

自己免疫性膵炎病変の病理学的検討／検証

研究報告者 須田耕一 東京西徳洲会病院病理科 顧問

共同研究者

高瀬 優，福村由紀，阿部 寛，柿沼千早（順天堂大学人体病理病態学）

【研究要旨】

自己免疫性膵炎(AIP)はlymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis (LPSP)とも呼称されるリンパ球・形質細胞浸潤と線維化を特徴とし，加えて閉塞性静脈炎とIgG4陽性形質細胞が重視されている．さらに好中球を含む顆粒球浸潤，特にidiopathic duct-centric chronic pancreatitis (IDCP)の取り扱いが問題になっている．そこで，本研究の目的は，これらの検討，いわばAIP病変／病態の病理学的検討／検証である．今回検討したAIP 7例はLPSPが6例(男5例，女1例，59～68歳)，IDCPが1例(28歳，男)であった．IDCP例は小葉内・小葉間線維化と小葉の萎縮がみられ，かつ好中球主体の細胞浸潤が膵管内外と小葉内により多く分布し，NotoharaらのIDCPに，またZamboniらのgranulocyte epithelial lesion (GEL)にはほぼ相当している．しかし，本例では線維化が閉塞性膵炎像を示すもののリンパ球・形質細胞浸潤が軽度でIgG4陽性形質細胞を認めず，閉塞性静脈炎もごくわずかで本邦のAIPとは異なった疾患／病態と考えられる．AIPの閉塞性静脈炎を慢性アルコール性膵炎(CAP)の静脈病変と比較すると，前者は炎症性細胞浸潤と線維化が血管に波及した状態であるのに対し，後者は慢性炎症／線維化が脾静脈壁に到達・圧迫した血流異常により血栓形成に至っていた．両膵炎の静脈炎／静脈病変の違いは明確ではないが血管壁に及ぼす炎症／線維化の性状や時間的経過等によると考えられた．AIPで重視されているIgG4陽性形質細胞について諸臓器の潰瘍／肉芽組織／腫瘤性病態である歯根嚢胞，仙尾部皮膚毛巣洞炎，胃潰瘍，および歯肉限局性非腫瘍性腫瘤(エプーリス)を計18例で検討すると，大部分の症例でIgG4陽性形質細胞を肉芽組織層に多数認めている．このことより，IgG4陽性形質細胞はAIPに必ずしも特異的なものではなく炎症の修復過程に出現するものと考えられた．

A. 研究目的

自己免疫性膵炎(AIP)はlymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis (LPSP)とも呼称されるようにリンパ球・形質細胞浸潤と線維化を特徴とする¹⁾．これに加えて閉塞性静脈炎とIgG4陽性形質細胞が重要視されている．さらに本症の疾患概念／診断で好中球を含む顆粒球浸潤例，特にidiopathic duct-centric chronic pancreatitis (IDCP)²⁾の取り扱いが問題になっている．

本研究の目的は，これらの検討，いわばAIP病変の病理学的検討／検証である．すなわち，AIPの組織像と炎症性細胞浸潤中の顆粒球の存在，およびAIPの特徴とされる閉塞性静脈炎とIgG4陽性形質細胞の意義である．

B. 研究方法

対象：順天堂医院および関連施設で得られた，AIP切除例7例(膵頭十二指腸切除術3例，膵体尾部切除術4例)，慢性アルコール性膵炎(CAP)切除例21例(膵頭十二指腸切除術4例，膵体尾部切除術17例)である．CAPは，その多くが20年以上にわたりエタノールに換算して1日100g以上を摂取している．AIPはいずれも切除後の病理学的検討によって診断された．

さらに，諸臓器の潰瘍／肉芽組織／腫瘤性病態を示す，歯根嚢胞10例，仙尾部皮膚毛巣洞炎2例，胃潰瘍1例，および歯肉限局性非腫瘍性腫瘤(エプーリス)5例の計18症例を検討した．

方法：切除検体はいずれもホルマリン固定後にパラフィン包埋し，4 μ mの薄片を作成し，H.E.染色とE.V.G.染色を行った．

表1 自己免疫性膵炎の病理組織像

症例	年齢	性	手術	組織型	線維化		炎症性細胞 浸潤	IgG4陽性 形質細胞	リンパ濾胞	リンパ節径 (mm)	小葉萎縮	閉塞性 静脈炎	胆管狭窄
					小葉内	小葉間							
1	59	男	DP	LPSP	+	+	P, L	2+	+	8	+	+	+*
2	62	男	DP	LPSP	+	+	P, L>>>E	(S)2+	(S)	4.5	+	+	—
3	61	女	PD	LPSP	+	+	P, L, E	2+	+	14	+	+	+
4	67	男	DP	LPSP	+	+	P, L	2+	+	9	+	+	—
5	68	男	PD	LPSP	+	+	P, L, E	1+	+	3**	+	+	+
6	61	男	PD	LPSP	+	+	P, L, E	2+	+	10	+	+	+
7	28	男	DP	IDCP	+	+	PN>>>P, L	—	(R)	4	+	(S)	—

DP, distal pancreatectomy; PD, pancreaticoduodenectomy; LPSP, lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis; IDCP, idiopathic duct-centric chronic pancreatitis; P, plasma cell; L, lymphocyte; E, eosinophil; N, neutrophil; (S), scatteredly identified; (R), rarely identified; >>>, 細胞数が4倍以上の異なる場合

*総胆管・肝内病変あり

**検体の一部のみを検索



図1 好酸球の浸潤を伴うLPSP
細胞浸潤の中に多数の好酸球が認められる。
H.E.染色, ×200

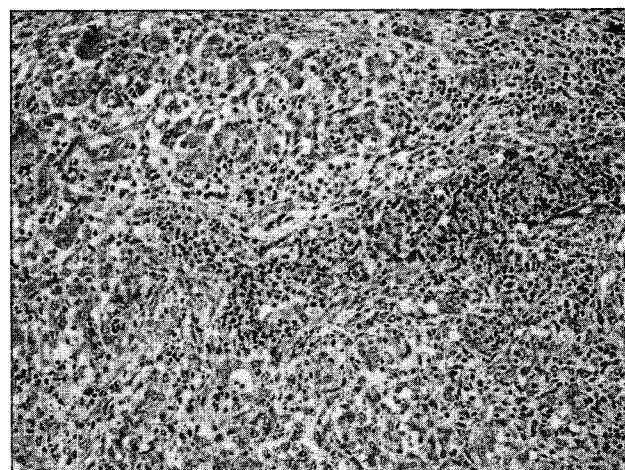


図2 IDCPの組織像
多数の好中球が膵管内腔・周囲に見られ、リンパ球・形質細胞は軽度である。
H.E.染色, ×200

形質細胞には免疫組織化学的にIgG4を染色した(抗IgG4抗体: The Biding Site; polyclonal, 500倍)。免疫染色の評価は, Kamisawaら⁴⁾に準じて, 高倍率で一視野あたりの陽性細胞数が, 0～9個を(-), 10～29個を(1+), 30～99個を(2+), および100個以上を(3+)とした。
(倫理面への配慮)

通常の染色で検討していること, および遺伝子・タンパクの検討を行っていないことから, 倫理上の問題はないと思われる。

C. 研究結果

1. AIPの組織像と顆粒球浸潤

AIP 7例はLPSPが6例(男5例, 女1例, 59～68歳), IDCPが1例(28歳, 男)であった(表1)。前者では全例に膵管狭窄／狭細化によると思わ

れる小葉内・小葉間線維化と小葉の萎縮が見られた。炎症性細胞浸潤はいずれもリンパ球・形質細胞からなり, 両者に2倍以上の差がなく, 3例の好酸球浸潤(+)例(図1)も同様であった。残り3例には好酸球浸潤が見られなかった。

好酸球浸潤(+)と(-)の各3例でAIP所見を比較すると, IgG4陽性形質細胞は好酸球浸潤(+)で1例が(1+)以外5例とも(2+)であった。リンパ濾胞は全例で認められたが, 好酸球浸潤(-)の1例で散在性であった。リンパ節は好酸球浸潤(+)で最大径が14, 10および3mm, (-)例で9, 8および4.5mmであった。閉塞性静脈炎は全例に認められた。すなわち, 好酸球浸潤の有無では差がなかった。

IDCPではLPSPと同様に小葉内・小葉間線維化と小葉の萎縮がみられ, 炎症性細胞浸潤は好

表2 慢性アルコール性肝炎と自己免疫性肝炎における静脈の組織学的所見(まとめ)

	慢性 アルコール性肝炎	自己免疫性肝炎
小静脈	著変なし	リンパ球・形質細胞主体 (閉塞性静脈炎) 線維化は少ない
太い静脈		
壁内の細胞浸潤	ほとんどない	あり(リンパ球・形質細胞)
静脈硬化(内膜の線維性肥厚)	あり	あり
血栓	あり(器質化・再疎通)	なし

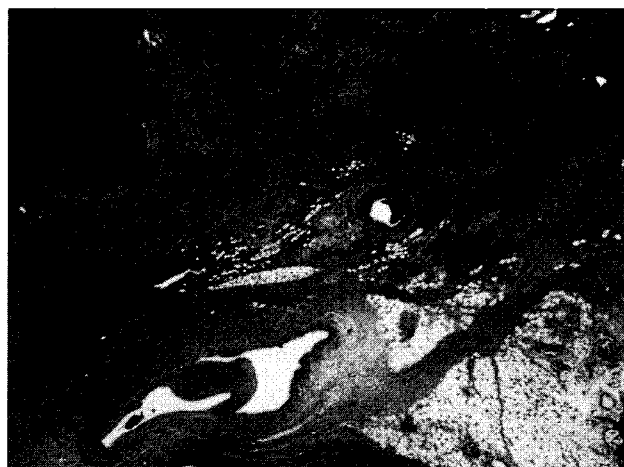


図3 慢性アルコール性肝炎の脾静脈
小葉間線維化が脾周囲に進展し脾静脈に再疎通を伴う器質化
血栓が認められる(矢印). H.E.染色, ×30

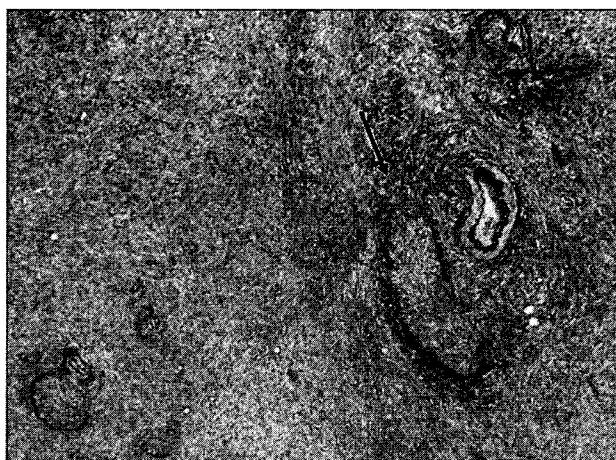


図4 自己免疫性肝炎の小静脈
炎症性細胞浸潤／線維化があたかも横断的に閉塞性静脈炎を
呈している(矢印). E.V.G.染色, ×40

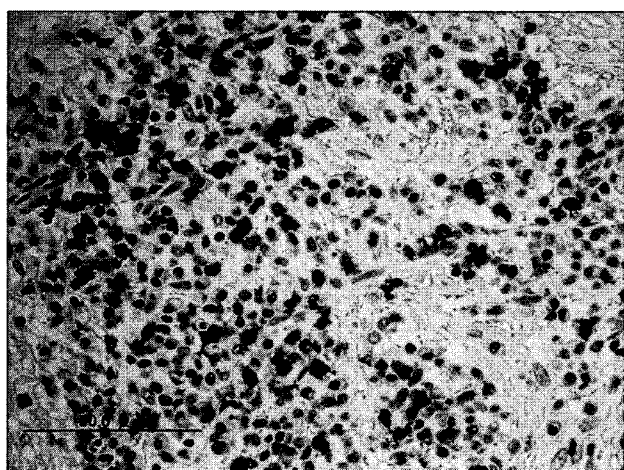


図5 エプーリス
IgG4陽性細胞が多数認められる.
IgG4に対する免疫染色, ×600

中球が圧倒的に多く、主として脾管内腔・周囲および小葉内に分布し線維化内には少なかった(図2)。リンパ球・形質細胞の浸潤は軽度で、IgG4陽性形質細胞は認められなかった。リンパ濾胞はごくわずかにみられ、リンパ節は径3mmであった。閉塞性静脈炎は形質細胞・リンパ球

の浸潤部に僅かに認められた。

2. 閉塞性静脈炎／静脈病変

CAPでは小静脈(ここでは血管平滑筋が少ないか、またはほとんど認められないものをいう)には著変を認めなかった(表2)。脾静脈には脾周囲に進展した小葉間線維化が17例中10例で及んでおり、血栓を9例に、内膜の線維性肥厚を1例に認めた(図3)。

AIPでは著しいリンパ球・形質細胞浸潤／線維化が小静脈を巻き込むようにして閉塞性静脈炎を惹起していた(図4)。脾静脈には壁内に細胞浸潤と内膜の線維性肥厚を認めた。

3. 諸臓器の潰瘍／肉芽組織／腫瘤性病態におけるIgG4陽性形質細胞

対象例全例(18例)でさまざまな程度に形質細胞浸潤を認めた。

歯根嚢胞は全10例とも肉芽組織層と線維性結合組織層からなり、前者に多数の形質細胞浸潤を認めた。肉芽組織層では膠原線維がごく軽度でAIPのようなstoriform patternはなかった。

IgG4免疫染色では4例を除いた6例が(2+)ないし(1+)で肉芽組織層に最も多くみられ、線維性結合組織層には少量であった。

毛巣洞炎の2例はいずれも毛包を有し、周囲が肉芽組織層と線維性結合組織層からなっていた。肉芽組織層には密な形質細胞浸潤に加え多彩な細胞が浸潤していた。IgG4免疫染色では2例とも肉芽組織層で(2+)、線維性結合組織層で(1+)の陽性形質細胞を認めた。

胃潰瘍底部では4層構造のうち肉芽層に密な形質細胞浸潤を認め、IgG4染色で(3+)であった。

歯肉限局性非腫瘍性腫瘍(エプーリス) 5症例中、1例を除いて大半が肉芽組織から形成され密な形質細胞浸潤を認めた。IgG4免疫染色では4例が(2+)ないし(1+)で1例が(-)であった。

D. 考察

自己免疫性膵炎(AIP)はlymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis (LPSP)とも呼称されるようにリンパ球・形質細胞浸潤と線維化を特徴とする。本症の疾患概念／診断で好中球を含む顆粒球浸潤例、特にidiopathic duct-centric chronic pancreatitis (IDCP)²⁾の取り扱いが問題になっている。

今回、IDCPと診断した症例7は小葉内・小葉間線維化と小葉に萎縮がみられ、すなわち閉塞性膵炎像を示し^{3~5)}、かつ好中球主体の細胞浸潤が膵管周囲・内腔と小葉内により多く分布し、Notoharaら²⁾の分類したIDCPに、またZamboniら⁶⁾のgranulocyte epithelial lesion (GEL)にほぼ相当している。Zahngら⁷⁾はIDCPに軽度ないし中等度のIgG4陽性形質細胞を認めたことよりAIPに含めている。しかし、本例では線維化を認めるもののリンパ球・形質細胞浸潤が軽度でありIgG4陽性形質細胞を認めず、またリンパ濾胞の形成・リンパ節腫大に乏しく、さらに閉塞性静脈炎がごくわずかであった。したがって、これらはAIPの病理所見に必ずしも合致していない。以上より、IDCP、少なくとも自験例については本邦のAIPとは異なった疾患／病態であると考えられる。一方、好酸球浸潤については、その有無によってLPSPに病態／組織像の違いはみられなかった。

AIPの特徴とされる閉塞性静脈炎についてCAPの静脈病変と比較すると、前者は炎症性細胞浸潤と線維化が血管を巻き込むように、あるいは横断的に波及していた^{5,8)}のに対し、後者は慢性炎症／線維化が脾静脈壁に到達し／圧迫し、そのため血流異常が起こり血栓を形成した⁹⁾。これは、慢性膵炎像である小葉間線維化が小葉内線維化と異なり膵周囲組織に進展したからである¹⁰⁾。小静脈においても炎症／線維化自体は脾静脈の場合と同様であるが著変を認めなかった。AIPにおいても脾静脈に病変の波及がありCAPと同様に内膜の線維性肥厚がみられるも血栓は認められなかった。

以上よりAIPとCAPの静脈炎／静脈病変の違いは、単にAIPの検討例が少ないためか、あるいは明確ではないが両病変の血管壁に及ぼす炎症／線維化の性状や時間的経過等によると考えられた。

今回IgG4陽性形質細胞について検討した、歯根嚢胞、仙尾部皮膚毛巣洞炎、胃潰瘍、および歯肉限局性非腫瘍性腫瘍(エプーリス)では肉芽組織層と線維性結合組織層が2層性ないし混在して認められ、肉芽組織層で形質細胞の密な浸潤が認められた。われわれは先にIgG4が腫瘍形成性膵炎の肉芽組織層に発現することを報告したが¹¹⁾、今回の上記諸臓器における潰瘍／肉芽組織／腫瘍性病態においても同様に多数のIgG4陽性形質細胞が肉芽組織層に認められた。近年、IgG4陽性形質細胞は、免疫寛容／アレルギー反応抑制などの炎症性沈静化の過程に作用するregulatory T細胞に伴って出現するとされる¹²⁾。諸臓器における潰瘍／肉芽組織／腫瘍性病態とアレルギー／免疫過剰反応との関連は不明であるが、IgG4陽性形質細胞が線維性結合組織に接する肉芽組織層に多数認められたことは、炎症の修復過程／沈静化に関わっている可能性が考えられる。

E. 結論

AIPにおける顆粒球について、好酸球浸潤は本症の病態に関わりがなかったが、好中球浸潤例であるIDCPは異なった病態が想定された。閉塞性静脈炎はAIPに特徴的な所見である。IgG4陽

性形質細胞はAIPに特異的なものではなく、炎症の修復過程に出現する。

F. 参考文献

1. Kawaguchi K, Koike M, Tsuruta K, Okamoto A, Tabata I, Fujita N. Lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis with cholangitis: a variant of primary sclerosing cholangitis extensively involving pancreas. *Hum Pathol* 1991; 22: 387–395.
2. Notohara K, Burgart L J, Yadav D, Chari S, Smyrk TC. Idiopathic chronic pancreatitis with periductal lymphoplasmacytic infiltration: clinicopathologic features of 35 cases. *Am J Surg Pathol* 2003; 27:1119–1127.
3. Suda K, Mogaki M, Oyama T, Matsumoto Y. Histopathologic and immunohistochemical studies on alcoholic pancreatitis and chronic obstructive pancreatitis: special emphasis on ductal obstruction and genesis of pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 271–276.
4. Suda K, Takase M, Takei K, Kumasaka T, Suzuki F. Histopathologic and immunohistochemical studies on mechanism of interlobular fibrosis of the pancreas. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 1302–1305.
5. Suda K, Takase M, Fukumura Y, Ogura K, Ueda A, Matsuda T, Suzuki F. Histopathologic characteristics of autoimmune pancreatitis based on comparison with chronic pancreatitis. *Pancreas*. 2005; 30: 355–358.
6. Zamboni G, Luttges J, Capelli P, Frulloni L, Cavallini G, Pederzoli P, Leins A, Longnecker D, Klöppel G. Histopathological features of diagnostic and clinical relevance in autoimmune pancreatitis: a study on 53 resection specimens and 9 biopsy specimens. *Virchow Arch* 2004; 445: 552–563.
7. Zahng L, Notohara K, Levy MJ, Chari ST, Smyrk TC. IgG4-positive plasma cell infiltration in the diagnosis of autoimmune pancreatitis. *Mod Pathol* 2007; 20: 23–28.
8. Kamisawa T, Funata N, Hayashi T, Tsuruta K, Okamoto A, Amemiya K, Egawa N, Nakajima H.

Close relationship between autoimmune pancreatitis and multifibrosclerosis. *Gut* 2003; 52: 683–687.

9. Takase M, Suda K, Suzuki F, Nakamura T, Futagawa S. A histologic study of localized portal hypertension as a consequence of chronic pancreatitis. *Arch Pathol Lab Med* 1997; 121: 612–614.
10. Suda K, Takase M, Takei K, Nakamura T, Akai J, Nakamura T. Histopathologic study of coexistent pathologic states in pancreatic fibrosis in patients with chronic alcohol abuse: two distinct pathologic fibrosis entities with different mechanisms. *Pancreas* 1996; 12: 369–372.
11. Takase M, Suda K, Nobukawa B, Fukumura Y, Suzuki F, Fujii H. Is IgG4-positive plasma cell specific in autoimmune pancreatitis? *Pancreas* (in press) .
12. Verhagen J, Blaser K, Akdis CA, Akdis M. Mechanism of allergen-specific immunotherapy: T-regulatory cells and more. *Immunol Allergy Clin North Am* 2006; 26: 207–231.

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

4. 脾囊胞線維症

膵嚢胞線維症における膵重炭酸イオン分泌障害機序の解析

研究報告者 石黒 洋 名古屋大学大学院健康栄養医学 准教授

共同研究者

成瀬 達（三好町民病院）

山本明子，中莖みゆき，近藤孝晴（名古屋大学大学院健康栄養医学）

洪 繁（名古屋大学大学院消化器内科学）

Andrew Stewart（Molecular and Vascular Medicine Unit and Renal Division, Harvard Medical School）

大槻 眞（産業医科大学消化器・代謝内科）

【研究要旨】

嚢胞線維症(CF; cystic fibrosis)では、膵導管細胞からの HCO_3^- と水の分泌が低下し、膵液が酸性化する。CFの原因遺伝子であるCFTRは、膵では導管細胞の管腔膜に発現し HCO_3^- 分泌に中心的な役割を果たしている。CFの動物モデル(ΔF マウス)から単離した小葉間膵管を用いて管腔膜の $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchanger (NHE)の調節機構を検討した。 ΔF マウスでは、管腔膜NHEの活性が大きくcAMPによってさらに増大することがわかった。CFの膵では、管腔膜NHEが膵液の酸性化に関与している可能性がある。モルモット単離膵管を用いて、細胞内アルカリ負荷後の、管腔膜を介する HCO_3^- effluxを解析した。 HCO_3^- 分泌は、管腔内 Cl^- に依存する部分と管腔内 Cl^- に依存しない部分に分けられた。後者は管腔内の H_2DIDS によって抑制されたので、SLC26A6によるものと推定された。モルモットCFTR遺伝子をクローニングし、siRNA法を用いて単離膵管のCFTR遺伝子ノックダウンを試みた。特異的double-stranded RNA添加培養36～48時間後には、基礎およびセクレチン刺激下の溶液分泌は約50%に減少した。

A. 研究目的

膵嚢胞線維症(CF; cystic fibrosis)は、CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)遺伝子変異を原因とする常染色体劣性遺伝性疾患である。CFTRは、cAMP依存性の Cl^- チャネルであり、最近同定されたSLC26ファミリー蛋白などいくつかのイオン輸送体と分子複合体を形成して、 HCO_3^- 輸送を担っている¹⁾。CFTRには、1,000種類以上の変異さらに多型がある。変異の組み合わせによって重症から軽症のCFが発症し、mildな変異や多型が組み合わさると慢性膵炎の発症リスクを高める²⁾。重症のCFでは、膵導管細胞からの HCO_3^- と水の分泌が著明に減少し、膵液が酸性化する³⁾。CFTR exon 10 ノックアウトマウスでも、セクレチン刺激後の十二指腸液(≒膵液)のpHが6.6と酸性に傾く⁴⁾。しかし、変異CFTRの Cl^- チャネル機能の低下と臨床的な重症度が一致しないなど、多くの解決すべ

き問題が残されている。特に、CFTRの変異あるいは多型が、 HCO_3^- 輸送分子複合体の機能に及ぼす影響の解析が待たれている。膵導管細胞の管腔膜を介する HCO_3^- 分泌は、CFTR、SLC26 Cl^- - HCO_3^- exchange、 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchangeによって調節されていると考えられている(図1)。

本研究では、①CFモデルマウス(ΔF マウス)の単離小葉間膵管を用いて、膵導管細胞管腔膜におけるCFTRと $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchangeの機能連関を解析することにより、CFにおける膵液のpH低下の機序を検討し、②モルモットの単離小葉間膵管を用いて、管腔膜の Cl^- - HCO_3^- exchange活性の生理学的特性、およびSLC26A3とSLC26A6のmRNA発現を検討し、③モルモットCFTR遺伝子の塩基配列を決定し、siRNA (small interfering RNA)法を用いて、CFTR遺伝子特異的な発現抑制を行うことにより、膵導管細胞の HCO_3^- 分泌におけるCFTRの役割を検討した。

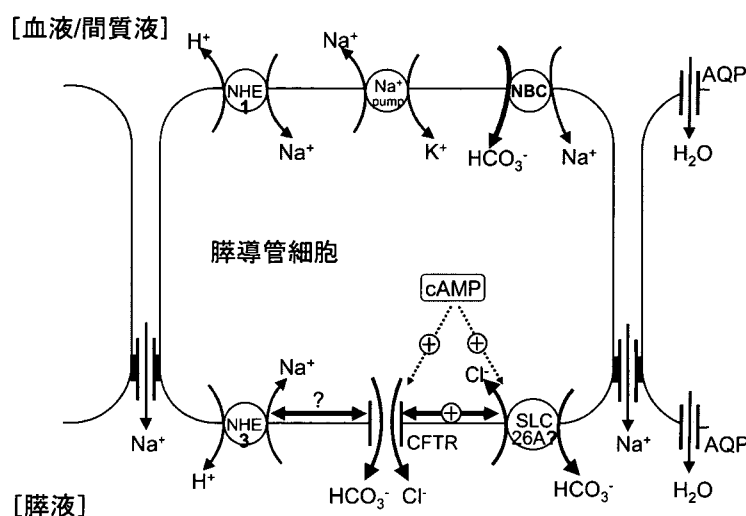


図1 膵導管細胞のHCO₃⁻輸送モデル

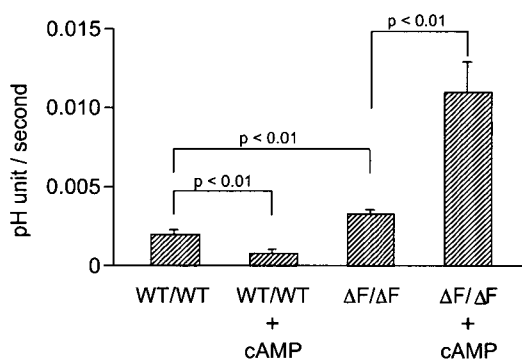


図2 管腔膜Na⁺-H⁺ exchange活性に対するcAMP刺激の効果 (嚢胞線維症マウスから単離した小葉間膵管)

B. 研究方法

1. ΔFマウス膵導管細胞管腔膜のNa⁺-H⁺ exchange活性の測定

単離膵管をHCO₃⁻-CO₂を含まないHepes緩衝液で(Na⁺-HCO₃⁻ cotransportとCl⁻-HCO₃⁻ exchangeの影響を除外するため) 37℃にて表層灌流し、管腔を別個に灌流(microperfusion)した。pH感受性蛍光色素であるBCECFを用いて細胞内pHを測定した。NH₄⁺パルスによる酸負荷後、管腔側にNa⁺を加えた時の細胞内pHの回復速度(dpH/dt)を測定し、管腔膜のNHE活性の指標とした。

2. モルモット膵導管細胞管腔膜のCl⁻-HCO₃⁻ exchange活性の測定、およびSLC26輸送体の発現の検討

単離膵管の表層をHCO₃⁻-CO₂緩衝液で、管腔内をHepes緩衝液で灌流し、細胞内pHを測定した。acetate pulseあるいは管腔灌流液のCl⁻除去により、膵導管細胞にアルカリ(HCO₃⁻)負荷した。

表層灌流液にH₂DIDSを加えて基底側膜を介するHCO₃⁻ effluxを阻害しておけば、細胞内の変化(低下)を測定することにより管腔膜を介するHCO₃⁻ efflux (HCO₃⁻分泌)を経時的に観察することができる。膵導管細胞におけるSLC26A6およびA3のmRNA発現については、ヒトとマウスに共通する配列からプライマーをデザインして、単離膵管のRT-PCRを行った。

3. モルモットCFTRの塩基配列の決定、およびsiRNA法によるCFTRノックダウンが膵導管細胞のHCO₃⁻分泌に及ぼす影響の解析

モルモットの小腸よりcDNAを作成し、ヒトとマウスのCFTR遺伝子の塩基配列の共通部分よりPCR primerセットを作成した。PCRにより得られた断片をダイレクトシーケンスすることにより、モルモットCFTRの塩基配列を決定した。モルモットCFTRに特異的な二本鎖siRNAを作成し、単離膵管を、siRNAを含む培養液で36～48時間培養した。培養後両端が閉じた単離膵管を、HCO₃⁻-CO₂緩衝液で表層灌流し、ビデオ顕微鏡システムを用いて、管腔容積の変化から溶液分泌速度を算出した。コントロール群としては実験群で使用したsiRNAの配列を入れ替え、既知の遺伝子塩基配列と相同性のないscrambled RNAを使用した。

(倫理面への配慮)

動物実験は名古屋大学医学部動物実験委員会の承認を受けて行った。ΔFマウスを用いた研究については、名古屋大学医学部組換えDNA安

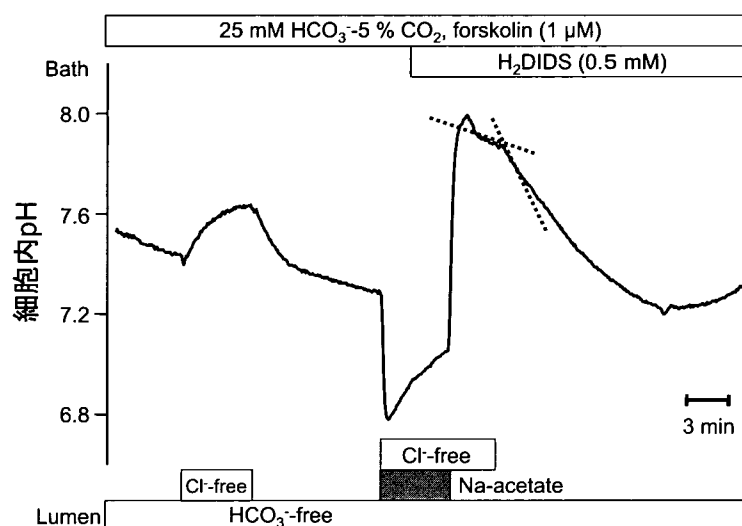


図3 管腔膜を介するHCO₃⁻分泌のCl⁻依存性(モルモット単離小葉間腺管)

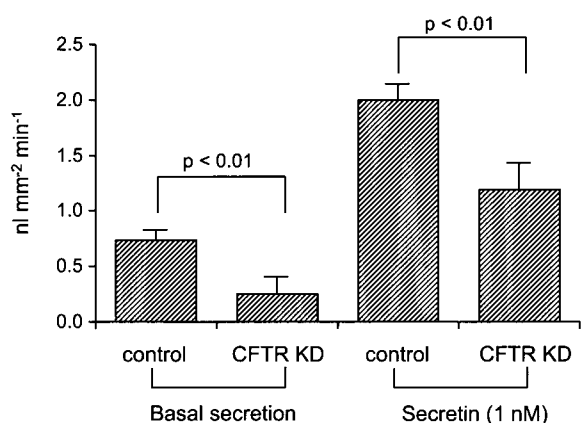


図4 溶液分泌に対するCFTRノックダウン(KD)の影響(モルモット単離小葉間腺管)

全委員会による承認を得て行った。

C. 研究結果

① wild type マウス(WT/WT)の腺導管細胞管腔膜NHE活性は、NHE阻害剤であるHOE642 (100 μM)によりほぼ完全に抑制された。adenylate cyclaseを刺激するforskolin (1 μM)を加えると、管腔膜NHE活性は有意に($p < 0.01$)抑制された。ΔFマウス(ΔF/ΔF)の腺導管細胞管腔膜NHE活性は、WT/WTに比べて有意に($p < 0.01$)高く、cAMP刺激によりさらに増大した(図2)。

② モルモット単離腺管を用いて、cAMP刺激下で、アルカリ(HCO₃⁻)負荷後の管腔膜を介するHCO₃⁻ effluxのCl⁻依存性を検討した(図3)。HCO₃⁻ efflux機構は、管腔内Cl⁻に依存する部分と管腔内Cl⁻に依存しない部分に分けることが

できた。前者はCFTRのanion conductance, 後者はSLC26ファミリー輸送体によるCl⁻-HCO₃⁻ exchangeと推定される。管腔内Cl⁻に依存する部分は、管腔内にH₂DIDS (0.2 mM)を加えることにより強く抑制されたので、管腔膜の主要なCl⁻-HCO₃⁻ exchangerはSLC26A6と推定された。単離腺管におけるSLC26A6とSLC26A3のmRNA発現が確認された。

③ 遺伝子構造より推定されるモルモットのCFTRは、ヒトのCFTRの403番目と404番目の間にグルタミン酸残基(Q)の挿入があり、ヒトより1アミノ酸残基多い1,481アミノ酸残基よりなっていた。相同性は、ヒトとは90.7%, マウスとは82.0%, ラットとは80.2%であった。CFTR遺伝子特異的なdsRNAで遺伝子のノックダウンを行うと、単離腺管管腔内への基礎分泌およびセクレチン(1 nM)刺激下の溶液分泌は有意に減少した($p < 0.01$) (図4)。

D. 考察

細胞外のNa⁺と交換で細胞内のH⁺を排出するNa⁺-H⁺ exchanger (NHE)は、SLC9ファミリーに属し、9つのisoformがある。NHE1は多くの臓器に発現しており、細胞内pHが酸性に傾いた時に活性化され細胞内pHを一定に保つ役割を果たしている。NHE3は、上皮膜細胞の管腔膜に局在し、近位尿細管や消化管粘膜において、H⁺の分泌(HCO₃⁻の吸収)を担っている。腺導管細胞管腔膜にNHE3が発現していると報告されているが、その生理的役割は不明であった。本研究では、

CFモデル動物である ΔF マウス(欧米人のCFTR遺伝子変異の70%を占める $\Delta F508$ 変異を導入したマウス)を用いて、腭導管細胞におけるCFTRとNHEの機能連関を解析した。 ΔF マウスから単離した小葉間腭管では、管腔膜NHEの活性が大きく、cAMP刺激によってその活性がさらに増大することがわかった。腭導管細胞においては、通常は正常CFTRが管腔膜のNHEを抑制しているが、CFでは、CFTRによる抑制が解除された管腔膜 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchangerが H^+ を腭液中に分泌することにより、腭液を酸性化している可能性がある。

ヒト、モルモットなどの腭導管細胞の管腔膜は、実に6倍以上の濃度勾配に逆らって HCO_3^- を管腔内へ輸送する。本研究では、モルモット腭管上皮管腔膜の HCO_3^- 輸送機構を解析した。腭液中の HCO_3^- は、腺房に近い細い腭管(介在部～小葉内～小葉間腭管の細い部分)から主に分泌されると考えられており、免疫組織学的検討により、この部位の腭管の管腔膜にCFTRとSLC26A6が存在すると報告されている⁵⁾。従来から、腭導管細胞の管腔膜の Cl^- - HCO_3^- exchange活性は機能的なCFTRの存在下でのみcAMPによって刺激されることが報告されていた⁶⁾が、分子は不明であった。最近、新たに同定されたSLC26陰イオン輸送体ファミリーのいくつかは、上皮膜組織(消化管、気道、腭管、尿細管)の管腔膜に発現し、 Cl^- - HCO_3^- 交換輸送体として機能することがわかってきた。腭導管細胞では、CFTRのanion conductanceとSLC26ファミリー輸送体による Cl^- - HCO_3^- exchange機能が協調して効率のよい分泌が達成されていると考えられている(図1)⁷⁾。CFTR機能が消失した ΔF マウスから単離した腭管では、 Cl^- - HCO_3^- exchange活性が小さく⁶⁾ HCO_3^- 分泌がほとんどない。slc26a6ノックアウトマウスでは、単離腭管の管腔膜における(HCO_3^- efflux方向の) Cl^- - HCO_3^- exchange活性が小さい⁸⁾。しかし、マウスの腭液の HCO_3^- 濃度は最高でも50 mM程度でヒト(140 mM)に比べてかなり低いいためか、*in vivo*での腭 HCO_3^- 分泌は、slc26a6ノックアウトマウスと正常マウスとの間に差はなかった⁸⁾。本研究では、腭液の HCO_3^- 濃度がヒトと同様に高いモルモットの腭

臓から単離した小葉間腭管を用いて、管腔内の Cl^- 濃度が高い末梢の腭管では、SLC26A6による Cl^- - HCO_3^- exchangeが HCO_3^- 分泌の多くを担っていることを明らかにすることができた。

ヒトCFTR遺伝子のクローニング(1989年)以来、CFTRの機能解析のためにノックアウトマウス、(本研究でも用いた) $\Delta F508$ 変異導入マウスなどさまざまなCFTR遺伝子改変マウスが作成されてきた。しかし、マウスの腭液中の HCO_3^- 濃度は低く、マウスの単離腭管は実験モデルとして適切ではない。モルモットは、げっ歯目の中では唯一、ヒトと同等の濃度(～140 mM)の HCO_3^- を含む腭液を分泌できる。本研究では、モルモットCFTRの塩基配列を決定し、アミノ酸配列をヒト、マウス、ラットのCFTRと比べた。モルモットCFTR蛋白の一次構造は、マウスやラット(約80%)と比べヒトのCFTRと高い相同性(90.7%)を示した。CFTR分子の機能の違いが、種による HCO_3^- 輸送の違いをもたらしている可能性を示唆している。siRNA法を用いたCFTR遺伝子特異的なノックダウンにより、モルモット単離小葉間腭管でのCFTRタンパクの発現抑制を試みた。単離腭管を特異的dsRNAと36～48時間、比較的短時間培養するという条件で、基礎ならびにセクレチン刺激による溶液分泌が約50%に減少した。管腔膜に発現するCFTRタンパク量も約50%に減少している可能性が示唆された。海外ではCFTR遺伝子変異の保因者が²⁾、本邦ではCFTR遺伝子の発現量が減少する多型を持つ患者では慢性腭炎の発症率が高くなると報告されている⁹⁾。今後siRNA法によりCFTR発現量を減少させたモルモット単離腭管におけるイオン輸送を解析することにより、CFTR遺伝子発現の減少と慢性腭炎発症の関わりを明らかにすることができると期待される。

E. 結論

腭導管細胞の管腔膜に存在する $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchangerは、CFTRとcAMPにより調節されており、cystic fibrosisの腭では、腭液の酸性化に関与している可能性がある。細胞内アルカリ負荷後の管腔膜を介する HCO_3^- 分泌は、管腔内 Cl^- に依存する部分と管腔内 Cl^- に依存しない部分に

分けられた。後者は管腔内のH₂DIDSによって抑制されたので、SLC26A6によるものと推定された。モルモットCFTR遺伝子の塩基配列を決定した。モルモット単離膵管のCFTR遺伝子発現をsiRNA法により抑制すると、基礎およびセクレチン刺激状態でのHCO₃⁻分泌が抑制された。

謝辞：Andrew Stewartは、ヒューマンサイエンス振興財団の助成により来日した。

F. 参考文献

1. Ko SB, Zeng W, Dorwart MR, Luo X, Kim KH, Millen L, Goto H, Naruse S, Soyombo A, Thomas PJ, Muallem S. Gating of CFTR by the STAS domain of SLC26 transporters. *Nat Cell Biol* 2004; 6: 343–350.
2. Cohn JA. Reduced CFTR function and the pathobiology of idiopathic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39 (Suppl 2): s70–77.
3. Kopelman H, Corey M, Gaskin K, Durie P, Weizman Z, Forstner G. Impaired chloride secretion, as well as bicarbonate secretion, underlies the fluid secretory defect in the cystic fibrosis pancreas. *Gastroenterology* 1988; 95: 349–355.
4. Freedman SD, Kern HF, Scheele GA. Pancreatic acinar cell dysfunction in CFTR^{-/-} mice is associated with impairments in luminal pH and endocytosis. *Gastroenterology* 2001; 121: 950–957.
5. Shcheynikov N, Wang Y, Park M, Ko SB, Dorwart M, Naruse S, Thomas PJ, Muallem S. Coupling modes and stoichiometry of Cl⁻/HCO₃⁻ exchange by slc26a3 and slc26a6. *J Gen Physiol* 2006; 127: 511–524.
6. Lee MG, Choi JY, Luo X, Strickland E, Thomas PJ, Muallem S. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator regulates luminal Cl⁻/HCO₃⁻ exchange in mouse submandibular and pancreatic ducts. *J Biol Chem* 1999; 274: 14670–14677.
7. Ishiguro H, Steward M, Naruse S. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and SLC26 transporters in HCO₃⁻ secretion by pancreatic duct cells. *Sheng Li Xue Bao*

(*Acta Physiologica Sinica/Chinese Journal of Physiology*) 2007; 59: 465–476.

8. Ishiguro H, Namkung W, Yamamoto A, Wang Z, Worrell RT, Xu J, Lee MG, Soleimani M. Effect of Slc26a6 deletion on apical Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger activity and cAMP-stimulated bicarbonate secretion in pancreatic duct. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G447–G455.
9. Fujiki K, Ishiguro H, Ko SB, Mizuno N, Suzuki Y, Takemura T, Yamamoto A, Yoshikawa T, Kitagawa M, Hayakawa T, Sakai Y, Takayama T, Saito M, Kondo T, Naruse S. Genetic evidence for CFTR dysfunction in Japanese: background for chronic pancreatitis. *J Med Genet* 2004; 41: e55.

G. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Hamada H, Ishiguro H, Yamamoto A, Shimano-Futakuchi S, Ko SB, Yoshikawa T, Goto H, Kitagawa M, Hayakawa T, Seo T, Naruse S. Dual effects of n-alcohols on fluid secretion from guinea-pig pancreatic duct cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288: C1431–1439.
 - 2) Ishiguro H, Steward M, Naruse S. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and SLC26 transporters in HCO₃⁻ secretion by pancreatic duct cells. *Sheng Li Xue Bao* (*Acta Physiologica Sinica/Chinese Journal of Physiology*) 2007; 59: 465–476.
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

わが国の嚢胞性線維症患者における責任CFTR遺伝子変異の解析

研究報告者 吉村邦彦 国家共済虎の門病院呼吸器センター内科 部長

共同研究者

安斎千恵子（国家共済虎の門病院呼吸器センター内科）

衛藤義勝（東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部門）

【研究要旨】

嚢胞性線維症(cystic fibrosis; CF)は、従来わが国では稀な疾患と考えられていたが、その臨床的実態と原因遺伝子CFTRの変異様相は、次第に明らかにされつつある。CFは約80%の症例で膵外分機能障害(pancreatic insufficiency; PI)を伴うが、大多数は呼吸機能不全で死亡する。PCR増幅および直接塩基配列解析を用いた遺伝子変異の検出により、すでにわが国における20数例のCF患者においてその遺伝子変異が確認された。この中でわれわれが解析し得た症例はこれまで本研究班の2005～2007年度研究を含めて、合計23例に及ぶ。わが国のCF患者におけるCFTR遺伝子変異は、国際的データベースにもこれまで報告のない新規の変異、もしくは世界的にもかなり稀なものが大半を占め、欧米人のCFTR変異スペクトラムと明らかに様相を異にしている。さらに、一部の症例では同一の遺伝子変異が共通に検出されてきている。今後もさらに日本人CF症例をできる限り多く集積・解析し、原因となるCFTR遺伝子の病的変異の種類や頻度を明らかにしたうえで、産学協同的なわが国独自の遺伝子変異スクリーニングシステムを確立する必要がある。

A. 研究目的

嚢胞性線維症(cystic fibrosis; CF)は肺、膵臓、消化管などの全身の外分泌管腔臓器をおかす常染色体劣性遺伝性疾患であり、cAMP依存性ClイオンチャネルCFTRをコードする遺伝子の突然変異に起因する^{1～5)}。CFは欧米白人種に極めて高率に発症する疾患であるが、一方日本人をはじめとする東洋人種におけるCFの発症頻度は極めて低いと考えられている³⁾。わが国のCF症例に関しては昭和57年からの厚生省特定疾患難治性膵疾患研究班による全国調査から29例の確診例が報告されているが⁶⁾、Yamashiroら⁷⁾の報告によるとわが国ではこれまでに文献的に約120例のCF臨床診断例が記載され、発症頻度も出生35万人あたり1人程度と推定された。これはハワイ在住の東洋人でのCF発症頻度(出生9万人以上あたり1人)とおおむね矛盾しないため⁸⁾、わが国では、およそ出生10万人あたり1人程度の発症率と考えられる。

わが国の患者におけるCFTR遺伝子変異解析に関して、過去にはDNA検体の得られた患者

でのΔF508など欧米で頻度の高い数種の変異検索、あるいは限られた数のエクソンでのPCR増幅とsingle strand conformation polymorphism (SSCP)解析などが検討されたが、有意なCFTR遺伝子異常は確認されず、変異状況は不明であった^{3,6)}。この主要な理由は、わが国のCF患者におけるCFTR変異が欧米患者と比較して、変異の頻度もさることながら、そのスペクトラムが全く異なっていることに起因する。しかしながら、このような経緯の中、約10年前からようやくわが国でのCFTR変異の状況が明らかにされてきている^{3,6)}。本研究では、わが国のCF患者におけるCFTR遺伝子変異の実態を解明することを目的とした。

B. 研究方法

筆者らはこれまでに、PCR-SSCP法、直接シーケンス法などによる27エクソンすべての変異検出体制を確立し、当研究班によるわが国での全国調査で集積された症例などを中心にCF確診例ないし疑診例のCFTR遺伝子変異検索を進め

表1 わが国でこれまでに確認されたCF症例の臨床的特徴とそのCFTR遺伝子変異

Case	Age	Sex	PI/PS	CI-	Mutation	Exon	Mutation	Exon	Outcome
1	15y	F	PI	201	H1085R	17b	H1085R	17b	alive
2	1y5m	F	PI	126	M152R	4	1540del10	10	alive
3	1y1m	F	PI	ND	Δ F508	10	L571S	12	deceased
4	15y	M	PI	74	125C	1	Q98R	4	alive
5	42y	F	PS	ND	E217G	4	Q1352H	22	deceased
6*	21y	M	PI	166	125C	1	L441P	9	alive
7*	16y	F	PI	100	125C	1	L441P	9	deceased
8	9y	F	PI	166	1540del10	10	1540del10	10	alive
9*	30y	M	PS	403	125C+T1086I	1,17b	125C+T1086I	1,17b	alive / ABPA
10*	28y	F	PS	ND	125C+T1086I	1,17b	125C+T1086I	1,17b	alive
11	17y	F	PS	ND	R75X	3	R347H	7	alive
12	26y	F	PI	121	E267V	6b	T663P	13	alive / TP
13	28y	M	PI	117	125C	1	460insAT	4	deceased
14	11y	M	PI	154	125C+dele16-17b	1,16-17b	125C+dele16-17	1,16-17b	deceased
15	24y	F	PI	91	L548Q	11	2848delA	15	alive
16	2y	F	PI	ND	L441P	9	ND	?	deceased
17	18y	M	PS	93	125C+del16-17b	1,16-17b	125C+del16-17b+V1318I	1,16-17b,21	alive/ ABPA
18	9y	F	PI	40	5T	intron8	D924N	15	alive
19	13y	F	PI	55	Q98R	4	Q98R	4	alive
20	29y	F	PI	60	125C	1	R347H	7	alive
21	11y	F	PS	22	R1453W	24	ND	?	alive
22	18y	M	PI	ND	I556V	11	ND	?	alive
23	4m	F	PI	ND	G85R	3	ND	?	alive

PI/PS: pancreatic insufficiency/sufficiency, CP: consanguineous parents, * siblings,

TP: live lung transplantation, ABPA: allergic bronchopulmonary aspergillosis, ND: not detected

てきた^{3,6)}。その研究方法の詳細はこれまでの報告書に記載したとおりである⁶⁾。

汗の電解質濃度はWescor社のMacroductおよびSweatchekを用いたピロカルピン負荷試験により測定し、換算して得られたCl⁻ 60 mEq/L以上を異常とした^{3,6)}。

(倫理面への配慮)

「虎の門病院 ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理委員会」において「日本人嚢胞性線維症患者におけるCFTR遺伝子変異の検索」研究の審査を受け、承認を得た研究計画(受付番号第2005-5号)に従い、当該症例のCFTR遺伝子変異検索の臨床的、遺伝学的意義を患者本人ないし未成年の場合は保護者に説明した上、同意を取得した。

C. 研究結果

われわれの施設においてCFTR遺伝子変異解析が行われ、現時点までに変異が突き止められたCF症例合計23例の一覧を示す。解析の結果、

全てのCF症例において、少なくとも一方のアリルの遺伝子変異を確認し得た(表1)。これらの中には、欧米でも極めて稀な変異や、これまで国際的なCF Mutation Database (CFMD)に登録記載のないCFTR変異が大半を占めている^{9,10)}。

さらに、解析全23症例のうち、7例が同一変異を両アリルに有するホモ接合体、また11例が2種以上の異なった変異を2つのアリルに有する複号ヘテロ接合体であった。一方、5例において片側の遺伝子変異が確認されていない。表2に23症例における遺伝子変異の種類とアリル頻度を示した。

D. 考察

わが国のCF研究は、本研究班およびその前身である厚生省特定疾患難治性肺疾患調査研究班を中心に進められ、主に肺機能不全を呈した重症例の集積と全国施設での実態調査などに主眼が置かれてきた。しかしながら、これら症例における原因遺伝子CFTRの変異解析と遺伝子診

表2 わが国のCF 23症例のCFTR遺伝子変異のアリル頻度

125C	13
T1086I	4
dele16-17b	4
1540del10	3
L441P	3
Q98R	3
R347H	2
H1085R	2
R75X	1
G85R	1
M152R	1
E217G	1
460insAT	1
E267V	1
deltaF508	1
L548Q	1
I556V	1
L571S	1
T663P	1
D924N	1
2848delA	1
V1318I	1
Q1352H	1
5T	1

(ホモ接合体 7例, 複合ヘテロ接合体 11例, ヘテロ接合体 5例)

断に関しては必ずしも十分ではなかった。近年わが国においても変異検出体制が確立され、変異の様相が次第に明らかにされつつある^{3,6,9,10)}。今年度研究でも改めて明らかにされたように、すでに全世界では1,550種以上の変異が報告されているにもかかわらず、わが国のCF患者におけるCFTR遺伝子変異は、極めて稀なもの、あるいはこれまで報告のないものが大半を占め、欧米人の変異スペクトラムと全く様相を異にしている^{3,6)}。したがって欧米人を対象としたスクリーニング体系では変異は検出され得ない。

一方、CFTRが成因や病態の形成に関わる、いわゆるCFTR関連疾患は多岐にわたり、さらにその概念が拡大しつつある³⁾。例えば、男性不妊の先天性両側精管欠損症(CBAVD)では、わが国においても健常者やその他の疾患対照に比べ明らかに変異CFTR対立遺伝子の保有率が高いことが筆者ら¹¹⁾のこれまでの研究で明らかにしており、さらにその範疇に属する疾患の概念が拡大している³⁾。

E. 結論

人種や民族によりCFTR変異のスペクトラムが大きく異なっていることがすでに明らかにされている^{1,3)}。したがって、診断や保因者スクリーニングのうえで、対象集団の人種、民族性が極めて重要である。今後もわが国の日本人CF症例を本研究班を中心に、さらに単一臓器病変のみを呈するCFTR関連疾患にもその対象を広げてできる限り多く解析し、原因となるCFTR遺伝子の病的変異の種類、頻度を明らかにし、わが国独自の、疾患特異的なスクリーニング体制を産学協同的な研究体制のもと、さらに確立して行きたい。

F. 参考文献

1. Welsh MJ, Tsui L-C, Boat TF, Beaudet AL. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease, 7th edn. McGraw-Hill, New York 1995; p3799–p3876.
2. Collins FS. Cystic fibrosis: molecular biology and therapeutic implications. Science 1992; 256: 774–779.
3. 吉村邦彦. のう胞性線維症. 日内会誌 2003; 92: 1198–1205.
4. Tsui L-C. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. Am J Respir Crit Care Med 1995; 151: S47–S53.
5. Cystic Fibrosis Mutation Data Base. [http:// www. genet.sickkids.on.ca/cftr/](http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/).
6. 吉村邦彦, 安斎千恵子, 衛藤義勝. わが国の嚥胞性線維症症例におけるCFTR遺伝子変異に関する解析. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「難治性腎疾患に関する調査研究」平成18年度総括・分担研究報告書 p261–264.
7. Yamashiro Y, Shimizu T, Oguchi S, Shioya T, Nagata S, Ohtsuka Y. The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1997; 24: 544–547.
8. 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. Ther Res 2005; 26: 1467–1475.

9. Yoshimura K, Wakazono Y, Iizuka S, Morokawa N, Tada H, Eto Y. A Japanese patient homozygous for the H1085R mutation in the CFTR gene presents with a severe form of cystic fibrosis. Clin Genet 1999; 56: 173–175.
10. Morokawa N, Iizuka S, Tanano A, Katsube A, Muraji T, Eto Y, Yoshimura K. Severe cystic fibrosis in a Japanese girl caused by two novel CFTR gene mutations M152R and 1540del10. Hum Mut, Mutation and Polymorphism Report #109, 2000 (online).
11. Anzai C, Yoshimura K, Morokawa N, Okada H, Kamidono S, Eto Y. High prevalence of mutations of the CFTR gene in Japanese individuals with congenital bilateral absence of the vas deferens. J Cystic Fibrosis 2003; 2: 14–18.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 吉村邦彦, 安斎千恵子, 衛藤義勝. 日本人嚢胞性線維症症例の CFTR 遺伝子変異解析. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「難治性肺疾患に関する調査研究」平成 16 年度総括・分担研究報告書 2005; p265–268.
- 2) 宮本 篤, 安斎千恵子, 高谷久史, 杉野圭史, 坂本 晋, 泉川公一, 川畑雅照, 岸 一馬, 坪井永保, 本間 栄, 吉村邦彦. CFTR 遺伝子変異のホモ接合体を呈する Cystic Fibrosis の 2 症例. Therapeutic Research 2005; 26: 1453–1456.
- 3) 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.
- 4) 吉村邦彦, 安斎千恵子, 衛藤義勝. わが国における Cystic Fibrosis 患者の CFTR 遺伝子変異検索. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「難治性肺疾患に関する調査研究」平成 17 年度総括・分担研究報告書 2006; p223–226.
- 5) 吉村邦彦, 安斎千恵子, 衛藤義勝. わが国の嚢胞性線維症症例における CFTR 遺伝子変異に関する解析. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「難治性肺疾患に関する調査研究」平成 18 年度総括・分担研究報告書 2007;

p261–264.

2. 学会発表

- 1) 安斎千恵子, 児島 章, 宮本 篤, 坂本 晋, 高谷久史, 川畑雅照, 岸 一馬, 坪井永保, 本間 栄, 衛藤義勝, 吉村邦彦. 日本人 cystic fibrosis 患者における CFTR 遺伝子変異解析. 第 45 回日本呼吸器学会学術講演会, 幕張 2005 年 4 月 16 日
- 2) Anzai C, Kojima A, Miyamoto A, Sakamoto S, Takaya H, Kawabata M, Kishi K, Tsuboi E, Homma S, Eto Y, Yoshimura K. Analysis of CFTR gene mutations in Japanese individuals with cystic fibrosis. 第 46 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京 2006 年 6 月 3 日
- 3) Yoshimura K, Anzai C, Miyamoto A, Sakamoto S, Takaya H, Kawabata M, Kishi K, Tsuboi E, Homma S, Eto Y. CFTR gene mutations detected in Japanese individuals with cystic fibrosis. 2006 European Respiratory Society Annual Congress, Munich, Germany, September 2–6, 2006
- 4) 安斎千恵子, 児島 章, 諸川納早, 宮本 篤, 高谷久史, 岸 一馬, 衛藤義勝, 吉村邦彦. わが国の cystic fibrosis 症例における CFTR 遺伝子変異におよび多型の解析. 第 11 回アレルギー・気道上皮細胞研究会, 東京 2007 年 12 月 8 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 |

研究成果の刊行に関する一覧表

書 籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
<u>Okazaki K.</u>	Autoimmune pancreatitis-recent concept.	Pour PM.	Toxicology of the pancreas	Taylor & Francis	Florida	2006	459-473
<u>Kawa S.</u> , Hamano H, Kiyosawa K.	Pancreatitis	Rose NR, MacKay IR	The autoimmune diseases	Academic Press	St Louis	2006	779-786
Mikami Y, <u>Takeda K.</u> , Murakami T, Matsuno S.	Vascular anatomy of the pancreas.	Pour PM.	Toxicology of the Pancreas	Taylor & Francis	Florida	2006	75-89
<u>Hirota M.</u>	Activity of pancreatic secretory trypsin inhibitor is essential against pancreatoxic factors.	Pour PM.	Toxicology of the Pancreas	Taylor & Francis	Florida	2006	205-213
<u>Suda K.</u> , Nobukawa B, Suzuki F, Fujii H, Matsumoto M, Matsumoto Y, Miyano T.	Anomalous lesions of the pancreatic head and vaterian system, related to their structures.	Suda K	Pancreas- Pathological practice and research	Karger	Basel	2007	12-24
Matsukuma S, <u>Suda K.</u>	Pancreatic ischemic lesions.	Suda K	Pancreas- Pathological practice and research	Karger	Basel	2007	36-44
<u>Suda K.</u> , Tsukahara M, Takase M, Arakawa A, Izumi H, Mizutani Y.	Repair/reparative change in acute pancreatitis and the role of fat nectosis.	Suda K	Pancreas- Pathological practice and research	Karger	Basel	2007	45-55
Izumi M, <u>Suda K.</u>	Pancreatic ductal myofibroblasts.	Suda K	Pancreas- Pathological practice and research	Karger	Basel	2007	56-66
<u>Suda K.</u>	Distribution, pathogenesis and progression of human pancreatic fibrosis.	Suda K	Pancreas- Pathological practice and research	Karger	Basel	2007	67-79
Kuroda J, <u>Suda K.</u> , Hosokawa Y.	Electron-microscopic aspect of pancreatic fibrosis:pancreatic periacinar collagenization at the initial stage.	Suda K	Pancreas- Pathological practice and research	Karger	Basel	2007	80-93
Kakinuma C, Abe H, <u>Suda K.</u>	Experimental animal models of pancreatic fibrosis.	Suda K	Pancreas- Pathological practice and research	Karger	Basel	2007	105-134
<u>大槻 眞</u>	膵疾患	和田 攻, 大久保昭行, 矢崎義雄, 大内尉義	臨床検査ガイド 2005・2006	文光堂	東京	2005	9-16
<u>大槻 眞</u>	急性膵炎	井廻道夫	看護のための最新医学講座 第2版 第5巻 肝・胆・膵疾患	中山書店	東京	2005	325-332

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
大槻 眞	慢性膵炎	矢崎道雄, 菅野健太郎	疾患別最新処方 第4版	メジカル ビュー社	東京	2005	368-369
大槻 眞, 真弓俊彦, 荒田慎寿, 伊藤鉄英, 乾 和郎, 岡崎和一, 片岡慶正, 神澤輝実, 川 茂幸, 北川元二, 黒田嘉和, 小泉 勝, 税所宏光, 澤武紀雄, 下瀬川徹, 武田和憲, 竹山宜典, 田中滋城, 広田昌彦	急性膵炎における初期 診療のコンセンサス	大槻 眞	急性膵炎における 初期診療のコンセ ンサス	アークメ ディア	東京	2005	1-30
大槻 眞	膵疾患における検査値 の読み方	千葉 勉, 井廻道夫	消化器疾患診療実 践ガイド	文光堂	東京	2005	49-52
大槻 眞	PFD 試験, セクレチン試 験, 便中キモトリブシン 測定, アミラーゼクレア チニンクリアランス比 (ACCR)	千葉 勉, 井廻道夫	消化器疾患診療実 践ガイド	文光堂	東京	2005	93-97
大槻 眞	急性膵炎の原因と治療 ー正確な診断のために 必要なことー	高橋信一	新臨床研修ガイド ラインに基づく消 化器内科 Q&A	総合医学 社	東京	2005	231-239
木原康之, 大槻 眞	厚生省重症度判定基準 (1997年)の問題点ー重 症急性膵炎全国調査か らの解析ー	荒川泰行	消化器病学の進歩 2005ーモノグラ フー肝・胆・膵編	メディカ ルレビュー ー社	東京	2005	140-143
大槻 眞	重症急性膵炎	疾病対策研究会	難病の診断と治療 指針 1 三訂版	東京六法 出版	東京	2005	386-393
大槻 眞	膵嚢胞繊維症	疾病対策研究会	難病の診断と治療 指針 2 三訂版	東京六法 出版	東京	2005	462-467
大槻 眞	慢性膵炎	疾病対策研究会	難病の診断と治療 指針 2 三訂版	東京六法 出版	東京	2005	468-479
大槻 眞	慢性膵炎	金澤一郎, 北原光夫, 山口 徹, 小俣政男	内科学	医学書院	東京	2006	1653- 1660
大槻 眞	アミラーゼ, アミラーゼ アイソザイム, 尿中アミ ラーゼ	橋本信也	最新臨床検査の ABC	日本医師 会	東京	2006	S124- S127
大槻 眞	エラスターゼ1	橋本信也	最新臨床検査の ABC	日本医師 会	東京	2006	S130- S131
大槻 眞	急性膵炎	北村 聖	臨床病態学	ヌーヴェ ルヒロカ ワ	東京	2006	176-182

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
大槻 眞, 岡崎和一, 神澤輝実, 川 茂幸, 西森 功, 乾 和郎, 中村雄太, 伊藤鉄英, 渡邊 顕, 大原弘隆, 中沢貴宏, 田中滋城, 吉田 仁, 須田耕一, 西野隆義, 土岐文武, 小泉 勝, 成瀬 達, 内田一茂, 浜野英明, 高瀬 優		厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究班 主任研究者 大槻 眞, 分担研究者 岡崎 和一	自己免疫性膵炎アトラス	アークメディア	東京	2007	
大槻 眞	膵疾患	和田 攻, 久保田昭行, 矢崎義雄, 大内尉義	臨床検査ガイド 2007-2008これだけは必要な検査のすすめかた・データのよみかた	文光堂	東京	2007	9-16
木原康之, 大槻 眞	急性膵炎 医療経済	下瀬川徹	新しい診断と治療のABC 54 膵炎・膵癌 消化器 8	最新医学社	大阪	2008	45-51
片岡慶正, 下瀬川徹, 大槻 眞	慢性膵炎 慢性膵炎診療ガイドライン	下瀬川徹	新しい診断と治療のABC 54 膵炎・膵癌 消化器 8	最新医学社	大阪	2008	107-121
大槻 眞, 西森 功	自己免疫性膵炎 概念・定義と疫学	下瀬川徹	新しい診断と治療のABC 54 膵炎・膵癌 消化器 8	最新医学社	大阪	2008	122-128
西森 功, 大西三朗, 大槻 眞	自己免疫性膵炎 管理・治療・予後	下瀬川徹	新しい診断と治療のABC 54 膵炎・膵癌 消化器 8	最新医学社	大阪	2008	151-158
河邊 顕, 伊藤鉄英	急性膵炎重症化の機序	竹井謙之, 川崎誠治	医学のあゆみ別冊 消化器疾患Ver.3	医歯薬出版	東京	2006	235-238
伊藤鉄英	急性膵炎	山口 徹, 北原光夫, 福井次矢	TODAYS THERAPY 今日の治療指針 2006年版	医学書院	東京	2006	415-418
伊藤鉄英	すい臓の働きとすい炎 —生活習慣病とすい臓病—	伊藤鉄英	生活習慣と すい臓病	海鳥社	福岡	2007	1-32
伊藤鉄英	慢性膵炎 内科治療・予後	下瀬川徹	新しい診断と治療のABC 54 膵炎・膵癌 消化器 8	最新医学社	大阪	2008	91-99
岡崎和一	自己免疫性膵炎	林 紀夫, 日比紀文, 上西紀夫, 下瀬川徹	Annual Review 消化器2007	中外医学社	東京	2007	201-207
岡崎和一, 内田一茂, 高岡 亮	自己免疫性膵炎 診断	下瀬川徹	新しい診断と治療のABC 54 膵炎・膵癌 消化器8	最新医学社	大阪	2008	142-148

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
阪上順一, 片岡慶正, 保田宏明, 十亀義生, 光吉繭子, 伊原憲子, 金光大石, 小嶋敏誠, 高田龍介, 元好朋子, 伊藤令子, 泰井敦子, 馬場武彦, 土佐正俊, 光藤章二, 岡上 武	わが国における急性膵炎の診断と重症度判定基準の問題点と再検討 新しい判定基準案から院内予測死亡率を導く理論式作成の試み	荒川泰行	消化器病学の進歩 2005—モノグラフ—肝・胆・膵編	財団法人日本消化器病学会発刊, メディカルレビュー社	東京	2005	169-171
片岡慶正, 阪上順一	経口蛋白分解酵素阻害薬の有効性は?—慢性膵炎, 膵性糖尿病	跡見 裕, 上村直実, 白鳥敬子, 正木尚彦	臨床に直結する肝・胆・膵疾患治療のエビデンス	文光堂	東京	2007	255-256
片岡慶正	膵疾患へのアプローチ: 膵疾患を理解するための基礎的事項	井村裕夫	わかりやすい内科学 第3版	文光堂	東京		in press
片岡慶正	膵炎 (急性, 慢性)	井村裕夫	わかりやすい内科学 第3版	文光堂	東京		in press
神澤輝実	急性膵炎	矢崎義雄, 乾 賢一	薬剤師・薬学生のための臨床医学	文光堂	東京	2005	538-541
神澤輝実	慢性膵炎	矢崎義雄, 乾 賢一	薬剤師・薬学生のための臨床医学	文光堂	東京	2005	541-544
神澤輝実	IgG4関連硬化性疾患の病態	荒川泰行	消化器病学の進歩 2005—モノグラフ—消化器病学のニューフロンティア編	財団法人日本消化器病学会, メディカルビュー社	東京	2005	233-235
神澤輝実	慢性膵炎	山口 徹, 北原光夫, 福井次矢	今日の治療指針 2007年版	医学書院	東京	2007	406-407
神澤輝実	慢性膵炎 内科的治療	菅野健太郎, 上西紀夫, 井廻道夫	消化器疾患 最新の治療 2007-2008	南江堂	東京	2007	387-390
神澤輝実, 岡本篤武	自己免疫性膵炎 病態生理	下瀬川徹	新しい診断と治療のABC 54 膵炎・膵癌 消化器 8	最新医学社	大阪	2008	136-141
川 茂幸	膵炎	戸田剛太郎, 税所宏光, 寺野 彰, 幕内雅敏	Annual Review 消化器 2005	中外医学社	東京	2005	345-349
川 茂幸	膵疾患	酒井 紀, 早川弘一, 西崎 統, 小林祥泰, 福井次矢	内科学レビュー 最新主要文献と解説 2005	総合医学社	東京	2005	121-125
川 茂幸	膵炎	戸田剛太郎, 税所宏光, 寺野 彰, 幕内雅敏	Annual Review 消化器 2006	中外医学社	東京	2006	335-339
川 茂幸	自己免疫性膵炎と IgG4	竹井謙々, 川崎誠治	医学のあゆみ別冊 消化器疾患 Ver.3	医歯薬出版	東京	2006	239-242
川 茂幸	自己免疫性膵炎 診断基準と治療方針は?	跡見 裕, 上村直実, 白鳥敬子, 正木尚彦	臨床に直結する肝・胆・膵疾患治療のエビデンス	文光堂	東京	2007	275-278