5/58 (8.6%)	0.900
後腹膜線維症	7/38 (18.4%)	7/57 (12.3%)	0.408
縦隔・肺門リンパ節腫脹	11/36 (30.6%)	14/58 (24.1%)	0.525
慢性甲状腺炎	1/38 (2.6%)	4/58 (6.9%)	0.244
間質性肺炎	2/37 (5.4%)	4/58 (6.9%)	0.771
間質性腎炎	1/37 (2.7%)	2/58 (3.4%)	0.839
炎症性偽腫瘍(肝, 肺など)	4/37 (10.8%)	2/58 (3.4%)	0.150
喘息	10/37 (27.0%)	8/58 (13.8%)	0.108
アトピー性皮膚炎	2/37 (5.4%)	2/58 (3.4%)	0.643

*疑診例を含む, 下部総胆管狭窄は除く, ** χ^2 検定, Student's t-test, Welch's t-test

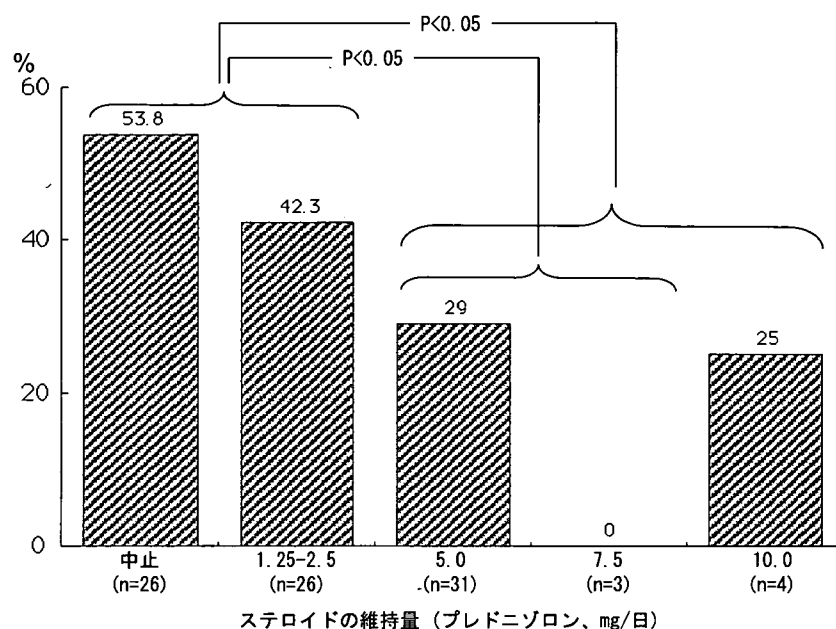


図2 ステロイド維持量と再燃率

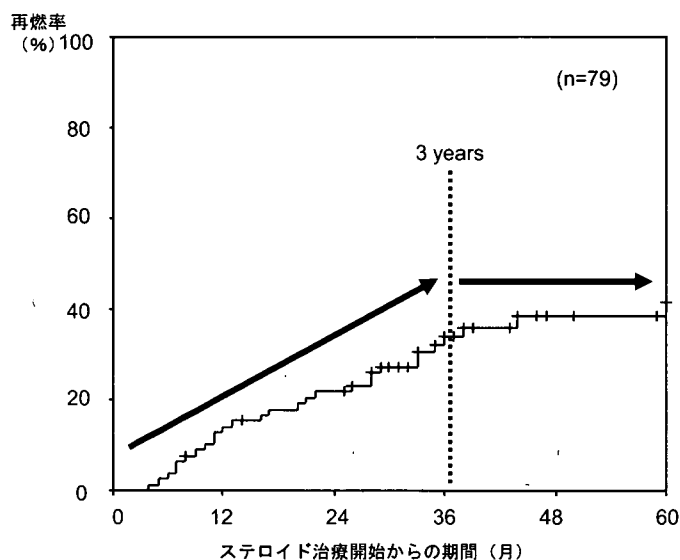


図3 ステロイド治療開始から再燃までの期間(全症例)

せた群(n=34, 再燃率: 26.5%)の2群間の比較で有意差があった(p=0.045)。また、PSL投与中止と維持投与量1.25～2.5 mg/日を併せた群, 維持投与量5.0 mg/日, 7.5 mg/日, 10 mg/日を併せた群(n=38, 再燃率: 26.3%)の2群間の比較でも有意差があった(p=0.036)。

5. 再燃の時期

検討した全症例において(n=79), ステロイド治療開始から再燃までの期間を検討した(図3, Kaplan-Meier法)。多くの症例ではステロイド治療開始から3年の間に再燃を示し, 3年以後に再燃を示した症例は少なかった。ステロイド維持量別に再燃率を検討すると, 3年以後に再燃をき

たす症例はステロイド治療の中止例に多く, ステロイド維持療法を継続している群において3年以降の再燃はほとんど見られなかった(図4, Kaplan-Meier法)。さらに, ステロイド治療を中止した例において(n=26), 治療中止から再燃までの期間を検討した(図5, Kaplan-Meier法)。その結果, 再燃例14例中12例(85.7%)が治療中止から1.5年の間に再燃していた。なお, 維持療法を含むステロイド治療期間について, 再燃群(12.8±8.9ヵ月, 1～30ヵ月, n=14)と非再燃群(13.5±10.5ヵ月, 1～31ヵ月, n=11)の間で有意差はみられなかった(図6)。

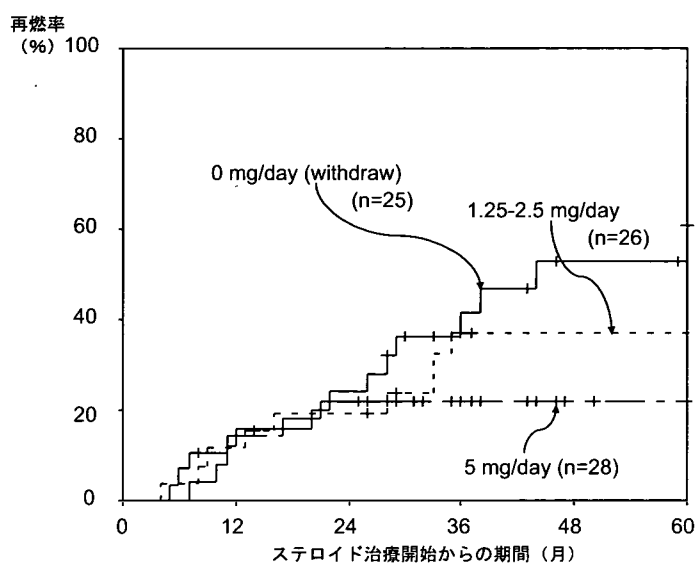


図4 ステロイド治療開始から再燃までの期間
(維持療養ステロイド投与量による比較)

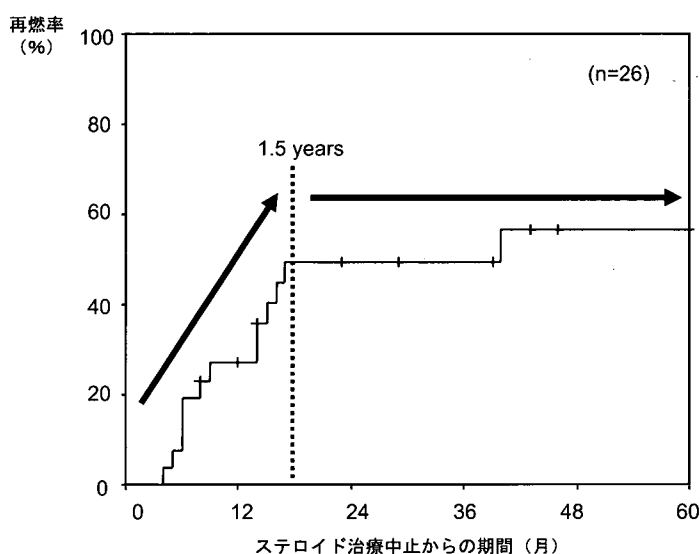


図5 ステロイド治療中止から再燃までの期間
(ステロイド治療中止例)

D. 考察

これまでAIPでは6～26%の症例に再燃がみられると報告されている¹¹⁾。今回の調査ではAIPの40%に再燃がみられ、既報の再燃率より高い結果であった。この理由として、本調査の目的がステロイド治療の方法と再燃との関連を検討することにあり、特に再燃例についての調査票の収集に主眼をおいたバイアスのためと考えられる。

臨床像の比較から、再燃をきたしやすい症例の特徴として、①1/3以上の腓腫大、②ガリウムシンチにおける腓外臓器へのガリウムの集積、③下部総胆管を除く硬化性胆管炎の合併が抽出されたが、これらはいずれもAIPの活動性を反

映するものであり、ステロイド治療に際し注意が必要と考えられる。

PSLの維持投与量については、10.0 mg/日の維持投与量で再発する症例もあったが(1例)、0～2.5 mg/日と5.0～7.5 mg/日の2群間、および0～2.5 mg/日と5.0～10 mg/日の2群間で再燃率に有意差があった。ステロイドの副作用を考慮した場合、5～7.5 mg/日が適量と推察されるが、AIPの活動性が高い場合や体重により、10 mg/日の維持投与量も考慮すべきである。

AIPではステロイドの抗炎症作用と免疫抑制作用が疾患の活動性を抑えていると考えられる。したがって、ステロイド治療中止あるいは少ないPSL維持投与量で再燃率が上昇することは予

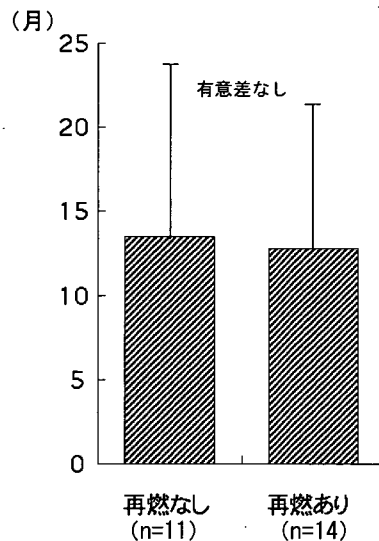


図6 ステロイド治療期間と再燃率
(ステロイド治療中止例)

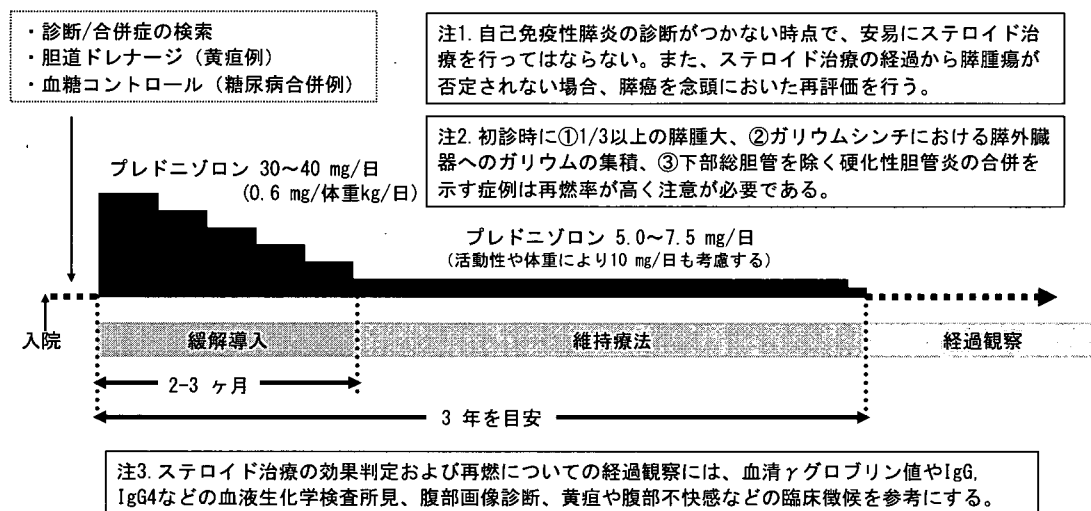


図7 自己免疫性膵炎の治療

厚生労働省難治性膵疾患調査研究班，自己免疫性膵炎の治療に関するコンセンサス(2005年)⁷⁾を改変

想された結果であり，再燃の抑制には維持療法の継続が有効である．しかし，AIPは基本的に予後良好な疾患であることに加え，高齢者の多いAIP症例におけるステロイド長期投与の副作用を考慮した場合，一定の維持療法後にはPSL投与の中止が望まれる⁷⁾．ステロイドの投与期間を一概に規定することは難しいが，ステロイド治療開始3年以後の再燃例は少なかったことより(図3)，少なくとも3年間のステロイド治療の継続が1つの目安であり，ステロイド治療中止後は慎重な経過観察をすることが重要と考えられる．

E. 結論

今回，新たに得られた調査結果を踏まえ，

2005年，厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班「自己免疫性膵炎の病態解明と診断基準の指針に関する研究」ワーキンググループにより提示された「自己免疫性膵炎の治療についてのコンセンサス」⁷⁾を改変した(図7)．

ステロイド治療は3年間を目安とし，PSLの維持量は5.0～7.5 mg/日とする．AIPの活動性や体重により10 mg/日の維持量も考慮する．初診時に①1/3以上の膵腫大，②ガリウムシンチにおける膵外臓器へのガリウムの集積，③下部総胆管を除く硬化性胆管炎の合併を示す症例は再燃率が高く，ステロイド治療および経過観察に際し注意が必要である．

F. 参考文献

1. 西森 功, 大槻 眞. 自己免疫性膵炎の疫学調査, 自己免疫性疾患に合併する慢性膵炎の実態調査. 平成 15 年度総括・分担研究報告書. 厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班, 183-194, 秀文社, 2003.
2. Nishimori I, Tamakoshi A, Otsuki M. Prevalence of autoimmune pancreatitis in Japan from a nationwide survey in 2002. J Gastroenterol 2007; 42 Suppl 18: 6-8.
3. Nishimori I, Tamakoshi A, Kawa S, et al. Influence of steroid therapy on the course of diabetes mellitus in patients with autoimmune pancreatitis: findings from a nationwide survey in Japan. Pancreas 2006; 32: 244-248.
4. Suda K, Nishimori I, Takase M, et al. Autoimmune pancreatitis can be classified into early and advanced stages. Pancreas 2006; 33: 345-350.
5. 西森 功, 大槻 眞. 自己免疫性膵炎における胆管病変 - 全国調査から. 肝胆膵 2007; 54: 173-178.
6. 西森 功, 岡崎和一, 須田耕一, 他. 自己免疫性膵炎の治療 - 厚生労働省難治性疾患克服研究事業 難治性膵疾患調査研究班の自己免疫性膵炎の治療に関するコンセンサス. 膵臓 2005; 20: 343-348.
7. 西森 功, 岡崎和一, 須田耕一, 他. 自己免疫性膵炎の治療についてのコンセンサス. 厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班. 平成 16 年度総括・分担研究報告書. 東京. アークメディア 2005; 223-231.
8. 西森 功, 伊藤鉄英, 乾 和郎, 他. 自己免疫性膵炎: 黄疸合併例の初期治療の実態調査. 厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班. 平成 17 年度総括・分担研究報告書. 厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班. 東京. アークメディア 2006; 110-117.
9. Ito T, Nishimori I, Inoue N, et al. Treatment for autoimmune pancreatitis: consensus on the treatment for patients with autoimmune pancreatitis in Japan. J Gastroenterol 2007; 42 Suppl 18: 50-58.
10. 西森 功, 岡崎和一, 川 茂幸, 他. 自己免

疫性膵炎についての合同調査. 厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班. 平成 18 年度総括・分担研究報告書. 厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班. 東京. アークメディア 2007; 133-136.

11. Kamisawa T, Okamoto A. Autoimmune pancreatitis: proposal of IgG4-related sclerosing disease. J Gastroenterol 2006; 41: 613-615.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ito T, Nishimori I, Inoue N, Kawabe K, Gibo J, Arita Y, Okazaki K, Takayanagi R, Otsuki M. Treatment for autoimmune pancreatitis: consensus on the treatment for patients with autoimmune pancreatitis in Japan. J Gastroenterol 2007; 42 [suppl XV III]; 50-58.
- 2) Nishimori I, Tamakoshi A, Otsuki M, the Research Committee on Intractable Diseases of the Pancreas, Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan. Prevalence of autoimmune pancreatitis in Japan from a nationwide survey in 2002. J Gastroenterol 2007; 42 [suppl XV III]: 6-8.
- 3) 西森 功, 大西三朗. 自己免疫性膵炎のステロイド治療: 問題点と対策. Pharma Medica 2007; 25: 41-45.
- 4) 西森 功, 岡崎和一, 川 茂幸, 大槻 眞. 自己免疫性膵炎の治療についての実態調査. 胆と膵 2007; 28: 961-966.
- 5) 西森 功, 大西三朗. 自己免疫性膵炎の疫学. Bio Clinica 2007; 22: 953-956.
- 6) 西森 功, 大西三朗. 自己免疫性膵炎における自己抗体の発現と病態における意義. 最新医学 2007; 62: 1914-1918.
- 7) 西森 功, 大槻 眞. 自己免疫性膵炎における胆管病変 - 全国調査から. 肝胆膵 2007; 54: 173-178.

2. 学会発表

- 1) Nishimori I. First step toward international consensus of diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis. Clinical diagnostic criteria in USA and Italy. Japan-Korea Symposium on Autoimmune

Pancreatitis, Kokura, Japan March 2007

- 2) Ito T, Nishimori I, Otsuki M. Treatment and clinical outcome of autoimmune Pancreatitis. First Biennial Congress of the Asian-Pacific Hepato-Pancreato-Biliary Association. Current Topic, Fukuoka, Japan March 2007
- 3) Nishimori I, Koizumi M, Otsuki M. Steroid responsiveness and recurrence. Korea-Japan Symposium for Autoimmune Pancreatitis. Seoul, Korea August 2007
- 4) Nishimori I. Comparison of diagnostic criteria among Japan, Korea, and USA: Overview. International consensus meeting of clinical diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis in Kobe. Kobe, Japan October 2007.

H. 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

4. 膵嚢胞線維症

1) 膵嚢胞線維症の診療マニュアルの作成

腭嚢胞線維症の診療マニュアルの作成

研究報告者 成瀬 達 三好町民病院 院長

共同研究者

石黒 洋（名古屋大学大学院健康栄養医学）、玉腰暁子（愛知医科大学医学部公衆衛生学）
吉村邦彦（国家共済虎の門病院呼吸器センター内科）、広田昌彦（熊本大学大学院消化器外科学）
大槻 眞（産業医科大学消化器・代謝内科）

【研究要旨】

腭嚢胞線維症(CF)は、cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)の遺伝子変異／多型を原因とする常染色体劣性遺伝性疾患である。本研究班では、わが国のCFの症例数、病態、長期経過を明らかにして治療指針を作成するために、2004年1年間ならびに過去10年間のCF受療患者を対象とする第3回の全国疫学調査を行った。過去(1994年および1999年)の全国調査の集計された症例を含めた計63症例の発症年齢と観察期間を解析した。生存期間が延長してきており、呼吸管理や栄養管理の進歩、および非定型例(軽症～中等症)が診断されるようになってきたことが理由と考えられる。今回の全国疫学調査の成果を診療に反映させるため、「腭嚢胞線維症の診療の手引き」を作成している。

A. 研究目的

腭嚢胞線維症(CF)は、cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)の遺伝子変異／多型を原因とする常染色体劣性遺伝性疾患である。CFTR Clチャネルは全身の上皮膜細胞に発現し、機能不全の程度により、腭、消化管、気道粘膜、輸精管、汗管など全身の上皮膜組織にさまざまな障害が生じるため、多彩な病態を示す。CFは欧米人に多いが、本邦では極めて稀である。

本研究班では、日本人のCFの症例数、病態、長期経過を明らかにして治療指針を作成するために、2004年1年間ならびに過去10年間のCF受療患者数の推計と臨床像の把握を目的として、疫学班(特定疾患の疫学に関する研究班)と共同で第3回の全国疫学調査を行った。その結果、2004年中の患者は13名、過去10年間の患者数は38名程度と考えられた¹⁾。また、2次調査によって回収された17症例の個人調査票の解析を行った²⁾。17症例中、調査時点で12症例が死亡していた。死因はすべて呼吸器感染あるいは呼吸不全であった。生存期間の中央値は18歳(5カ月～36歳：生存中)であった。長期経過としては、繰

り返す呼吸器感染により呼吸不全が進行し、同時に栄養状態が悪化し、入院治療を必要とする期間が徐々に長くなり、15～20歳で死亡する症例が典型的であり、白人のCFと類似していた。

本年度は、今回の調査と過去2回(1994年³⁾、1999年⁴⁾)の調査の結果から、わが国のCFの発症年齢と観察期間を解析した。CFは日本人では極めて稀であるため、ほとんどの医師は一生に1回以下しか経験することはないと思われる。本研究の成果を診療に反映させるため、「腭嚢胞線維症の診療の手引き」を作成することとした。

B. 研究方法

当研究班による今回(第3回)の全国疫学調査と過去2回(1994年、1999年)の調査で回収された個人調査票の記載から、わが国のCFの発症年齢と観察期間を解析した。

(倫理面への配慮)

本疫学調査は名古屋大学倫理委員会(承認番号：217)および産業医科大学倫理委員会(承認番号：04-57)による承認を受けた。

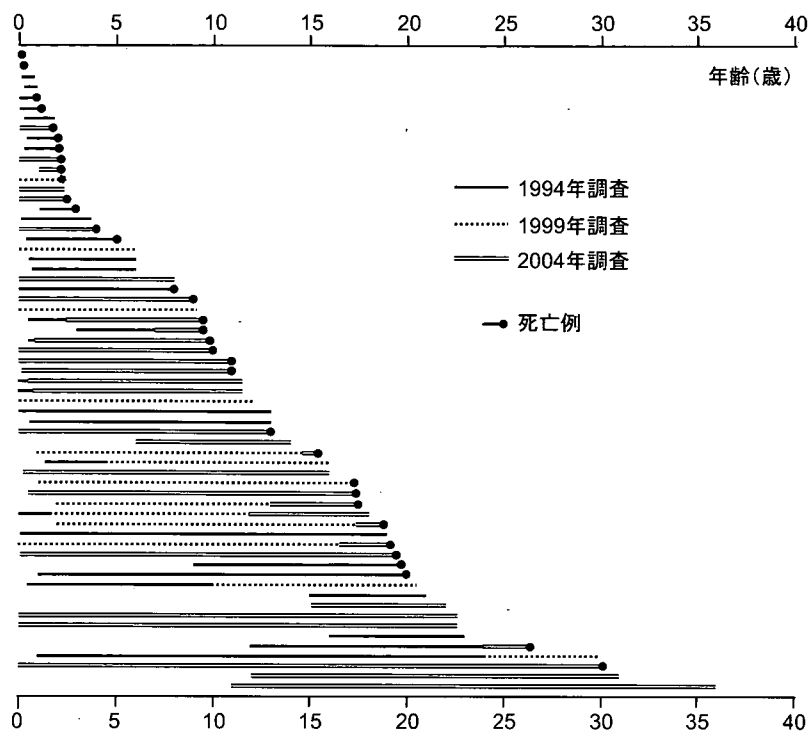


図1 わが国の腭嚢胞線維症の発症年齢と観察期間

表1 「腭嚢胞線維症の診療の手引き」の構成(案)

1. 腭嚢胞線維症とは
2. 腭嚢胞線維症の疫学(第2回, 3回全国疫学調査から)
3. 腭嚢胞線維症の病態生理(CFTRとは?)
4. 日本人のCFTR遺伝子変異
5. 腭嚢胞線維症の診断基準
6. 腭嚢胞線維症の診断
 - (1)汗中クロール濃度の異常(ピロカルピンイオン導入法, 指先クロライド試験)
 - (2)腭外分泌機能不全
 - (3)呼吸器症状
 - (4)遺伝子診断
 - (5)その他(メコニウムイレウス, 細菌学的特徴)
 - (6)主治医からのアドバイス
7. 腭嚢胞線維症の重症度(stage)分類
8. 腭嚢胞線維症の自然経過
9. 非定型的CF(慢性腭炎, び慢性汎細気管支炎, 先天性両側性輸精管形成不全)
10. 腭嚢胞線維症の治療法
 - (1)概要(第3回全国疫学調査から)
 - (2)メコニウムイレウス
 - (3)肺感染症の治療, 在宅酸素療法, 肺理学療法
 - (4)腭外分泌不全の治療(消化器, 栄養管理)
 - (5)特殊療法(未承認薬を含む)
 - (6)主治医からのアドバイス
11. まとめ(難治性腭疾患の中の腭嚢胞線維症)
12. 患者さんへの説明, 遺伝子カウンセリング
13. 有用な情報
 - (1)難病ホームページ
 - (2)CFの会
 - (3)海外の情報(CF foundationなど)

C. 結果

(1) 図1に、当研究班が行った3回(1994年, 1999年, 2004年)の全国疫学調査で集計された計63症例の発症年齢と観察期間をプロットした。1994年の調査では20%以上の症例が5歳未満で死亡していたが、1999年と2004年の調査では経過の長い患者が増加している。

(2)「腭嚢胞線維症の診療の手引き」の構成(案)を作成した(表1)。

D. 考察

CFの重症例では、生直後からメコニウムイレウスや重篤な気道感染症を起こし、多くは乳幼児期に死亡する。近年、呼吸管理や栄養管理がめざましく進歩し、また、腭外分泌機能不全を伴わない非定型例(軽症～中等症)が診断されるようになってきたことから、生存期間が延長してきている。図1に示すように、わが国においても、1994年の調査時と比較して、1999年と2004年の調査では経過の長い患者が増加している。

わが国ではCFの病態の長期経過に関する報告は全くなく、欧米の教科書を参考に診療が進められてきた。今回の(第3回)全国疫学調査で回収された個人調査票の解析を行い、日本人のCF患者の病状の経過と治療の実態をまとめることができた。長期経過としては、繰り返す呼吸器感染により呼吸不全が進行し、同時に栄養状態が悪化し、入院治療を必要とする期間が徐々に長くなり、15～20歳で死亡する症例が、わが国の典型的CFであった。CFの頻度は、白人と日本人で大きく異なり(1人/2,500人に対して1人/1,870,000人)、原因遺伝子変異のスペクトルも全く異なる⁵⁾が、両者の病態は類似していた。米国では、Cystic Fibrosis Foundationが、臨床医、研究者だけでなく、CF患者とその家族に対して、豊富な情報を提供している。当研究班としては、この全国調査の貴重な解析結果を診療に生かさなければならない。現在、当研究班による解析結果、海外の情報、わが国でCF患者を診療した経験のある医師のアドバイスなどを取り入れ、「腭嚢胞線維症の診療の手引き」を作成中である。

E. 結論

当研究班が行った3回(1994年, 1999年, 2004年)の全国疫学調査で集計された計63症例の発症年齢と観察期間を解析した。生存期間が延長してきており、呼吸管理や栄養管理の進歩、および非定型例(軽症～中等症)が診断されるようになってきたことが理由と考えられる。今回の全国疫学調査の成果を診療に反映させるため、「腭嚢胞線維症の診療の手引き」を作成している。

F. 参考文献

1. 成瀬 達, 石黒 洋, 玉腰暁子, 吉村邦彦, 大槻 眞. 第3回腭嚢胞線維症全国疫学調査の集計結果について 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「難治性腭疾患に関する調査研究班」平成17年度総括・分担研究報告書 2006; 123-130.
2. 成瀬 達, 石黒 洋, 玉腰暁子, 吉村邦彦, 広田昌彦, 大槻 眞. 第3回腭嚢胞線維症全国疫学調査(個人調査票の解析) 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「難治性腭疾患に関する調査研究班」平成18年度総括・分担研究報告書 2007; 139-151.
3. 田代征記, 佐々木賢二. 本邦における腭嚢胞性線維症(Cystic fibrosis)の遺伝子診断, N1303Kの変異解析 厚生省特定疾患難治性腭疾患調査研究班平成6年度研究報告書 1994; 20-23.
4. 玉腰暁子, 林 櫻松, 大野良之, 小川道雄, 広田昌彦, 衛藤義勝, 山城雄一郎. 腭嚢胞線維症全国疫学調査成績 厚生省特定疾患対策研究事業「難治性腭疾患に関する調査研究班」平成12年度研究報告書 2001; 92-95.
5. 吉村邦彦. 日本人におけるcystic fibrosisの実態とそのCFTR遺伝子変異. Therapeutic Research 2005; 26: 1467-1475.

G. 研究発表

- | | |
|---------|------|
| 1. 論文発表 | 該当なし |
| 2. 学会発表 | 該当なし |

H. 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

Ⅱ．各個研究

1. 急性腭炎

メシル酸ナファモスタットは膵腺房細胞内外の トリプシン活性を抑制し自己消化反応を防ぐ

研究報告者 広田昌彦 熊本大学大学院消化器外科学 准教授

共同研究者

橋本大輔, 大村谷昌樹, 陶山浩一, 尾崎宣之, 井田 智, 馬場秀夫 (熊本大学大学院消化器外科学)

【研究要旨】

急性膵炎とは、トリプシノーゲンの活性化(トリプシン生成)を引き金として、組織が膵消化酵素により自己消化を受ける疾病である。したがって、急性膵炎の治療において、トリプシン活性の制御が重要である。本研究では、マウス遊離膵腺房細胞を用いて、セルレインで刺激した際に出現する膵腺房細胞内トリプシン活性と細胞障害に対するトリプシンインヒビターの効果を解析した。合成低分子トリプシンインヒビターであるメシル酸ナファモスタットは、膵腺房細胞内トリプシン活性を阻害し、細胞障害を抑制した。本効果はアプロチニンの投与では認められなかった。メシル酸ナファモスタットの細胞内トリプシン活性阻害効果および細胞保護効果は、トリプシン活性が誘導された後の投与(後投与)においても認められた。細胞内トリプシン活性を50%阻害するメシル酸ナファモスタットの培地中濃度は $3.0 \times 10^{-7} \text{M}$ であった。

A. 研究目的

急性膵炎とは、トリプシノーゲンの活性化(トリプシン生成)を引き金として、組織が膵消化酵素により自己消化を受ける疾病である。したがって、急性膵炎の治療において、トリプシン活性の制御が、“少なくとも理論的には”重要である。消化酵素の活性化は、膵管内や間質といった“腺房細胞外”でも生じるが、最近では、急性膵炎におけるトリプシノーゲンの活性化は“腺房細胞内”が主体であると考えられてきている。

合成低分子トリプシンインヒビターであるメシル酸ナファモスタット(nafamostat mesilate: NM)は急性膵炎の治療において重症な治療薬の1つである。経静脈的、経動脈的に投与されているが、NMが腺房細胞内のトリプシン活性を制御しうるのかどうかについての検討は行われてはいない。低分子であり細胞内への移行が十分期待される。一方、牛から抽出した高分子のトリプシンインヒビターであるアプロチニンは、最近ではアレルギー反応などの面から使用されることは稀になってきているが、細胞内へは移行しないことが確認されている¹⁾。

本研究では、トリプシンインヒビターがマウス遊離膵腺房細胞内のトリプシン活性を制御しうるかどうかを、NMとアプロチニンを用いて検討した。

B. 研究方法

生後0.5日目のC57BL/6Jマウスから膵臓を摘出し、コラゲナーゼ消化法により膵腺房細胞を単離した。細胞内トリプシン活性は、合成トリプシン基質である(CBZlle-Pro-Arg)²-rhodamine 110を用いたrhodamine蛍光検出法により行った²⁾。

膵腺房細胞をコレシストキニンアナログであるセルレインで刺激すると膵腺房細胞内にトリプシンが生成する。このトリプシン活性を、トリプシンインヒビター (NM, アプロチニン)が抑制しうるかどうか、およびその際の膵腺房細胞のviabilityはどうか、を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究における実験動物の取り扱いに関しては、National Institute of Health (NIH) animal care guidelinesに則って行った。

C. 研究結果

1. トリプシンインヒビターの前投与による解析

膵腺房細胞をセルレインで刺激すると細胞内にトリプシン活性が出現する。この際、アプロチニンを前もって培地中に添加しておいても、細胞内トリプシン活性の出現は抑制されなかったが、NMの投与の場合には濃度依存性に細胞内トリプシン活性の出現は抑制された。50%の膵腺房細胞内トリプシン活性を抑制するNMの濃度は $1 \times 10^{-7} \text{M}$ あった。また、その際の細胞のviabilityの障害は、NMの投与により有意に抑制された。

2. トリプシンインヒビターの後投与による解析

実際の急性膵炎の状況に対応させて、セルレインで膵腺房細胞を刺激してトリプシン活性を誘導した30分後にトリプシンインヒビターを投与した。本実験の場合も、前投与の場合と同様に、細胞内トリプシン活性は、アプロチニンでは抑制できなかったが、NMの投与では濃度依存性に抑制された。前投与の場合に比べると抑制効果は若干低下していた。また、膵腺房細胞のviabilityの障害についても、NMの投与により抑制された。

D. 考察

本研究により、NMが、膵腺房細胞内のトリプシン活性を抑制し、細胞の自己消化反応を抑制することを確認した。本効果はアプロチニンの投与では認められなかった。

NMの、細胞内トリプシン活性抑制効果および細胞保護効果は、トリプシン活性が誘導された後の投与(後投与)においても認められたが、その効果は前投与に比べると若干弱かった。したがって、NMの投与は急性膵炎発症後、可及的早期に開始する必要があるといえる。

膵炎治療量、およびDIC治療量のNMを経静脈的に投与すると、最高血中濃度はそれぞれ $3.0 \times 10^{-8} \text{M}$ 、および $2.4 \times 10^{-7} \text{M}$ に達する³⁾。細胞内トリプシン活性を50%阻害するNMの培地中濃度は本研究の結果から $3.0 \times 10^{-7} \text{M}$ であるので、膵炎治療量では全く効果は期待できないし、DIC治療量でも経静脈投与ではおそらく十分な

効果は期待できないと考えられる。一方、経動脈投与では経静脈投与の場合の10倍以上の膵組織中濃度が期待されるため(メシル酸ガベキサートの場合は32倍)^{4,5)}、本邦で行われている動注療法であれば、NMが膵腺房細胞内のトリプシン活性を阻害し、自己消化反応を抑制する効果が十分に期待される。本研究結果は動注療法の理論的根拠を示すものと考えられる。

E. 結論

NMは、膵腺房細胞外のトリプシン活性に加え、膵腺房細胞内のトリプシン活性をも阻害し、膵腺房細胞の自己消化反応を抑制する。

F. 参考文献

1. Belorgey D, Dirrig S, Amouric M, Figarella C, Bieth J. Inhibition of human pancreatic proteinases by mucus proteinase inhibitor, eglin c and aprotinin. *Biochem J* 1996; 313: 555-560.
2. Ohmuraya M, Hirota M, Araki M, Baba H, Yamamura K. Enhanced trypsin activity in pancreatic acinar cells deficient for serine protease inhibitor. *Pancreas* 2006; 33: 104-106.
3. 広田昌彦, 藤村美憲, 木村 有, 市原敦史, 馬場秀夫. 急性膵炎におけるプロテアーゼインヒビターとプロテアーゼレセプター. *Surgery Frontier* 2006; 13: 445-453.
4. Mikami Y, Takeda K, Matsuda K, et al. Rat experimental model of continuous regional arterial infusion of protease inhibitor and its effects on severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30: 248-253.
5. Satoh H, Harada M, Tashiro S, Shiroya Y, Imawaka H, Machii K. The effect of continuous arterial infusion of gabexate mesilate (FOY-007) on experimental acute pancreatitis. *J Med Invest* 2004; 51: 186-193.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fujimura Y, Hirota M, Ichihara A, Takamori H, Baba H. Platelet count as a sensitive and convenient parameter for assessing the prognosis in

acute pancreatitis. *Pancreas* (in press).

- 2) 大村谷昌樹, 広田昌彦, 橋本大輔, 馬場秀夫.
遺伝子改変マウスを用いた膵炎の発症機構
の解析. *膵臓* 2008; 23: 20-24

2. 学会発表

- 1) 広田昌彦, 大村谷昌樹, 橋本大輔, 陶山浩一,
尾崎宣之, 市原敦史, 井田 智, 近本 亮,
高森啓史, 金光敬一郎, 馬場秀夫. 遺伝子
改変マウスを用いた膵炎の発症機構の解析.
第 38 回日本膵臓学会大会, 福岡市 2007 年 6
月 28-29 日

H. 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

重症急性膵炎モデルにおける 抗High Mobility Group Box Chromosomal Protein 1 (HMGB1) 抗体の効果

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

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

【研究要旨】

High Mobility Group Box Chromosomal Protein 1 (HMGB1)は、敗血症モデルの致死性に関係することが証明された蛋白であり、敗血症時の多臓器不全発生の鍵となるメディエーターである可能性が考えられている。これまでにわれわれは重症急性膵炎臨床例において血清HMGB1値は有意に上昇しており、厚生労働省重症度スコアと有意な正の相関を認めること、ラット重症急性膵炎モデルにおいても血清HMGB1値は重症度と相関して上昇しており、各臓器においてHMGB1蛋白は発現が増強していることを報告した。

本研究では重症急性モデルにおいて抗HMGB1中和抗体を用いて急性膵炎におけるHMGB1の関与とその抑制による効果を明らかにするために実験的検討を行った。マウス急性膵炎モデルに比べ抗HMGB1抗体を投与したマウス急性膵炎モデルでは血清アミラーゼ、ALT、Cr値の有意な低下、膵組織における浮腫、出血、炎症細胞浸潤、壊死の軽減、肺組織における浮腫、出血、炎症細胞浸潤、肺胞壁の肥厚の軽減を認めた。一方で実験モデル作製12時間後における膵組織の細菌培養陽性率は、急性膵炎モデルに比べてHMGB1を投与したマウス急性膵炎モデルで有意に増加していた。

抗HMGB1抗体の投与は急性膵炎の進展と遠隔臓器障害を抑制しており、HMGB1は重症急性膵炎の炎症反応や臓器障害そして感染の成立における重要な情報伝達物質であることが示唆された。

A. 研究目的

重症急性膵炎における主な死因は、発症早期の炎症・循環不全に起因する多臓器不全と後期の感染性合併症(感染性膵壊死および敗血症とそれに伴う多臓器不全)であり、救命率改善の大きな障害となっている。一方、High Mobility Group Box Chromosomal Protein 1 (以下、HMGB1)は30年以上前に同定された核内蛋白であり、もともと転写調節因子とされていた¹⁾。1999年Wangらがマウス敗血症モデルにおいてLPS投与8～32時間後にマクロファージから遊離されて血中のHMGB1濃度が上昇し、LPS投与後に抗HMGB1中和抗体を投与すると生存率の改善が得られることを報告した²⁾。HMGB1は細胞障害性を示すことから敗血症時の多臓器不全発生の鍵となるメディエーターである可能性が高いと考えられており、近年では出血性ショック³⁾、急性肺障害⁴⁾、DIC⁵⁾、慢性関節リウマチ⁵⁾

などの疾患においても上昇することが報告されている。

われわれはこれまでにラット重症急性膵炎モデルにおいて血清HMGB1が上昇しており、重症度と相関していることを報告した⁷⁾。さらに重症急性膵炎臨床例においても血清HMGB1値が上昇しており、厚生労働省重症度スコアと有意な正の相関を認めた。本研究では重症急性モデルにおいて抗HMGB1中和抗体を用いて急性膵炎におけるHMGB1の関与とその抑制による効果を明らかにするために実験的検討を行った。

B. 研究方法

1. 動物：C3H/HeN系雌性マウス(体重20～22g, 9週齢)
2. 実験動物を全身麻酔下に以下の群に分類して実験を行った。

(1) Sham群：単開腹時に生食(0.2ml)を腹腔

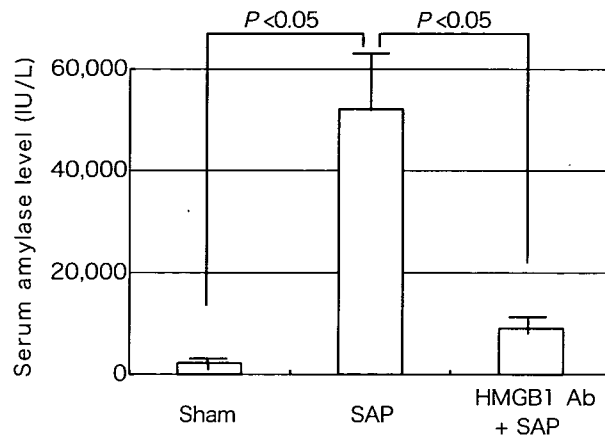


図1 血清アミラーゼ値

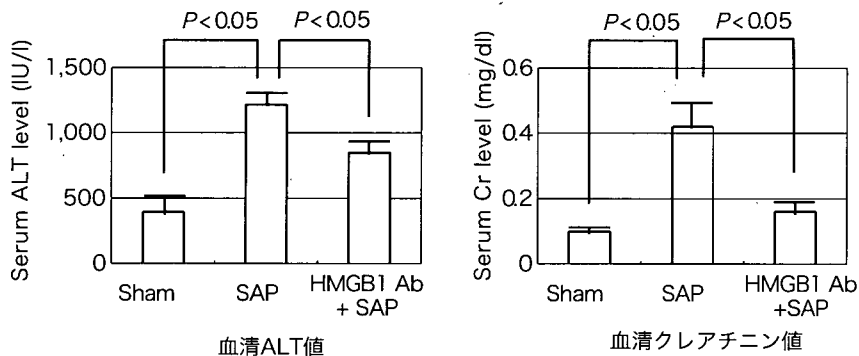


図2 血清ALT値とクレアチニン値

内投与した。

(2) SAP群：生食(0.2ml)を腹腔内投与した後に胆膵管開口部の各々1cm口側，肛門側で十二指腸を結紮してclosed duodenal loopによる急性壊死性膵炎を作製した。

(3) HMGB1 Ab+SAP群：抗HMGB-1抗体(200 μ g, 0.2ml)を腹腔内投与した後にclosed duodenal loopによる急性壊死性膵炎を作製した。

3. 検討項目

モデル作製0, 4, 8, 12時間後に犠牲死させ以下の検討を行った。

(1) 膵炎作成12時間後の血清アミラーゼ，AST，ALT，LDH，BUN，Crを測定し，臓器障害を検討した。

(2) 膵炎作成12時間後の膵組織障害をHE染色で検討した。

(3) 膵炎作成12時間後の肺組織障害をHE染色で検討した。

(4) 膵炎作成0, 4, 8, 12時間後の膵組織を細菌培養し，膵への感染を検討した。

(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) Sham群に比べSAP群で血清アミラーゼ，AST，ALT，LDH，BUN，Cr値の有意な上昇がみられた。HMGB-1 Ab+SAP群群ではSAP群と比べ血清アミラーゼ，ALT，Cr値の有意な低下がみられた(図1, 2)。

血清AST，LDH，BUN値は抗HMGB1抗体の投与で変化を認めなかった。

(2) SAP群では膵組織に浮腫，出血，炎症細胞浸潤，壊死が認められた。抗HMGB1抗体の投与により組織学所見の軽減が認められた(図3)。

(3) SAP群では肺組織に浮腫，出血，炎症細胞浸潤，肺胞壁の肥厚が認められた。抗HMGB1抗体の投与により組織学所見の軽減が認められた(図4)。

(4) Sham群ならびに膵炎作成0, 4, 8時間後のSAP群では膵組織の細菌培養は陰性であった。膵炎作成12時間後のSAP群では55% (11/20)に

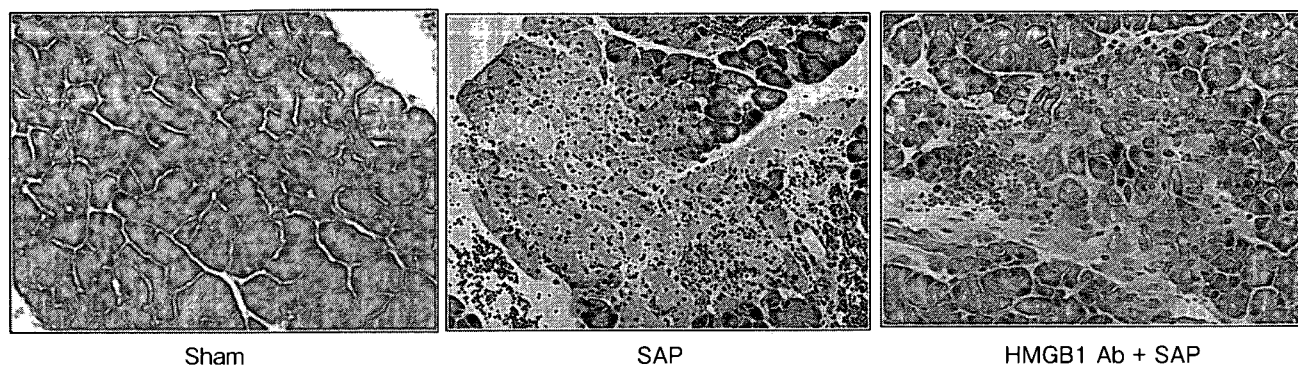


図3 脾組織像

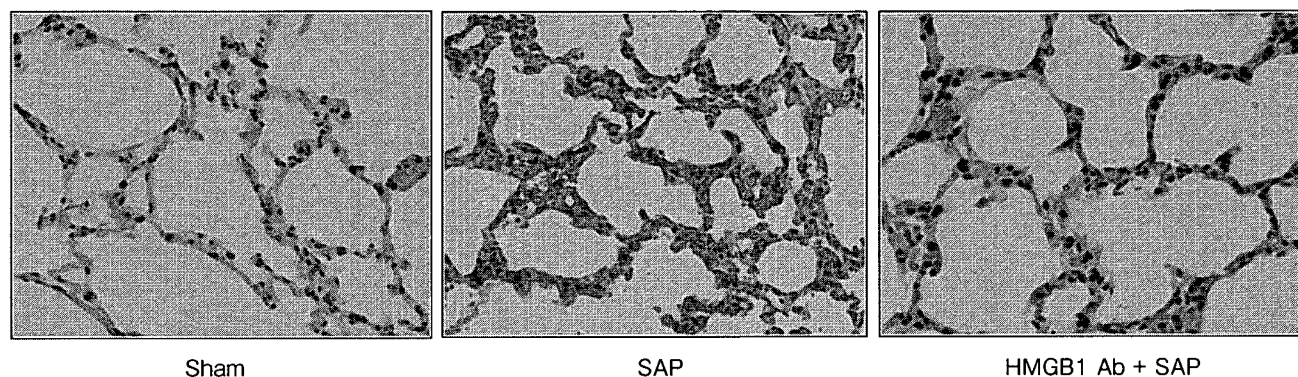


図4 肺組織像

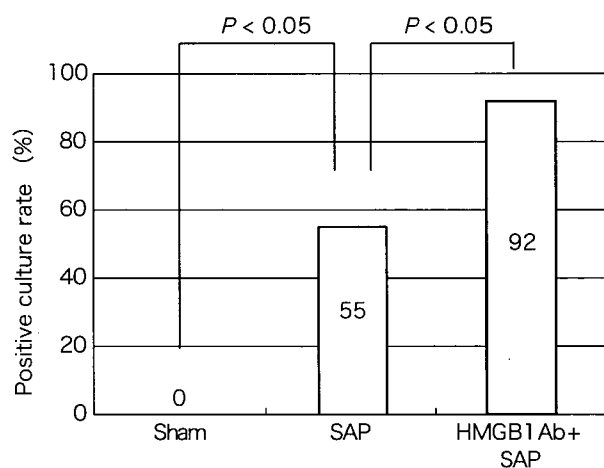


図5 脾組織の細菌培養

細菌培養が陽性であった。脾炎作成12時間後のHMGB1 Ab+SAP群では細菌培養の陽性率が92% (12/13)と有意に増加していた(図5)。

D. 考察

われわれはこれまでに重症急性脾炎症例および実験脾炎モデルで血清HMGB1値が増加しており、重症度と正の相関を認めることを報告した。敗血症モデルや虚血再灌流モデルにおいて抗HMGB1中和抗体の投与による遠隔臓器障害

や生存率の改善が報告されているが、本研究によって重症急性脾炎においても抗HMGB1抗体の投与による病態の進展ならびに遠隔臓器障害の抑制効果が示された。これはHMGB1が急性脾炎の局所での反応のみならず、遠隔臓器障害の成立機構にも関与していることを示唆する。

HMGB1は活性化マクロファージ、壊死細胞から放出され、細胞外で作用する場合は炎症性サイトカインとして働くと考えられており^{8,9)}、血清HMGB1値の上昇には二つの機構が推測される。第一は、HMGB1が炎症性メディエーターに反応してマクロファージ／単球によって産生・放出されるというものである。重症急性脾炎では過剰に活性化したマクロファージ／単球から放出される液性因子により遠隔臓器障害が惹起されるので、活性化マクロファージ／単球から放出されたHMGB1が細胞障害や臓器障害に関与する可能性が考えられる。第二は、HMGB1が重症急性脾炎時の障害された脾臓や他の障害臓器から放出されるというものである。最近の研究において、熱傷時の肝・肺でのHMGB1 mRNAの増加、急性肺障害時の肺組織でのHMGB1蛋白の増加、肝虚血再灌流時の肝での