

二、木下壽文，児玉孝仁，慢性膵炎の長期予後調査，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平成16年度 総括・分担研究報告書 2005；151-156.

- 5) 神垣 隆，山本政博，長谷川恭久，田畑知巳，味木徹夫，森田晋介，斎藤洋一：慢性膵炎膵石症と膵癌，胆と膵 16: 65-69, 1995
- 6) Ammann RW, Hammer B, Fumagalli I.: Chronic pancreatitis in Zurich, 1963-1972. Clinical findings and follow-up studies of 102 cases. Digestion 9: 404-15, 1973
- 7) Karlson BM, Ekblom A, Josefsson S, McLaughlin JK, Fraumeni JF Jr, Nyrén O.: The risk of pancreatic cancer following pancreatitis: an association due to confounding? Gastroenterology 113: 587-92, 1997

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. 慢性膵炎

2) 各個研究プロジェクト

慢性膵炎における血中可溶性 fractalkine 測定の有用性の検討

研究報告者 伊藤鉄英 九州大学大学院病態制御内科学 講師

共同研究者

安田幹彦, 河邊 颯, 大野隆真, 松尾 享, 中村太一, 加来豊馬, 五十嵐久人, 高柳涼一
(九州大学大学院病態制御内科学)

【研究要旨】

慢性膵炎は進行性の慢性疾患であり、持続・反復する膵炎により徐々に膵内外分泌障害をきたす疾患である。さらに慢性膵炎は、長期的には膵癌のリスクファクターの一つでもある。現在のところ慢性膵炎の早期発見に有効な検査法は存在せず、多くが進行した状態で発見されているのが現状である。慢性膵炎の膵機能検査、形態学的検査における異常所見は、かなり進行した慢性膵炎においてのみ認められる上に、病像と必ずしも一致しない、したがって早期の慢性膵炎像も反映するような生物学的、機能的マーカーが望まれている。近年、新たなケモカインである fractalkine が炎症早期に関与することが報告されているが、慢性膵炎において検討はなされていない。そこで本研究では慢性膵炎患者の血中 soluble fractalkine (S-FRA) 値に注目し、早期慢性膵炎の診断マーカーとしての有用性を検討した。慢性膵炎112症例、健常者116症例の計228症例を対象に、血中の S-FRA, MCP-1, TGF- β を測定した。さらに、慢性膵炎症例を5段階の重症度で分類し、重症度および重症度分類における各種パラメーター(膵外分泌能、画像上の進行度、飲酒量)と S-FRA の関連を解析した。さらに非アルコール性慢性膵炎症例群を設定し、重症度分類の各種パラメーターと S-FRA の関連を追加解析した。S-FRA は慢性膵炎群において有意な上昇を認め、比較的慢性膵炎の早期と思われる症例で有意な上昇を認めた。また、TGF- β 1 はより進行した慢性膵炎で上昇を認めた。この結果は DBTC 慢性膵炎モデルラットを用いた実験でも確認され、DBTC 投与後14日目の膵線維化が進行し始める時期と一致して S-FRA の上昇を認めた。さらに膵星細胞の実験から、膵線維化における fractalkine (CX3CL1)-CX3CR1 系を介した膵星細胞と免疫担当細胞の相互作用が示唆された。S-FRA は早期の慢性膵炎を反映する血清中の診断マーカーとなり得る可能性が示唆された。今後、血清 S-FRA 測定の有用性さらに詳細に検証する必要があると思われる。

A. 研究目的

慢性膵炎は非可逆性の慢性炎症疾患で、進行すると膵外分泌不全、糖尿病を発症するだけでなく、膵癌の危険因子である¹⁻³⁾。そのため、早期に発見して治療を行い、膵炎の進展を予防する必要がある。しかし、早期慢性膵炎の診断は現在のところ非常に困難である。膵機能検査および形態学的検査での異常は、かなり進行した慢性膵炎においてのみ認められ、さらに慢性膵炎の病態と必ずしも一致しない⁴⁻⁸⁾。したがって、早期の慢性膵炎像を反映するような簡便な生物学的、機能的マーカーが望まれている⁹⁾。我々は新たなケモカインである soluble fractalkine (S-FRA) が発症初期より慢性膵炎

の発症進展に関連があることを見出しており、特に、血中 S-FRA 測定が早期慢性膵炎診断のマーカーとして有用であると推察される¹⁰⁾。本研究では慢性膵炎患者の血清中 S-FRA 測定を行い、慢性炎症への関与が報告されている MCP-1, TGF- β 値と比較し、血中 S-FRA 測定の早期慢性膵炎の診断マーカーとしての有用性を検討する。さらに DBTC 慢性膵炎モデルラットおよび膵星細胞における fractalkine 発現、機能を検討し、膵線維化過程における fractalkine の関与を明らかにする。

B. 研究方法

1. ヒト慢性膵炎患者における血清 S-FRA 測

定

1) 慢性膵炎患者血清中の S-FRA 濃度の測定対象は、慢性膵炎診断基準(2001年日本膵臓学会)により、当科にて慢性膵炎の確定診断を得た慢性膵炎112症例(男性63例/女性49例、25~81歳、平均56.8歳)、健常者116症例(男性69例/女性47例、26~93歳、平均56.5歳)の計228症例である。患者の同意を得て採取した患者および健常者の血清を用いて、血清中 S-FRA、TGF- β 1、MCP-1 の各濃度を ELISA 法により測定した。慢性膵炎群と健常者群間の比較には、Mann-Whitney U test を用いて検討した。統計学的に危険度 $p < 0.05^*$ を有意とした。

2) 慢性膵炎の重症度と血清 S-FRA の関連の検討

慢性膵炎症例を、早川らの慢性膵炎重症度 stage 分類¹¹⁻¹³⁾に基づき、5段階に重症度分類を行った(表1, 2)。慢性膵炎患者112症例のうち、重症度分類が可能であった109症例について、慢性膵炎の各重症度と S-FRA との関連、および重症度分類における各種パラメーター(膵外分泌能、画像上の進行度、飲酒量)と S-FRA の関連を解析した。各群間の比較には、Mann-Whitney U test、相関関係の検定には Pearson's correlation analysis を用いた。統計学的に危険度 $p < 0.05^*$ を有意とした。

(倫理面への配慮)

本研究は主任研究者の所属する九州大学医学研究院等倫理委員会で承認を受けた後(平成19年1月29日)、「疫学研究に関する倫理指針」(平成14年6月17日文科科学省・厚生労働省平成14年7月1日施行)に従い施行し、個人情報の保護に努めた。

2. DBTC 慢性膵炎モデルに膵線維化進展における fractalkine の関与を検討

1) DBTC ラット慢性膵炎の作成

既報に基づき¹⁴⁻¹⁷⁾DBTC ラット慢性膵炎モデルを作成した。Dimethyl sulfoxide : Ethanol : Glycerol を 2 : 1 : 2 の割合で混合した溶媒に Dibutyltin Dichloride (DBTC) を溶解させ、雄性 Lewis ラットの右内頸静脈より 7 mg/kg 投与する。7日目より膵に線維化が認められるようになり、14日目以降膵の線維化

表1 慢性膵炎重症度分類

A. 膵外分泌機能低下 (score, 0-4)	0, Normal	1, Slightly abnormal	2, Slightly decreased	3, Moderately decreased	4, Severely decreased
B. 膵管像の異常 (ERCP; score, 0-4)	0, Normal	1, Slightly abnormal	2, Mild pancreatitis	3, Moderate pancreatitis	4, Severe pancreatitis
C. 耐糖能の低下 (score, 0-4)	0, Normal glucose tolerance	1, Slightly impaired glucose tolerance	2, Mild diabetes mellitus	3, Moderate diabetes mellitus	4, Severe diabetes mellitus
D. 疼痛 (evaluated in the previous 1 year, score 0-4)	0, No or only slight pain	1, Mild pain	2, Moderate pain	3, Severe	4, Most severe
E. アルコール常飲の程度 (score, 0-2)	0, Less than 180 ml sake, a not every day	1, Less than 540 ml sake, almost every day	2, More than 540 ml sake, almost every day		
F. 膵炎に関連すると推定される合併症 (score, 0-2)	0, No complications such as pseudocyst and stenosis of the biliary tract	1, Complications that require no treatment	2, Complications that require treatment		
Total score	0-3	4-7	8 <	Severity of chronic pancreatitis Mild Moderate Severe	

表2 慢性膵炎患者の重症度スコア

Score	0	1	2	3	4	Total
画像進行度	0	47	33	17	12	109
膵外分泌能	31	66	12	0	0	109
耐糖能	63	18	13	4	11	109
疼痛	65	35	7	2	0	109
飲酒量	57	30	22	N/A	N/A	109
合併症	90	17	2	N/A	N/A	109
重症度 stage	Mild (0-3)		Moderate (4-7)		Severe (8 >)	
(total score)	36	49	24	109		

N/A: not applied

は著明となる。炎症細胞浸潤は1~3日目までは好中球優位の浸潤を認めるが、7日目には単球が最も浸潤してくるモデルである。

2) DBTC 慢性膵炎モデルラットの膵組織における膜結合型 fractalkine (membrane FRA; M-FRA) および血清中の可溶性 fractalkine (S-FRA) 濃度の検討

DBTC 投与後 7 日目, 14 日目および 28 日目の DBTC 慢性膵炎モデルラットから, それぞれ膵組織と血清を採取した. 採取した膵組織を用いてホモジネート液を作成し, 血清とともに ELISA 法により膵組織中 M-FRA と血清中 S-FRA を測定した.

3. 膵星細胞における fractalkine 発現の検討

1) 膵星細胞 (Pancreatic stellate cell; PSC) の単離・培養

既報に基づき^{15,17)}, 雄性 Lewis ラットより膵臓を摘出して, Optiprep を用いた濃度勾配法にて PSC の単離・培養を行った.

2) 膵星細胞からの mRNA 抽出および RT-PCR 法を用いた fractalkine mRNA の発現の検討

LPS 刺激による fractalkine mRNA 発現の変化を以下の 2 法を用いて検討した.

① LPS 刺激用量依存性の検討: PSC 1×10^3 個/well を 24 時間培養し, さらに 24 時間無血清培養後, LPS 0 ng/ml, 1 ng/ml, 10 ng/ml, 100 ng/ml 入り培地にて 24 時間培養した後, 膵星細胞を回収した.

② LPS 刺激時間依存性の検討: PSC 1×10^3 個/well を 24 時間培養し, さらに 24 時間無血清培養後, LPS 100 ng/ml 入り培地にて, 0 時間, 3 時間, 6 時間, 12 時間, 24 時間培養した後, 膵星細胞を回収した.

上記 2 法にて回収した PSC より, mRNA を抽出し, RT-PCR 法を用いて fractalkine mRNA の発現を検討した.

4) 膵星細胞から LPS 刺激下に産生, 分泌された S-FRA の検討

PSC 1×10^3 個/well を 24 時間培養し, さらに 24 時間無血清培養後, LPS 100 ng/ml 入り培地にて, 0 時間, 8 時間, 16 時間, 24 時間, 48 時間, 72 時間培養した. 各時間培養後に, 膵星細胞およびその上清を回収した. 回収した培養上清中の S-FRA 濃度を ELISA 法にて測定した.

C. 研究結果

1. 慢性膵炎患者における S-FRA 値の検討

1) 慢性膵炎患者血清中の S-FRA 濃度の測定
慢性膵炎患者の血清において, S-FRA と TGF- β 1 が有意に上昇していた (図 1).

2) 慢性膵炎の重症度と血清 S-FRA の関連の検討

慢性膵炎患者 112 症例のうち, 重症度分類が可能であった症例は 109 例であった. この 109 例について重症度を検討すると, 重症度 Mild 群 36 人, Moderate 群 49 人, Severe 群 24 人であった. 各群において血清中 S-FRA, TGF- β 1, MCP-1 濃度を ELISA 法により測定した結果, S-FRA は慢性膵炎の早期と進行期の二峯性に上昇を認めた. また, TGF- β 1 はより進行した慢性膵炎で上昇を認めた (図 2).

次に重症度分類における各種パラメーター, つまり画像上の進行度, 膵外分泌能, 飲酒量と S-FRA の関連を解析した. まず画像進行度別で, S-FRA は軽症群, 重症群において有意に上昇していた. また, TGF- β 1 は重症度の高い群において有意に上昇していた (図 3). 膵外分泌能別では, S-FRA は軽症群においてのみ有意に上昇していたが, TGF- β 1 は重症度の高い群において有意に上昇していた (図 4). 一方, 飲酒量別においては, S-FRA と TGF- β 1 はともに飲酒量の多い群において有意に上昇していた (図 5).

3) 非アルコール性慢性膵炎症例における血清 S-FRA と TGF- β 1 の検討

さらに飲酒量の影響を受けない非アルコール性慢性膵炎症例に焦点を絞って検討した. S-FRA は非アルコール性慢性膵炎症例において, 軽症群, 画像進行度の軽い群において有意に上昇していた (図 6). また, TGF- β 1 は, 中等度の重症度群において有意な上昇を示した. 画像進行度, 膵外分泌能別における検討においても中等度の群で上昇する傾向にあった (図 7).

2. DBTC 慢性膵炎モデルラットの膵線維化進展における fractalkine の関与

DBTC 慢性膵炎モデルラットの膵組織中 M-FRA および血清中 S-FRA は, DBTC 投与後 7 日目, 14 日目, 28 日目において, 正常ラット

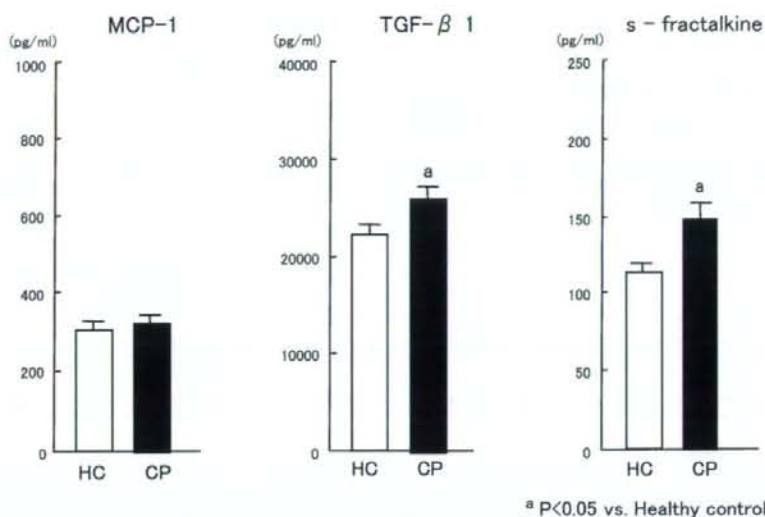


図1 慢性膵炎患者における血清 s-fractalkine, TGF-β1, MCP-1 濃度

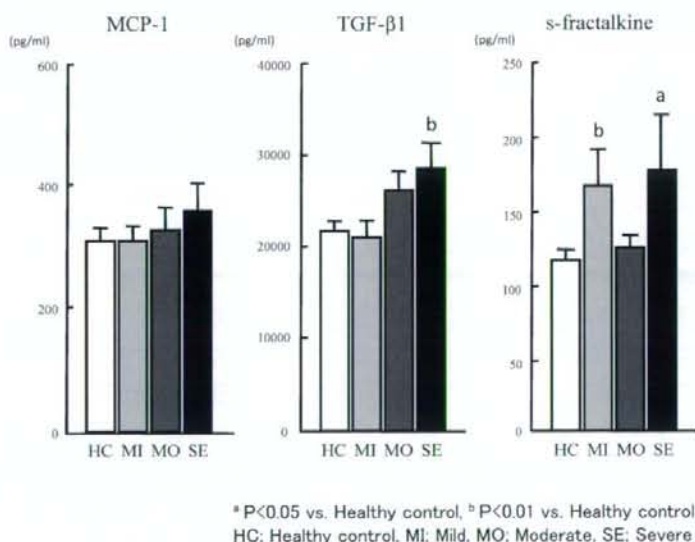


図2 慢性膵炎重症度別の血清 s-fractalkine, TGF-β1, MCP-1 濃度

群よりも高い傾向にあった。特に、膵組織中 M-FRA, 血清中 S-FRA はともに DBTC 投与後14日目をピークにして、正常群と比較して有意な上昇を認めた(図8, 9)。

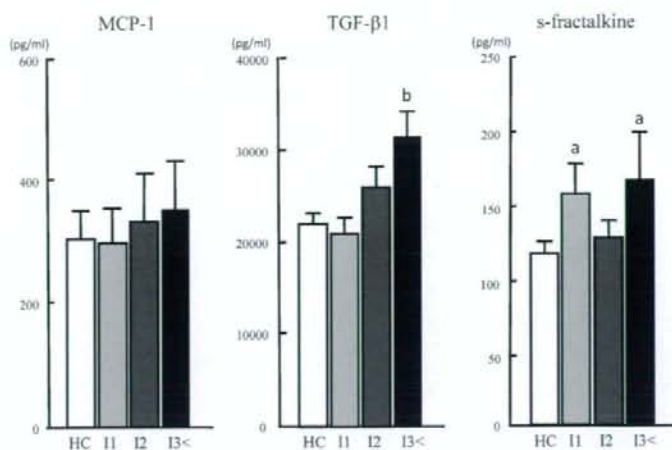
3. 活性化膵星細胞における *fractalkine* mRNA 発現の検討

活性化膵星細胞を LPS で刺激すると、LPS の用量依存的に *fractalkine* mRNA の発現が有意に増加した。さらに、*fractalkine* mRNA の発現は LPS 刺激後12時間をピークに時間依存的に有意に増加した(図10)。

また、LPS 刺激下に活性化膵星細胞から培養上清中へ産生、分泌された S-FRA 濃度は、LPS 刺激48時間をピークに有意に増加した(図11)。

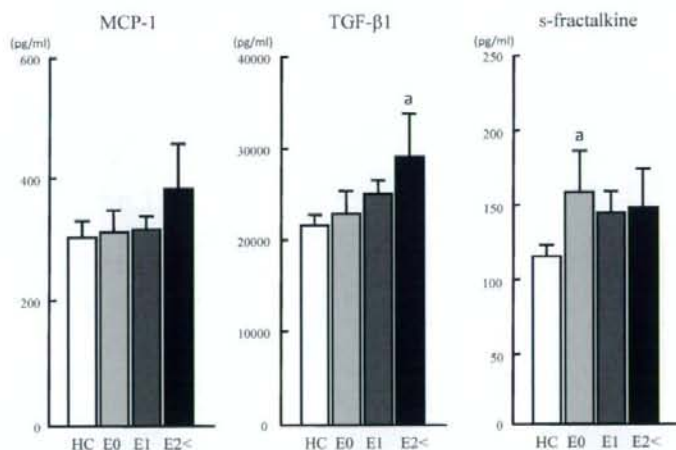
D. 考察

慢性膵炎患者の年間受療者数は約4万5千人と推定されており、そのうち約25%が進行して消化吸収障害およびインスリンを必要とする糖尿病を合併し、それらに伴う栄養障害および免疫異常は QOL を著しく損なわせる¹¹⁾。慢



*P<0.05 vs. Healthy control, ^bP<0.01 vs. Healthy control
 HC; Healthy control, I1; score 1 on pancreatic imaging tests, I2; score 2 on pancreatic imaging tests, I3<; score >3 on pancreatic imaging tests

図3 慢性膵炎画像進行度別の血清 s-fractalkine, TGF-β1, MCP-1 濃度

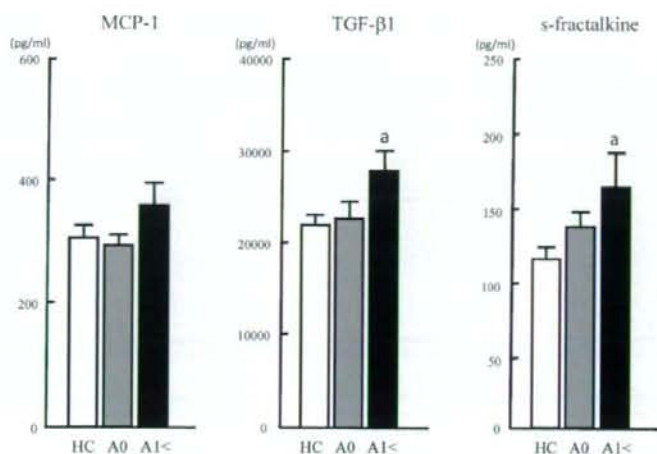


*P<0.05 vs. Healthy control, ^bP<0.01 vs. Healthy control
 HC; Healthy control, E0; score 0 for exocrine function, E1; score 1 for exocrine function, E2<; score >2 for exocrine function

図4 慢性膵炎膵外分泌能別の血清 s-fractalkine, TGF-β1, MCP-1 濃度

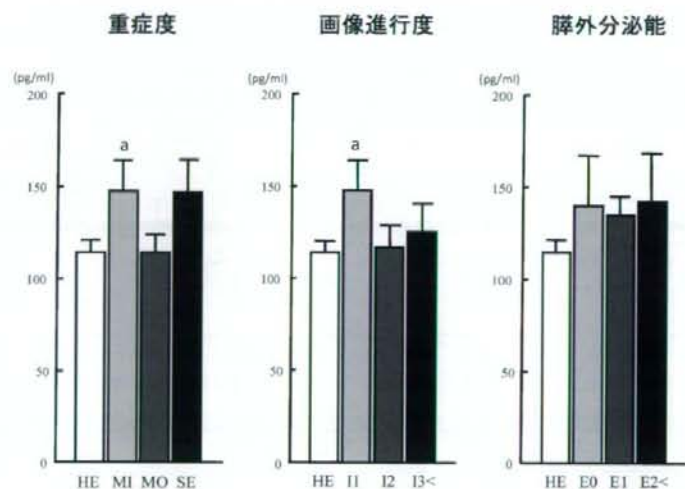
性膵炎の死因では、約44%が悪性疾患で死亡しており、さらにその約25%は予後不良の膵癌で亡くなっている¹¹⁾。そのため、慢性膵炎を早期に発見して早期に治療することが重要と考えられる。しかし、実際には早期の慢性膵炎の診断は困難な現況であり、一般診療の場においてはなかなか診断が得られず消化吸収障害、糖尿病または膵癌が発症して初めて診断されることが多く、有用で簡便な慢性膵炎早期診断のマーカーが望まれている。FRAは、最近発見

されたユニークなケモカインで¹⁸⁾、ケモカインと細胞接着の2つの活性を併せ持ち、各種臓器の上皮細胞、内皮細胞などからの発現が認められている(表2)¹⁹⁻²⁴⁾。膜結合型の membrane FRA (M-FRA)は、細胞外領域が metalloprotease により shedding され、分泌型の S-FRA となり、S-FRAは、CX3CR1を有する Monocyte などに対する細胞遊走活性を示すことが分かっている(図3)。慢性炎症のある局所臓器(肝、肺、腎など)において、FRAの



*P<0.05 vs. Healthy control, ^bP<0.01 vs. Healthy control
 HC: Healthy control, A0; score 0 for score of alcohol intake,
 A1<; score >1 for score of alcohol intake

図5 慢性肝炎飲酒量別の血清中 s-fractalkine, TGF-β1, MCP-1 濃度



*P<0.05 vs. Healthy control

図6 非アルコール性慢性肝炎の s-fractalkine 濃度

関与が最近注目されており、さらにさまざまな慢性炎症疾患において血中 S-FRA が上昇するといった報告もされている(表3)²⁵⁻³²⁾。肝の炎症疾患における血中 S-FRA の動態に関する報告は今のところなく、慢性肝炎への関与が期待される。本研究では肝疾患患者の血清中の S-FRA を、肝線維化進展に関与する TGF-β1 とともに測定した。その結果、S-FRA は慢性肝炎の早期と進行期で二峯性の上昇を認め、TGF-β1 はより進行した慢性肝炎で上昇を認

めた。さらに重症度分類のパラメーターである画像進行度、肝外分泌能、飲酒量の各項目においても同様の傾向が認められた。つまり、S-FRA は慢性肝炎の早期群において高い傾向が示された。

今回我々が用いた DBTC 慢性肝炎モデルラットは、当研究室にて確立した慢性肝炎疾患モデルラットである¹⁴⁻¹⁷⁾。DBTC 投与7日目より肝に線維化が認められるようになり、14日目以降より肝の線維化は著明となる。また、炎

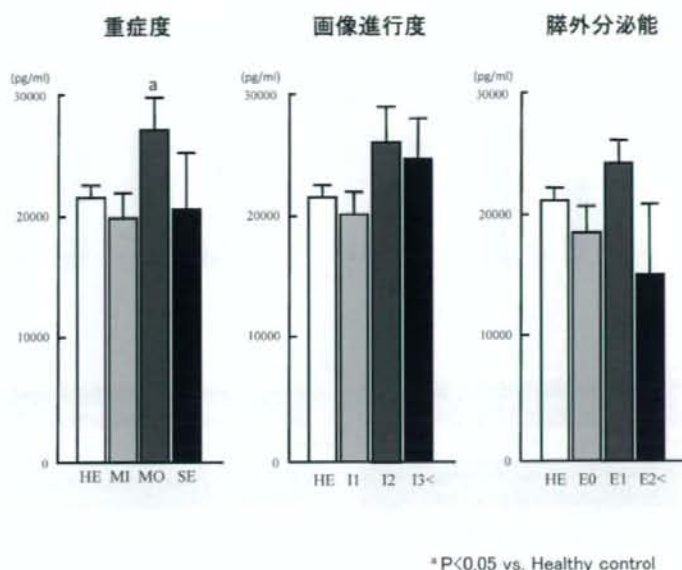


図7 非アルコール性慢性肝炎のTGF-β1濃度

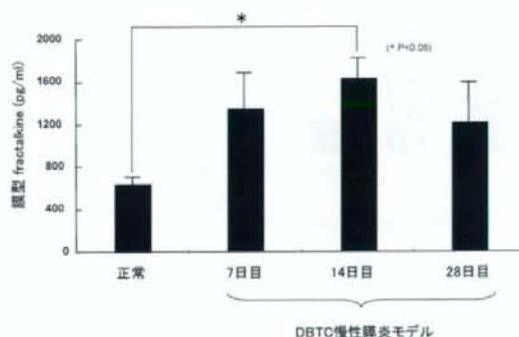


図8 DBTC慢性肝炎モデルラットの膵組織中膜型 fractalkine 濃度

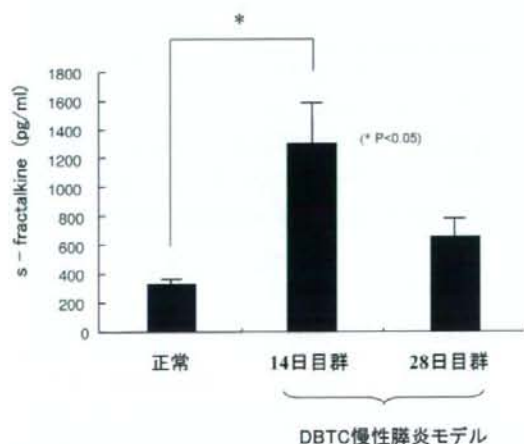


図9 DBTC慢性肝炎モデルラットの血清中s-fractalkine濃度

症細胞浸潤は1～3日までは好中球優位の浸潤を認めるが、7日目には単球が最も浸潤してくる。このモデルラットの病態の進行は、ヒトの慢性肝炎の病態進展をよく反映しており、慢性肝炎の線維化進展機序の研究に有用と考えている。DBTC慢性肝炎モデルラットにおける膵組織中M-FRAおよび血清中S-FRAはともにDBTC投与後14日目をピークに正常群と比較して有意な上昇を認めた。DBTC投与後14日目という時期は、膵の線維化の進展が著明となる時期一致しており、ヒトの慢性肝炎においては線維化の早期に相当する時期と考えられた。以上より動物実験においても、S-FRAは慢性肝炎の早期に発現の上昇を認め、線維化の進展に関与することが示唆された。

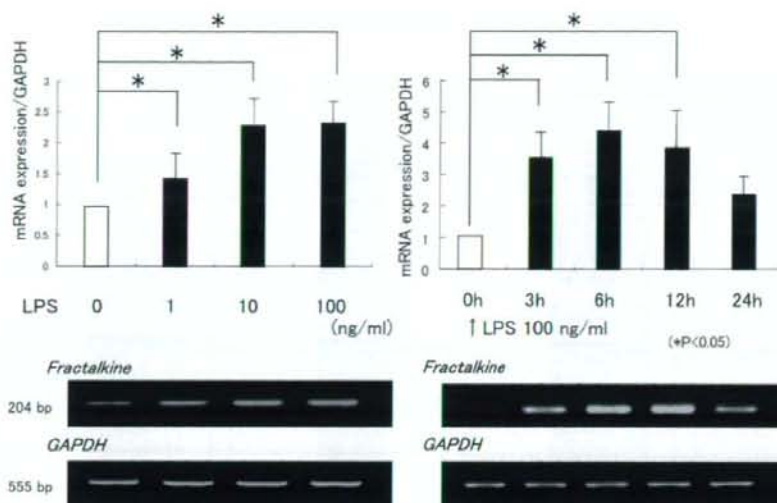


図 10 活性化腹腔星細胞における fractalkine mRNA の発現

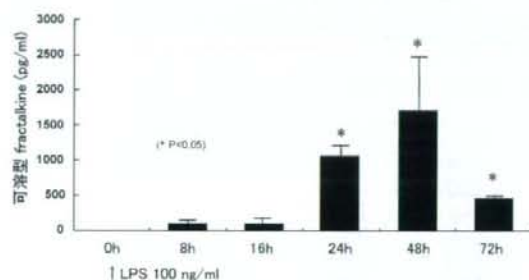


図 11 活性化腹腔星細胞の培養上清中の s-fractalkine 濃度

また、膵の線維化の中心的な役割を果たしているPSCにおいて、LPS刺激下に *fractalkine* mRNA と S-FRA の産生、分泌が増加することが示された。このことは、膵の慢性炎症により、PSC側に発現した *fractalkine* (CX3CL1) と免疫担当細胞側に発現した *fractalkine* (CX3CL1) のレセプターである CX3CR1 との相互作用が、慢性膵炎の線維化の進展において関与している可能性が考えられた。さらに、PSCからのS-FRAの産生、分泌の増加は単球をはじめとした線維化進展に関与している免疫担当細胞のリクルートおよび活性化を刺激している可能性も考えられた。

以上の結果から、S-FRAは早期の慢性膵炎を反映する血清中の診断マーカーとなり得る可能性が示唆された。今後、血清S-FRA測定の有有用性さらに詳細に検証する必要があると思われる。

E. 結語

血中S-FRA測定は早期慢性膵炎の血清中に反映される診断マーカーとなり得る可能性が示唆された。

F. 参考文献

1. Clain JE, Pearson RK. Diagnosis of chronic pancreatitis: is a gold standard necessary? *Surg Clin North Am* 1999; 79: 829-845.
2. Sarles H. Pancreatitis. Symposium of Marseille, 1963. Basel: Karger, 1965.
3. Sarner M. Pancreatitis definitions and classification. In: Go VLW, Di Magno EP, Gardner JD, Lebenthal E, Reber HA, Scheele GA, editors. *The pancreas: pathobiology and disease*. 2nd ed. New York: Raven; 1993. p. 575-580.
4. Chari ST, Singer MV. The problem of classification and staging of chronic pancreatitis. Proposals based on current knowledge of its natural history. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 949-960.
5. Nakano S, Horigauchi Y, Takeda T, Suzuki T, Nakajima S. Comparative diagnostic value of endoscopic pancreatography and pancreatic function tests. *Scand J Gastroenterol* 1974; 9: 383-390.
6. Heij HA, Obertop H, van Blankenstein M, Nix GA, Westbroek DL. Comparison of endoscopic

- retrograde pancreatography with functional and histologic changes in chronic pancreatitis. *Acta Radiol* 1987; 28: 289-293.
7. Malfertheiner P, Buchler M. Correlation of imaging and function in chronic pancreatitis. *Radiol Clin North Am* 1989; 27: 51-64.
 8. Lankisch PG, Seidensticker F, Otto J, Lubbers H, Mahlke R, Stockmann F, et al. Secretin-pancreozymin test (SPT) and endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP): both are necessary for diagnosing or excluding chronic pancreatitis. *Pancreas* 1996; 12: 149-152.
 9. Dimagno EP, Layer P. Human exocrine pancreatic enzyme secretion. In: Go VLW, Di Magno EP, Gardner JD, Lebenthal E, Reber HA, Scheele GA, editors. *The pancreas: pathobiology and disease*. 2nd ed. New York: Raven; 1993. p. 275-300.
 10. Ito T. Can measurement of chemokines become useful biological and functional markers of early-stage chronic pancreatitis? *J Gastroenterol* 2007; 42 Suppl 17: 72-77.
 11. Otsuki M. Chronic pancreatitis in Japan: epidemiology, prognosis, diagnostic criteria, and future problems. *J Gastroenterol* 2003; 38: 315-326.
 12. Hayakawa T, Kondo T, Shibata T, Noda A, Suzuki T, Nakano S. Relationship between pancreatic exocrine function and histological changes in chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 1170-1174.
 13. Hayakawa T, Kitagawa M, Naruse S, Ishigyro H, Mizuno N, Nakajima M. Staging of chronic pancreatitis (in Japanese). *Suizou (J Jpn Pancreas Soc)* 2001; 16: 381-385.
 14. Inoue M, Ino Y, Gibo J, Ito T, Hisano T, Arita Y, Nawata H. The role of monocyte chemoattractant protein-1 in experimental chronic pancreatitis model induced by dibutyltin dichloride in rats. *Pancreas* 2002; 25: e64-e70.
 15. Gibo J, Ito T, Kawabe K, Hisano T, Inoue M, Fujimori N, Oono T, Arita Y, Nawata H. Camostat mesilate attenuates pancreatic fibrosis via inhibition of monocytes and pancreatic stellate cells activity. *Lab Invest* 2005; 85: 75-89.
 16. Zhao HF, Ito T, Gibo J, Kawabe K, Oono T, Kaku T, Arita Y, Zhao QW, Usui M, Egashira K, Nawata H. Anti-monocyte chemoattractant protein 1 gene therapy attenuates experimental chronic pancreatitis induced by dibutyltin dichloride in rats. *Gut* 2005; 54: 1759-1767.
 17. Kaku T, Oono T, Zhao H, Gibo J, Kawabe K, Ito T, Takayanagi R. IS-741 attenuates local migration of monocytes and subsequent pancreatic fibrosis in experimental chronic pancreatitis induced by dibutyltin dichloride in rats. *Pancreas* 2007; 34: 299-309.
 18. Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, Wang W, Soo K, Rossi D, et al. A new class of chemokine with a CX3C motif. *Nature* 1997; 385: 640-644.
 19. Chapman GA, Moores K, Harrison D, Campbell CA, Stewart BR, Strijbos PJ. Fractalkine cleavage from neuronal membranes represents an acute event in the inflammatory response to excitotoxic brain damage. *J Neurosci* 2000; 20: RC87: 1-5.
 20. Imai T, Hieshima K, Haskell C, Baba M, Nagira M, Nishimura M, et al. Identification and molecular characterization of fractalkine receptor CX3CR1, which mediates both leukocyte migration and adhesion. *Cell* 1997; 91: 521-530.
 21. Combadiere C, Salzwedel K, Smith ED, Tiffany HL, Berger EA, Murphy PM. Identification of CX3CR1: a chemotactic receptor for the human CX3C chemokine fractalkine and a fusion coreceptor for HIV-1. *J Biol Chem* 1998; 273: 23799-23804.
 22. Ludwig A, Berkhout T, Moores K, Groot P, Chapman G. Fractalkine is expressed by smooth muscle cells in response to IFN-g and TNF-a and is modulated by metalloproteinase activity. *J Immunol* 2002; 15: 168: 604-612.
 23. Fong AM, Robinson LA, Steeber DA, Tedder TF, Yoshie O, Imai T, et al. Fractalkine and CX3CR1 mediate a novel mechanism of leuko-

- cyte capture, firm adhesion, and activation under physiologic flow. *J Exp Med* 1998; 188: 1413-1419.
24. Haskell CA, Cleary MD, Charo IF. Unique role of the chemokine domain of fractalkine in cell capture. *J Biol Chem* 2000; 275: 34183-34189.
25. Volin MV, Woods JM, Amin MA, Connors MA, Harlow LA, Koch AE. Fractalkine: a novel angiogenic chemokine in rheumatoid arthritis. *Am J Pathol* 2001; 159: 1521-1530.
26. Ito Y, Kawachi H, Morioka Y, Nakatsue T, Koike H, Ikezumi Y, et al. Fractalkine expression and the recruitment of CX3CR1+ cells in the prolonged mesangial proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 2002; 61: 2044-2057.
27. Rimaniol AC, Till SJ, Garcia G, Capel F, Godot V, Balabanian K, et al. The CX3C chemokine fractalkine in allergic asthma and rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 1139-1146.
28. Isse K, Harada K, Zen Y, Kamihira T, Shimoda S, Harada M, et al. Fractalkine and CX3CR1 are involved in the recruitment of intraepithelial lymphocytes of intrahepatic bile ducts. *Hepatology* 2005; 41: 506-516.
29. Brand S, Hofbauer K, Dambacher J, Schnitzler F, Staudinger T, Pfennig S, et al. Increased expression of the chemokine fractalkine in Crohn's disease and association of the fractalkine receptor T280M polymorphism with a fibrostenosing disease Phenotype. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 99-106.
30. Hulshof S, van Haastert ES, Kuipers HF, van den Elsen PJ, De Groot CJ, van der Valk P, et al. CX3CL1 and CX3CR1 expression in human brain tissue: noninflammatory control versus multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003; 62: 899-907.
31. Echigo T, Hasegawa M, Shimada Y, Takehara K, Sato S. Expression of fractalkine and its receptor, CX3CR1, in atopic dermatitis: possible contribution to skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 940-948.
32. Umehara H, Bloom ET, Okazaki T, Nagano Y, Yoshie O, Imai T. Fractalkine in vascular biology: from basic research to clinical disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 34-40.
- G. 研究発表**
1. 論文発表
- 1) Yasuda M, Ito T, Oono T, Kawabe K, Kaku T, Igarashi H, Nakamura T, Takayanagi T. Fractalkine and TGF- β 1 levels reflect the severity of chronic pancreatitis in humans. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6488-6495.
2. 学会発表
- 1) 安田幹彦, 伊藤鉄英, 大野隆真, 河邊顯, 五十嵐久人, 宜保淳也, 有田好之, 加来豊馬, 中村太一, 高柳涼一: 膵疾患患者における血清中ケモカイン, サイトカインの検討 第94回日本消化器病学会総会 2008年5月8~10日(福岡).
- 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

膵星細胞の細胞外基質より受ける影響

研究報告者 木原 康之 産業医科大学消化器・代謝内科 講師

共同研究者

浅海 洋, 田口雅史, 原田 大 (産業医科大学消化器・代謝内科)

【研究要旨】

慢性膵炎の膵組織は膵実質の脱落、間質への細胞外マトリックス(ECM)の沈着、線維化が特徴的である。慢性膵炎においては、ECMのコンポーネントが変化し、正常膵組織に多く見られるⅣ型コラーゲンではなく、Ⅰ型コラーゲンが主体となり、膵星細胞(pancreatic stellate cell; PSC)を取り囲むECMの変化がPSCに影響を与えることも予想される。今回、ECMコートディッシュにラットPSCを接着、培養し、ECMの差異におけるPSCへの影響を検討した。Ⅳ型コラーゲン培養PSCに比べ、Ⅰ型コラーゲン培養PSCでは、ECM合成、サイトカイン合成が増強するのみならず、サイトカイン受容体の発現も増強した。Ⅰ型コラーゲンは、接着したPSCを刺激し、ECM産生、サイトカイン産生を促し、線維化を進めるのみならず、PSCをより活性化させる可能性が示唆された。

A. 研究目的

慢性膵炎は膵実質の脱落と線維化を特徴とする慢性進行性の疾患であるが、病因や進展機序について不明な部分が多く根本的な治療法もない難治性膵疾患である。1998年に膵線維化の中心的役割を果たす膵星細胞(pancreatic stellate cell; PSC)が分離・同定されてから^{1,2)}、PSCを用いたin vitroの研究を中心に膵線維化進展の機序が解明されつつある。

慢性膵炎では線維化の進展に伴い、膵組織内の細胞外基質(extracellular matrix)の構成が変化し、正常膵ではⅣ型コラーゲンやラミニンが主体であるのに対し、慢性膵炎膵組織においては、Ⅰ型コラーゲンやⅢ型コラーゲンが中心となる³⁾。PSCがECMを合成・分泌することにより膵線維化が進展し、膵組織のECMコンポーネントも変化するが、PSC周囲のECMの変化により接着細胞であるPSCがどのような影響を受けるかについては未だ検討されていない。そこで、今回我々はECMの差異がPSCに与える影響について検討した。

B. 研究方法

Wistar系雄性ラット(200~250g)より膵臓を摘出し、既報に準じて¹⁾PSCを分離・培養

し、2~3系代目を実験に供した。10%牛胎児血清(fetus bovine serum; FBS)加Dulbecco's modified eagle medium (DMEM)で24時間培養後、0.1% FBS加DMEMに培地を変更し、さらに24時間培養した。その後、Ⅰ型コラーゲン、Ⅳ型コラーゲン、フィブロネクチンをコートしたディッシュにPSCを撒き、以下の項目について検討を行った。①インテグリン受容体発現をRT-PCRおよび免疫染色にて、②PSCのECMに対する接着能をadhesion assayにて、③コラーゲン分泌能をSirius red dye assayにて、④ECM・サイトカイン関連遺伝子として、Ⅰ型プロコラーゲン、フィブロネクチン、transforming growth factor (TGF)- β 1, TGF- β II型受容体、PDGF α 及び β 受容体のmRNA発現を定量的RT-PCRにて、⑤Focal adhesion kinase (FAK)活性をWestern blot法にて検討した。

(倫理面への配慮)

本実験は、本学の動物実験および飼育倫理委員会の承認を得、動物愛護の配慮のもとに行った。

C. 研究結果

RT-PCR及び免疫染色にて、遺伝子・蛋白

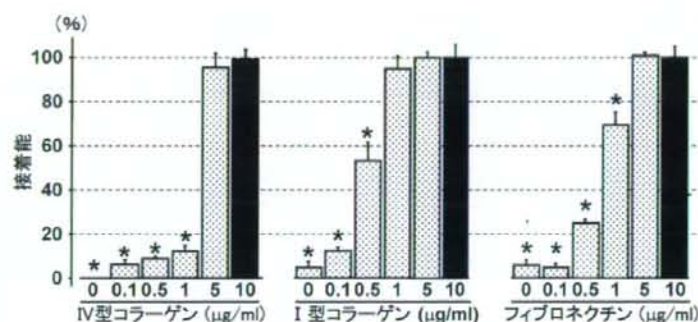


図1 ECMに対するPSCの接着能

各濃度のN型コラーゲン、I型コラーゲン、フィブロネクチンをコートしたペトリディッシュに対するPSCの接着能を、adhesion assayにて検討した(それぞれ10 µg/mlを100%として算出)。平均値±標準偏差, n=6, *P<0.01 vs. 10 µg/ml

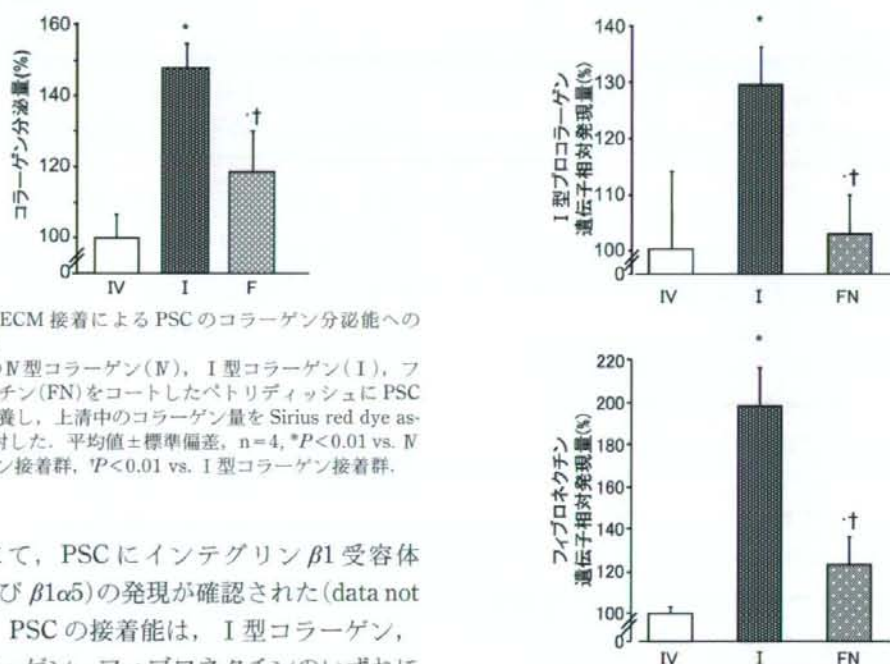


図2 各種ECM接着によるPSCのコラーゲン分泌能への影響

10 µg/mlのN型コラーゲン(N)、I型コラーゲン(I)、フィブロネクチン(FN)をコートしたペトリディッシュにPSCを48時間培養し、上清中のコラーゲン量をSirius red dye assayにて検討した。平均値±標準偏差, n=4, *P<0.01 vs. N型コラーゲン接着群, †P<0.01 vs. I型コラーゲン接着群。

レベルにて、PSCにインテグリンβ1受容体(β1α1及びβ1α5)の発現が確認された(data not shown)。PSCの接着能は、I型コラーゲン、N型コラーゲン、フィブロネクチンのいずれにおいても、ディッシュにコートするECMの濃度に依存し、5~10 µg/mlで接着能は平衡に達した(図1)。

I型コラーゲンコートディッシュ(10 µg/ml)にて培養したPSCでは、N型コラーゲン及び、フィブロネクチンと比較して、上清中のコラーゲン量が増加し、I型プロコラーゲン及びフィブロネクチンの遺伝子発現が増強した(図2, 3)。一方、TGF-β1、TGF-β II型受容体、PDGF α及びβ受容体の遺伝子発現は、I型コラーゲンコートディッシュ培養PSCのみならず、フィブロネクチンコートディッシュ培養PSCにおいてもN型コラーゲンコートデ

図3 各種ECM接着によるPSCのECM関連遺伝子発現への影響

10 µg/mlのN型コラーゲン(N)、I型コラーゲン(I)、フィブロネクチン(FN)をコートしたペトリディッシュにPSCを24時間培養し、定量的RT-PCR法にて、I型プロコラーゲンおよびフィブロネクチンの遺伝子発現量を検討した。平均値±標準偏差, n=4, *P<0.01 vs. N型コラーゲン接着群, †P<0.01 vs. I型コラーゲン接着群。

ィッシュ培養PSCと比較して有意に増強された(図4)。

インテグリン受容体刺激において重要なシグナルとして知られるFAKは、I型コラーゲン接着1時間後に有意にリン酸化された(図5A)。PSCの各ECMへの接着におけるリン酸化

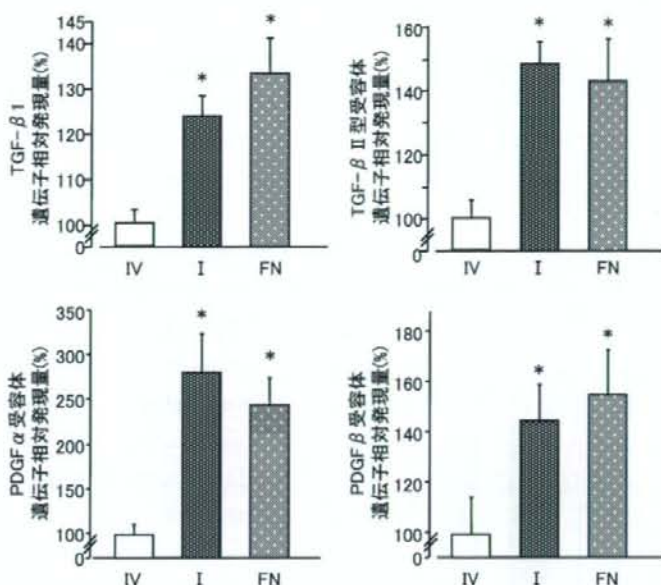


図4 各種ECM接着によるPSCのサイトカイン・サイトカイン受容体関連遺伝子発現への影響
 10 μ g/mlのN型コラーゲン(IV), I型コラーゲン(I), フィブロネクチン(FN)をコートしたペトリディッシュにPSCを24時間培養し, 定量的RT-PCR法にてTGF- β 1, TGF- β II型受容体, PDGF α 及び β 受容体の遺伝子発現量を検討した. 平均値 \pm 標準偏差, n=4, * P <0.01 vs. N型コラーゲン接着群.

FAKの発現はsuspensionと比較して, I型コラーゲン, N型コラーゲン, フィブロネクチンのいずれも接着1時間後には有意に増加したが, I型コラーゲンあるいはフィブロネクチン接着において, N型コラーゲン接着と比較して有意に増加された(図5B).

D. 考察

PSCはECMとの接着において最も重要な受容体のひとつであるインテグリン β 1受容体ファミリーを有していた. 本研究と同様に, 近年PSCにインテグリン β 1受容体ファミリーの発現を認めると報告されている⁴⁾. またFAKのリン酸化も認められたことから, これを介してECMに接着すると考えられた. コラーゲン分泌量及びECM関連遺伝子(I型プロコラーゲン, フィブロネクチン)発現は, PSCの接着するECMによって有意に差が認められ, I型コラーゲン>フィブロネクチン>N型コラーゲンであった. 一方, サイトカイン関連遺伝子(TGF- β 1, TGF- β II型受容体, PDGF α 及び β 受容体)は, I型コラーゲン \approx フィブロネクチン>N型コラーゲンの順であり,

FAKの活性化もこれに似ていた. 今回, I型コラーゲンはPSCのECM合成, サイトカイン・受容体合成の両者, フィブロネクチンはサイトカイン・受容体の合成をそれぞれ促進する可能性が示唆された.

PSCと遺伝子相同性の高い肝星細胞においては, フィブロネクチンと競合して β 1 α 5インテグリン受容体に結合するArg-Gly-Asp(RGD)配列のペプチドが, 四塩化炭素慢性肝障害モデルにおける肝線維化を抑制したという報告もあり⁵⁾, 肝線維化においても, PSCのI型コラーゲンやフィブロネクチンへの接着を阻害することで, PSCの活性化を抑制するなど肝線維化に対する治療に繋がる可能性がある.

なお, PSCのそれぞれのECMへの接着によるECM合成における差異はFAK活性化の結果とも異なっており, インテグリン受容体におけるもうひとつの重要なシグナルであるintegrin linked kinase (ILK)への影響などを含めた今後のさらなる検討が必要である.

E. 結論

慢性膵炎の線維化膵において認められる

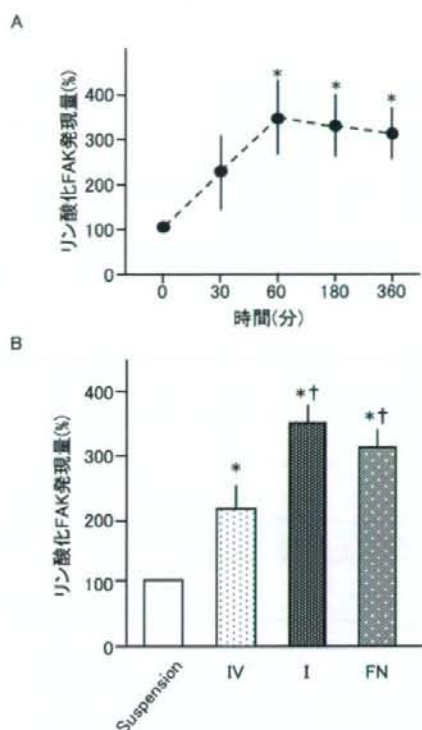


図5 PSCのECM接着によるFAK活性化へ与える影響
 A) 10 µg/mlのI型コラーゲンをコートしたペトリディッシュにPSCを接着させ、0分、30分、60分、180分、360分培養後のFAKのリン酸化をWestern blot法にて検討した。
 B) 10 µg/mlのN型コラーゲン(N)、I型コラーゲン(I)、フィブロネクチン(FN)をそれぞれコートしたペトリディッシュにPSCを接着させ60分培養後のFAKのリン酸化をWestern blot法にて検討した。平均値±標準偏差、n=4、* $P < 0.05$ vs. 0分(suspension), † $P < 0.05$ vs. N型コラーゲン接着群。

ECMによって、PSCがより活性化され、腭線維化を進展する可能性がある。

F. 参考文献

1. Apte MV, Haber PS, Applegate TJ, Norton ID, McCaughan GW, Korsten MA, Pirola RC, Wilson JS. Periampullar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut* 1998; 43: 128-133.
2. Bachem M, Schneider E, Grob H, Weidenbach H, Schmid RM, Menke A, et al. Identification, culture and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology* 1998; 115: 421-432.
3. Kennedy RH, Bockman DE, Uscanga L, Choux R, Grimaud JA, Sarles H. Pancreatic extracellu-

lar matrix alterations in chronic pancreatitis. *Pancreas* 1987; 2: 61-72.

4. Masamune A, Kikuta K, Watanabe T, Satoh K, Hirota M, Hamada S, Shimosegawa T. Fibrinogen induces cytokine and collagen production in pancreatic stellate cells. *Gut* 2008; Epub ahead of print.
5. Kotoh K, Nakamuta M, Kohjima M, Fukushima M, Morizono S, Kobayashi N, Enjoji M, Nawata H. Arg-Gly-Asp (RGD) peptide ameliorates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis via inhibition of collagen production and acceleration of collagenase activity. *Int J Mol Med* 2004; 14: 1049-1053.

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表

Asami H, Watanabe S, Taguchi M, Kihara M and Otsuki M. The stimulatory effects of various extracellular matrix on rat pancreatic stellate cells. Joint meeting of the European Pancreatic Club and the International Association of Pancreatology. Lodz, POLAND. 2008年6月25~28日

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許所得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

膵機能低下と NAFLD および NASH の発生機序に関する研究

研究報告者 伊佐地秀司 三重大学大学院肝胆膵・移植外科学 教授

共同研究者

加藤宏之, 堯天一亨, 小西康信, 安積良紀, 岸和田昌之, 水野修吾, 臼井正信,
櫻井洋至, 田端正己 (三重大学大学院肝胆膵・移植外科学)

【研究要旨】

目的: 我々は未だ明らかにされていない膵切除後の膵機能低下と非アルコール性脂肪肝 (NAFLD) および非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) 発生との因果関係を解明する目的で、膵頭十二指腸後の症例を対象とした臨床研究を行った。

対象: 2007年4月から2008年10月までに、当科にて施行した PD 症例34例 (膵癌27例, IPMN13例, 胆管癌7例, その他7例) を対象とした。なお、術前から NAFLD を呈していた症例は1例もなかった。

方法: 術後 CT 値が 40 HU 以下となった症例を手術に関連した NAFLD (術後 NAFLD) と定義した。周術期の既知の様々な独立因子から NAFLD の危険因子を同定、これをもとに Postoperative NAFLD scoring system を考案し、その有用性を検討した。

結果: Postoperative NAFLD は 35.3% (12/34) で発症し、うち2例は肝生検にて NASH と診断された。術前後における CT 値は術前 62.4 ± 8.02 、術後 43.9 ± 20.7 と有意に低下していた ($p < 0.001$)。危険因子としては単変量解析で1.膵管上皮由来病変か否か、2.膵切除量、3.術後栄養状態、4.術後下痢の有無、5.術後血糖コントロールが危険因子として挙げられた。この結果をもとに Postoperative NAFLD scoring system ($2 \times 5 = 10$) を策定し術後 CT 値減少率 (%) との関係を見ると有意な相関関係を示し ($r = 0.8497$ $p < 0.001$)、Score が6点以上では92% (11/12) で NAFLD が発生した。

結語: NAFLD は PD 術後比較的高率に発生し、NASH へと移行する症例も認められた。また NAFLD の発生予測には我々が考案した scoring system が有用であった。

A. 研究目的

我々は膵広範切除後に、術後早期から晩期にわたって30%前後の割合で脂肪肝が発生することを明らかにしている^{1,2)}。しかし、これまで脂肪肝の発生機序が不明な上に確固たる治療法がないために、この臨床上重要な課題は放置されてきた。また最近、我々は膵頭十二指腸切除後1ヶ月目に肝生検にて NASH と診断し得た1例を経験した(図1ab)。

そこで膵機能低下と NAFLD および NASH 発生との因果関係を解明する目的で、まず臨床的に膵切除後、特に膵頭十二指腸切除後の症例を対象とした研究を開始したので、その中間結果を報告する。

B. 研究方法

対象: 2007年4月から2008年10月までに当科にて施行した膵頭十二指腸切除症例34例(平均年齢67.15歳、男:女=25:9、膵癌16例、IPMN9例、胆管癌3例、その他9例)を対象とした。

方法: 術前後の CT 値を比較し、術後 CT 値が 40 HU 以下となった症例を手術に関連した NAFLD (術後 NAFLD) と定義した。術前因子(年齢、性別、術前 BMI、術前糖尿病の有無、術前貧血の有無、術前肝機能障害の有無、原疾患)、術中因子(幽門輪温存の有無、門脈合切の有無、膵頭神経叢温存の有無、膵線維化の有無、膵切除量)、術後因子(術後栄養状態、術後感染の有無、術後血糖コントロール、術後 ALB 値、術後 Hb 値)から術後 NAFLD の危険

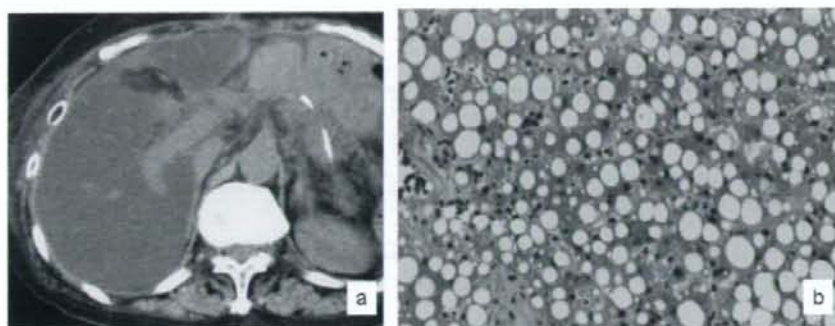


図1 a: IPMN に対して幽門輪温存脾頭十二指腸切除を施行したところ術後32日目 CT にて高度脂肪肝(4 HU)を指摘された。b: 肝機能異常(AST: 432 IU/l ALT: 306 IU/l)を認めたため肝生検を施行したところ Brunt 分類 stage2 の MASH と診断された。

因子を同定した。これらをもとに術後 NAFLD の発生を予測することを目的として Postoperative NAFLD scoring system を策定し、score と CT 値減少率(%) : (術前 CT 値 - 術後 CT 値) / 術前 CT 値 \times 100 との相関関係を検討した。2 群間の検定には t 検定もしくは X^2 検定、関連 2 群間の相関関係は相関係数の検定を用い $p < 0.05$ で有意差ありと判定した。

C. 研究結果

術後 NAFLD の発生率は 35.3% (12/34) と比較的高率であった。極度に CT 値が減少した症例もしくは肝機能異常 (AST \geq 100 IU/l, ALT \geq 100 IU/l) を認めた 4 症例に肝生検が施行されており 2 例で brunt 分類 stage2 の NASH と診断された。

また術前後における CT 値の平均を比較すると、術前は 62.4 ± 8.02 HU であったのに対し、術後は 43.9 ± 20.7 HU と有意に低下していた ($p < 0.001$) (図 2)。

CT 値減少率の平均は $31.3 \pm 34.2\%$ であり CT 値減少率 40% 以上の症例と術後 NAFLD の症例 (術後 CT 値 40 HU 以下) は完全に一致していた。危険因子としては単変量解析で 1. 膵管上皮由来病変か否か、2. 膵切除量、3. 術後栄養状態、4. 術後下痢の有無、5. 術後血糖コントロールの 5 項目が挙げられた (Table 1)。

さらに、これらの 5 項目から Postoperative NAFLD scoring system ($2 \times 5 = 10$) を策定してみた (図 3)。まず膵管上皮由来病変か否かについては浸潤性膵管癌、膵管内乳頭状腫瘍

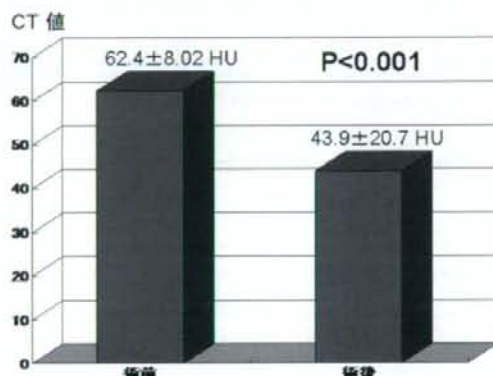


図2 術前後における CT 値を比較すると、術前は 62.4 ± 8.02 HU であったのに対し、術後は 43.9 ± 20.7 HU と有意に低下していた

Table 1 術後 NAFLD の危険因子 (χ^2 検定)

NAFLD 危険因子	ODD 比	P 値
原疾患膵管由来 or not	7.2	0.0489
膵切除量	19	0.0013
術後栄養状態	42	0.0004
術後下痢	31.2	0.0003
術後血糖コントロール	13.2	0.0225

(IPMN) を 2 点とし、胆管癌などの非膵管上皮由来の症例は 0 点とした。次に膵切除量に関しては門脈上で膵切除した場合 (切除率 $< 25\%$) を 0 点、SMA 直上で膵切除した場合 (切除率 $25 \sim 50\%$) を 1 点、SMA より左側で膵切除した場合 (切除率 $\geq 50\%$) を 2 点と設定した。術後栄養状態に関しては、当科では通常術後 10 日目で静脈栄養フリーとなるが、なんらかの摂食障害 (胃排泄遅延、術後食欲不振) が原因で静脈栄養を継続または再開しなければなら

	0	1	2
原疾患	それ以外	*	膵管由来
膵切除量 (膵切離線)	25%以下 門脈上	25~50% SMA上	50%以上 SMA左側or DP併施
術後栄養状態	良好	やや不良*	周術期を越えて 不良
術後下痢	無し	有り**	周術期を 越えて継続
術後血糖 コントロール	良好	やや不良***	周術期を越えて インスリン が必要

図3 Postoperative NAFLD scoring system

*術後30日以内に摂食障害、胃排遅延などが原因で予期せぬ静脈栄養を必要とした症例

**術後30日以内に下痢が原因で治療が必要であった症例

***術後8~30日間インスリンによる管理が必要であった症例(0~7日は routine でインスリン使用)

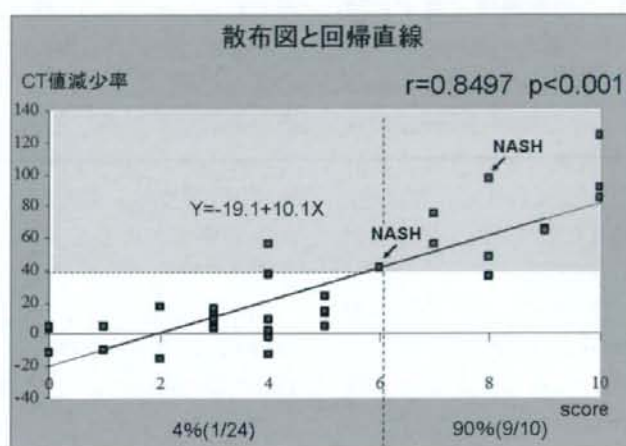


図4 Postoperative NAFLD scoring system (2×5点)とCT値減少率の関係

CT値減少率(%) = (術前CT値 - 術後CT値 / 術前CT値) × 100

CT値減少率: 40% ≡ 術後CT値: 40 HU

い症例を1点、術後30日を越えても摂食障害が継続して静脈栄養が必要な症例を2点とした。術後下痢に関しては、下痢が発生しなかった症例(治療の必要がなかった症例)は0点、術後30日以内に下痢に対する治療が必要であった症例は1点、術後30日を越えても下痢のコントロールが不良であった症例は2点とした。術後血糖コントロールに関しては当科では術後7日以内は全症例でインスリンによる血糖コントロールを施行しているがコントロールが良好な症例は7日目以降、インスリンフリーとしている。したがって術後7日間のみインスリンコントロールを施行した症例は0点、7日目以降もインスリンコントロールが必要であった症例は1点、30日を越えてもイン

スリンコントロールが必要であった症例は2点とした。

Postoperative NAFLD scoreの平均値は4.85 ± 3.04で術後CT値減少率(%)との関係を見ると有意な正の相関関係を示していた($r=0.8497$ $p<0.001$) (図4)。さらにScoreのcut off値を6点とすると6点以上では92%(11/12)で術後NAFLDが発生し、6点以下では術後NAFLDの発生は4.5%(1/22)にとどまった(図4)。

D. 考察

戦後の日本の食生活の変化にともない、糖尿病や高脂血症などの生活習慣病が急増しているが、脂肪肝の増加も報告されている³⁾。

一方、非アルコール性脂肪肝炎(nonalcohol-

ic steatohepatitis: NASH)は1980年にLudwigらが提唱した概念で、非飲酒者にもかかわらず、アルコール性肝炎に類似した病理所見を認め、進行性に肝硬変から肝不全に至ることもあるとされている^{4,5)}。また欧米では肝障害を有する非飲酒の脂肪肝症例に対して、侵襲的検査である肝生検を敢えて施行せずにNAFLD (nonalcoholic fatty liver disease)という臨床診断を下すことがあり、日本でもその疾患概念は定着しつつある。

このようにNAFLD及びNASHの疾患概念は近年、注目を集めているが、膵機能低下とNAFLDおよびNASHの発生機序に関する報告及び研究はほとんどなされていないのが現状である。我々は以前より膵広範切除後に、膵内外分泌機能が低下することが原因で術後早期から晩期にわたって30%前後の割合で脂肪肝が発生することを明らかにしており^{1,2)}、Tanakaらは近年、膵外分泌機能不全が原因で発症したNASHの1例を報告している⁶⁾。

しかし、膵切除後膵機能低下に伴うNAFLDおよびNASHの発生機序は未だ不明であり、一度発症すると確立された治療法もないのが現状である。またNAFLDの中でも進行性のNASHを発症した場合は極めて嚴重なfollow upが必要であると考えられる。したがって膵切除後NAFLD及びNASHの危険因子を同定し発症を予測することが必要不可欠であると考え我々は当研究を開始した。

今回の研究で術後NAFLDの危険因子として1.膵管上皮由来病変か否か、2.膵切除量、3.術後栄養状態、4.術後下痢の有無、5.術後血糖コントロールの5項目が挙げられた。まず原疾患に関しては膵管癌もしくはIPMNが主な膵管上皮由来病変であるが、何れも主病変が膵管を閉塞させることにより慢性膵炎を引き起こし、これが引き金となって膵内外分泌能を低下させることがNAFLD発生の一因となると我々は考えている。さらにこれらの疾患は膵管に沿って病変が進展する性格を持つことから、広範膵切除つまり膵切除量の増加につながるものと考えられた。術後栄養状態に関しては膵切除後、特に膵頭十二指腸切除後は複雑な消

化管再建が加わり、胃排泄遅延などが発症する可能性も他の消化管手術に比べて高いことが知られている。したがって術後摂食障害が遷延し、低栄養状態、低蛋白血症が継続するとクワシオルコルと同様のdietary steatohepatitisを発症するものと考えられる。術後下痢に関しては術後抗生剤投与に伴う偽膜性腸炎、膵周囲神経叢郭清に伴う神経性下痢が主な要因であり、これらが持続すると腸粘膜の萎縮が起こりbacterial translocationが誘発される。これに伴い系門脈的にエンドトキシンが肝に流入しKupper細胞が活性化され、脂肪の取り込みの増大につながるものと我々は考えている。また術後血糖についても耐糖能異常から尿中の亜鉛濃度が上昇しこれに伴う亜鉛欠乏が原因で腸粘膜の萎縮を来すことが一因ではないかと考えている⁷⁾。これらの危険因子が複雑に重なり合うことで膵切除、特に膵頭十二指腸切除が他の消化管手術に比して高率に術後NAFLDを発症させていることが本研究から推測される。

これらの危険因子を総合的に評価し術後NAFLDの発生を予測もしくは予防する目的で我々はPostoperative NAFLD scoring systemを考案した。ScoreとCT値減少率の関係をみると、これらは極めて強い正の相関関係を示すことが分かった。さらにscoreのcut off値を6点とすると感度91.7%、特異度95.5%、正診率94.1%であり術後NAFLD発生を予測するに当たって極めて有用なscoreであることが確認された。

これらの結果から膵癌もしくはIPMNに対して大量膵切除(SMA左側で膵切離)を行い、術後低栄養、下痢、血糖コントロール不良が続くような症例では術後高率にNAFLDもしくはNASHを発症する可能性があるため、積極的な膵内外分泌補充療法が必要であると我々は考えている。術後NAFLDの治療に関しては確立されたstrategyはないものの、術後早期よりインスリン補充療法を行うことで脂肪肝の発生率を低下させるという報告⁸⁾や経腸栄養を経静脈栄養と併施して栄養管理を行ったほうが脂肪肝の発生を抑制できたという報告⁹⁾も認められるため、このような栄養管理は積極的に行うべ