

図4 生理的条件下のCtsD f^{-/-};Spink3 cre の膵臓

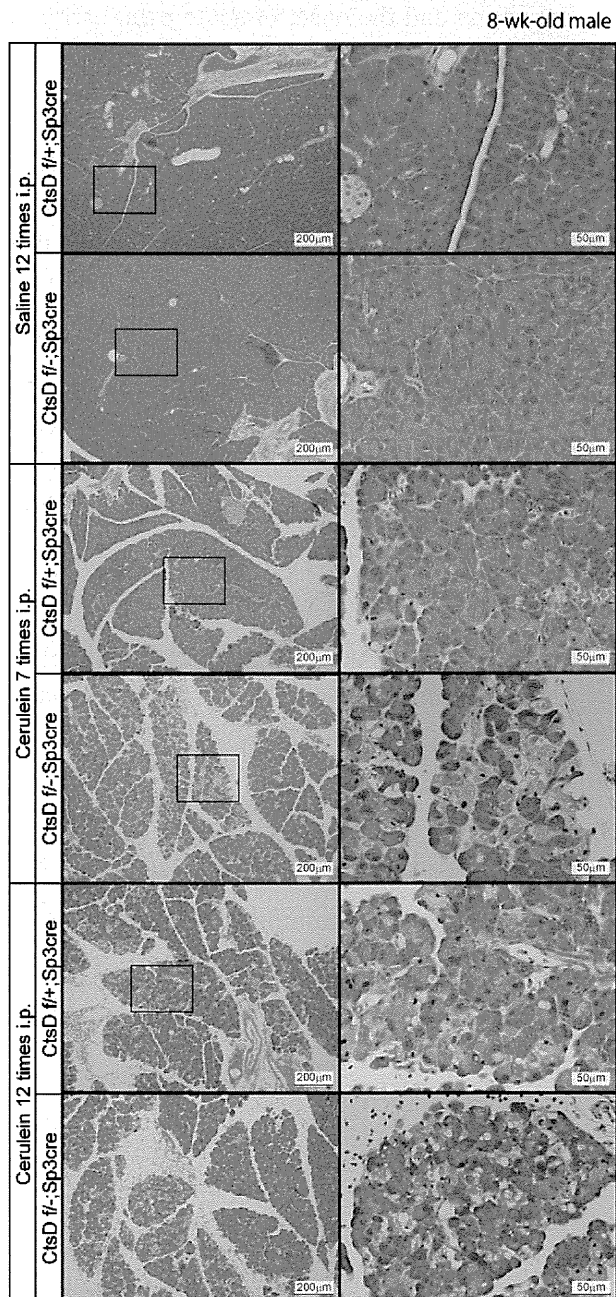


図5 セルレイン膵炎のHE

が、野生型よりも有意に高かった(図6). また血清アミラーゼ活性も高値であった(図6). つまりカテプシンD欠損マウスは野生型と比較して、膵炎が重症化した.

4. カテプシンLの不活性化がみられる

その原因を明らかにするために、カテプシンB及びLのウエスタンブロッティングを行っ

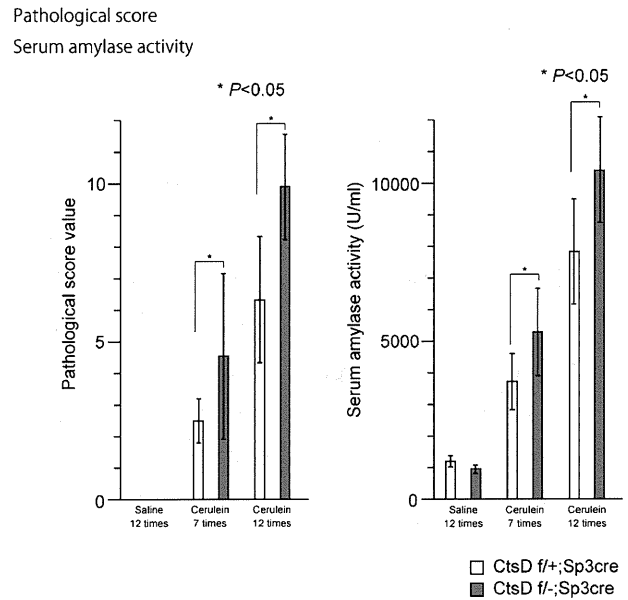


図6 セルレイン膵炎の病理スコアと血清アミラーゼ活性

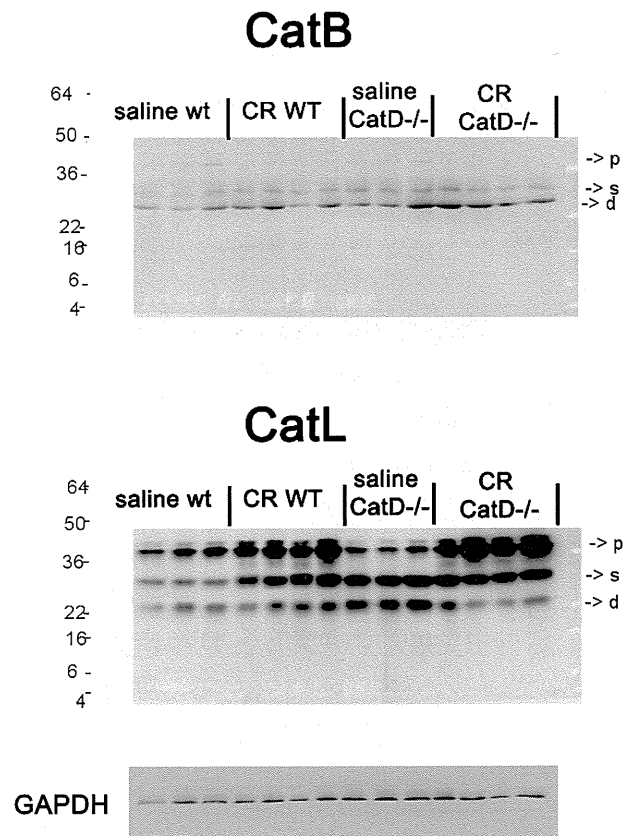


図7 カテプシンB, Lのウエスタンブロッティング

たところ、カテプシンLの活性化が抑制されていることが明らかになった(図7)。カテプシンLはトリプシノーゲン及びトリプシンの両方を不活化するとされている。つまり、カテプシンDの欠損によって、カテプシンLの活性化が抑制された結果、膵炎が重症化する可能性が示唆された。そのため、野生型マウスとCtsD f/-; Spink3-cre の膵内トリプシン活性を測定したが、(測定手技が未熟であったため)標準偏差が大きく、有意な差はみられなかった。

D. 考察

カテプシンDはアスパラギン酸を活性中心に持つアスパラギン酸プロテアーゼの一つであり、細胞内では基本的にリソソーム内に局在する哺乳類においてほぼ全ての細胞で発現しており、タンパク分解のほかアポトーシスやオートファジー進行過程に関わっている。また、癌やアルツハイマー症候群、神経性セロイド様リポフスチン蓄積症などの病態症状とも関わりが深いことが報告されている。

カテプシンDは粗面小胞体において1本鎖ポリペプチドの前駆体プレプロカテプシンDとして合成される。その後、シグナルペプチドが分離され52 kDaのプロカテプシンDとなり、糖鎖付加などの翻訳後修飾を経てマンノース-6-リン酸経路によりエンドソーム/リソソーム系へと運ばれる。その後、プロペプチドが切り離され、48 kDaの活性型中間体が形成される。この中間体形成はカテプシンD自身による自己触媒作用によるものではなく、カテプシンBやLなど他のシステインプロテアーゼの関与が報告されている。今回樹立したCtsD f/-; Spink3-cre マウスの膵臓ではRNAの発現でカテプシンLの発現上昇、蛋白レベルでは同じくカテプシンLの前駆体から活性型への活性化が障害されていることが明らかとなった。特にカテプシンLとDは密接な関係を持っていることを示唆している。膵炎におけるトリプシン活性では手技的な問題から有意な差が得られず、さらなる解析が必要である。

E. 結論

カテプシンDはカテプシンLの活性化を介して、膵炎の発症並びに重症化の抑制に積極的に関与している可能性がある。

F. 参考文献

1. Steer ML, Meldolesi J, Figarella C. Pancreatitis. The role of lysosomes. *Digestive Diseases and Sciences* 1984; 29: 934-8.
2. Halangk W, Lerch MM, Brandt-Nedelev B, Roth W, Ruthenbueger M, Reinheckel T, Domschke W, Lippert H, Peters C, Deussing J. Role of cathepsin B in intracellular trypsinogen activation and the onset of acute pancreatitis. *J Clin Invest* 2000; 106: 773-81.
3. Mareninova OA, Hermann K, French SW, O'Konski MS, Pandol SJ, Webster P, Erickson AH, Katunuma N, Gorelick FS, Gukovsky I, Gukovskaya AS. Impaired autophagic flux mediates acinar cell vacuole formation and trypsinogen activation in rodent models of acute pancreatitis. *J Clin Invest* 2009; 119: 3340-55.
4. Wartmann T, Mayerle J, Kahne T, Sahin-Toth M, Ruthenburger M, Matthias R, Kruse A, Reinheckel T, Peters C, Weiss FU, Sendler M, Lippert H, Schulz HU, Aghdassi A, Dummer A, Teller S, Halangk W, Lerch MM. Cathepsin L inactivates human trypsinogen, whereas cathepsin L-deletion reduces the severity of pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 2010; 138: 726-37.

G. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Ohmuraya M, Yamamura K. The roles of serine protease inhibitor Kazal type 1 (SPINK1) in pancreatic diseases. *Exp Anim* 2011; 60: 433-44.
2. 学会発表
 - 1) 大村谷昌樹, 廣田昌彦. X染色体不活性化による遺伝子改変慢性膵炎モデルマウスの樹立. 第42回日本膵臓学会大会. 青森県弘前市. 2011年7月29-30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

急性膵炎初期像を模倣するモデル動物 IRF2KO マウスにおける膵再生，線維化，更なる膵炎刺激に対する反応性の検討

研究報告者 大西洋英 秋田大学大学院医学系研究科消化器内科 教授

共同研究者

真嶋浩聡（秋田大学大学院医学系研究科消化器内科）

【研究要旨】

IRF2KO マウスは急性膵炎初期のモデルマウスである。このマウスを用いて，急性膵炎・膵線維化のメカニズムの解明に挑むことは challenging である。

A. 研究目的

インターフェロン制御因子 2 (IRF2) KO マウスの膵腺房細胞では頂端側細胞膜上に存在する t-SNARE 蛋白に変異が生じる結果，調節性外分泌障害が起こり，細胞内に酵素顆粒が充満し，オートファジーや細胞内でのトリプシン活性化がおこることを我々は明らかにした¹⁾。このマウスの膵臓は HE 染色でみる限り，浮腫，出血，壊死，好中球浸潤などは明らかではなく，急性膵炎のごく初期の状態を模倣しているのではないかと考えている。恒常的に急性膵炎の初期像を維持しているこのマウスの膵臓に線維化が生じるかどうかは，急性膵炎の反復により生じる慢性膵炎の線維化のメカニズムを考える上で重要である。そこで，今回我々はこのマウスにおける膵再生，線維化の有無，さらには新たに実験的膵炎刺激を加えた場合の反応性を検討した。

B. 研究方法

1. 抗 PCNA 抗体，抗 Sox9 抗体を用いた免疫組織学的検討。
2. 抗 SMA 抗体染色による膵星細胞の活性化およびシリウスレッド染色による線維化の検討。
3. *Irf2*^{+/-}，*Irf2*^{-/-} マウスにセルレイン膵炎を誘発し（50 μ g/kg/h ip, 12回, n=6-7, コントロール群には生理食塩水 (NS) を投与），組織学的変化（0：なし，1：軽症，2：中等症，3：重症の 4 段階で評価），血清アミラーゼ値，

表 1 セルレイン膵炎における組織学的評価

	浮腫	出血	好中球浸潤	壊死	
<i>Irf2</i> ^{+/-}					
Ns	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	(n=7)
Ce	0.86 \pm 0.38	0.14 \pm 0.38	0.86 \pm 0.38	1.28 \pm 0.49	(n=7)
<i>Irf2</i> ^{-/-}					
Ns	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	(n=6)
Ce	1.17 \pm 0.41	0 \pm 0	1.33 \pm 0.52	0 \pm 0*	(n=6)

浮腫，出血，好中球浸潤，壊死の各項目を 0：なし，1：軽症，2：中等症，3：重症の 4 段階で評価した（平均 \pm 標準偏差，*： p <0.05）。

オートファジー，トリプシンの活性化の検討。

動物実験はすべて，秋田大学バイオサイエンス安全委員会の承認を受け（承認番号 1-2019, a-1-2322），秋田大学動物実験規程に基づき施行した。

C. 研究結果

1. コントロールマウス *Irf2*^{+/-} の膵臓には PCNA 陽性，Sox9 陽性となる細胞をほとんど認めなかったが，*Irf2*^{-/-} マウスの膵臓には多くの陽性細胞を認めた。
2. *Irf2*^{+/-}，*Irf2*^{-/-} マウスの膵臓には活性化した膵星細胞や線維化は認めなかった。外見では区別つかないが，約数%の割合で著明な好中球浸潤を認める *Irf2*^{-/-} マウスが存在するが，そのような膵臓であっても星細胞の活性化や線維化はほとんどみられなかった。さらにその約 1/10 の頻度で，ほとんど成長せず早期に死んでしまう *Irf2*^{-/-} マウスが存在するが，そのマ

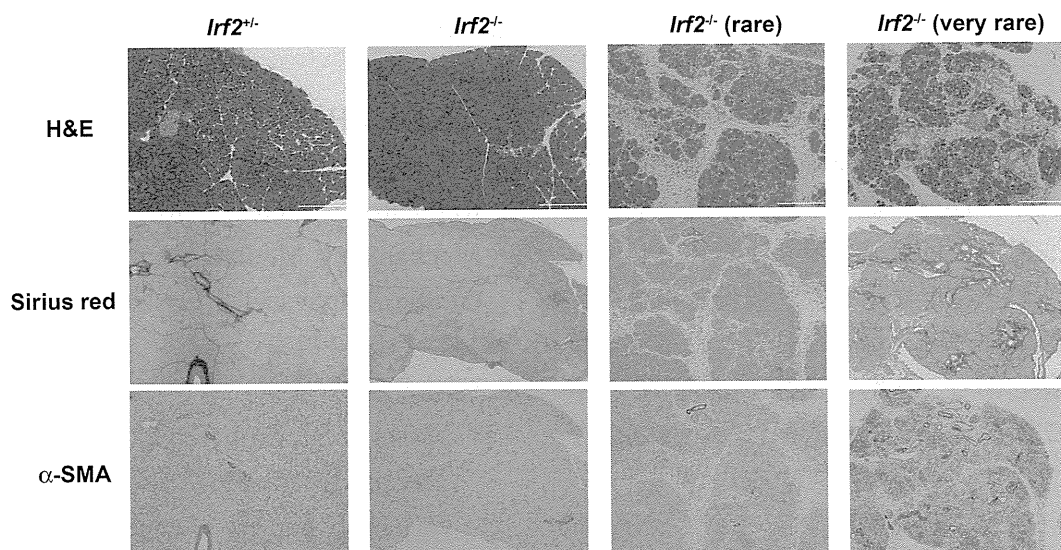


図1 *Irf2*^{+/-}, *Irf2*^{-/-} マウスの膵臓のHE, シリウスレッド染色, 抗 smooth muscle actin 抗体による免疫組織染色像 (Bar = 200 μm).

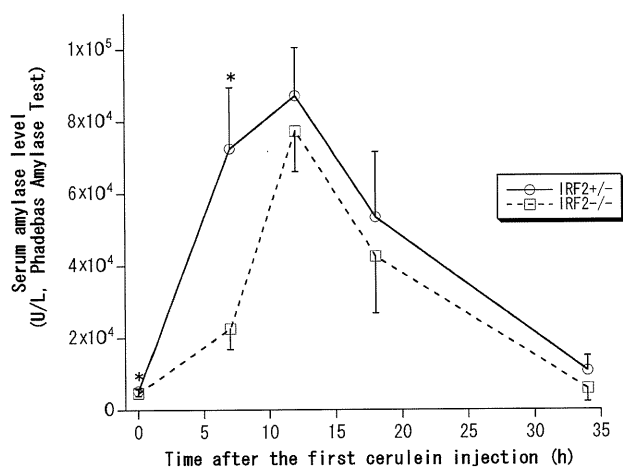


図2 セルレイン膵炎における *Irf2*^{+/-}, *Irf2*^{-/-} マウスの血清アミラーゼ値の経時的変化 (平均±標準偏差, n=3, *: $p < 0.05$)

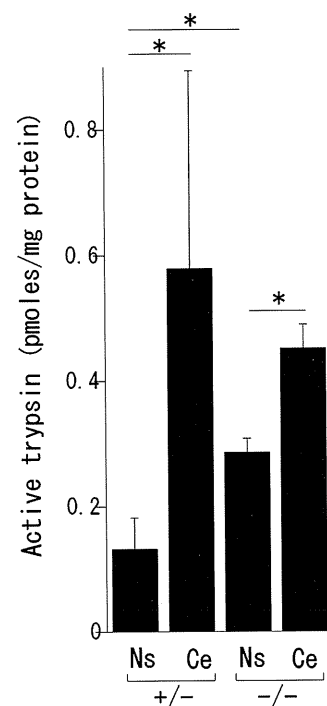


図3 セルレイン膵炎における *Irf2*^{+/-}, *Irf2*^{-/-} マウス膵の活性化トリプシン値の比較 (最終投与後1時間値, 平均±標準偏差, n=6-7, *: $p < 0.05$)

マウスの膵臓では, 著明な好中球の浸潤と線維化を伴っていた(図1).

3. オートファジーや細胞内トリプシンの活性化状態が持続している *Irf2*^{-/-} マウスに更なるセルレイン膵炎刺激を加え, その反応を *Irf2*^{+/-} マウスと比較検討した. 浮腫や好中球浸潤の程度は *Irf2*^{-/-} マウスの方が若干強い傾向がみられたが, 壊死は有意差をもって *Irf2*^{-/-} マウスが軽度であった. 血清アミラーゼ値の推移(図2)や細胞内トリプシンの活性化(図3)も *Irf2*^{-/-} マウスの方が軽度であった.

D. 考察

Irf2^{-/-} マウスの膵臓では, 急性膵炎の初期

像が持続するために再生や脱分化が亢進していると考えられる. しかし, オートファジーの亢進や細胞内トリプシン活性化が持続するのみでは, 膵星細胞の活性化や線維化はみられなかった. *Irf2*^{-/-} マウスの約数%にみられる好中球浸潤を伴う膵臓には線維化を認めず, 成長障害を伴い早期に死に至るマウスには線維化を認めた. この差が何に由来するのか, 時間経過を追いながら詳細な検討を積むことは膵線維化の発

症の解明に大きなヒントを与えてくれるもの
と考える。

Irf2^{-/-} マウスにさらなるセルレイン刺激を
加えると、膵の浮腫や好中球浸潤は増悪する傾
向にあったが、壊死や血清アミラーゼ、活性化
トリプシン値などは低値を示し、全体としてみ
ると、軽度の抵抗性を示した。急性膵炎が発症
し炎症が波及する時、様々な独立した事象が複
合的に関係しあって病勢が進行するが、その中
に IRF2 に依存する経路と依存しない経路が存
在するのではないかと考えている。

Irf2^{-/-} マウスの膵臓において、t-SNARE
の変異により調節性外分泌障害が生じる。ウエ
スタンブロットや免疫染色では確かに頂端側細
胞膜上の存在する t-SNARE 蛋白は減少または
消失している。しかし、real-time PCR におい
て mRNA レベルをみると *Irf2*^{-/-} マウスの膵
腺房細胞では逆に増加している¹⁾。IRF2 は転
写因子であり、その機能は主に転写抑制因子と
しての働きであるが t-SNARE 蛋白質の転写を
直接制御している訳ではなく、primary target
は他に存在するものと考えられる。急性膵炎発
症のメカニズムを解明する上で、その primary
target を明らかにすることが急務であると共
に、このマウスに線維化が生じたり、生じな
かったりするのはなぜかを今後は検討してゆく必
要がある。

E. 結論

急性膵炎の初期像を模倣するモデル *Irf2*^{-/-}
マウスの膵臓では再生が高じているが、線維化
を基本的には生じなかった。更なるセルレイン
膵炎刺激に対しては軽度の抵抗性を示した。

F. 参考文献

1. Mashima H, Sato T, Horie Y, Nakagawa Y, Kojima I, Ohteki T, Ohnishi H. Interferon Regulatory Factor-2 Regulates Exocytosis Mechanisms Mediated by SNAREs in Pancreatic Acinar Cells. *Gastroenterology* 2011; 141: 1102-1113.

G. 研究発表

1. 論文発表

Mashima H, Sato T, Horie Y, Nakagawa Y, Kojima I, Ohteki T, Ohnishi H. Interferon Regulatory Factor-2 Regulates Exocytosis Mechanisms Mediated by SNAREs in Pancreatic Acinar Cells. *Gastroenterology* 2011; 141: 1102-1113.

2. 学会発表

- 1) Mashima H, Sato T, Ohteki T, Ohnishi H. The pancreas of *Irf2*^{-/-} mice presented a very early feature of acute pancreatitis and a milder response in cerulein-induced pancreatitis. DDW2011, Chicago, 2011.5.7-10.
- 2) 真嶋浩聡, 大西洋英. *Irf2*^{-/-} 膵は急性膵炎早期のモデルであり、実験的膵炎に対しては耐性を示す(ワークショップ: 膵の炎症と線維化研究の最近の進歩). 第42回日本膵臓学会大会. 弘前. 2011.7.29-30.
- 3) 真嶋浩聡, 大西洋英. 急性膵炎初期像を模倣するモデル動物 IRF2KO マウスにおける膵再生及び線維化の解析(ワークショップ: 膵の再生と線維化—progenitor cell・stellate cellの役割—). 第53回日本消化器病学会大会. 福岡. 2011.10.20-23.
- 4) 真嶋浩聡, 大西洋英. IRF2 は膵調節性外分泌に重要な役割を果たし、急性膵炎モデル IRF2KO マウスを用いて膵炎発症の分子メカニズムの解明を目指す. 第19回浜名湖シンポジウム. 浜松. 2011.12.23-24.

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

急性膵炎の発症とその重症化における分子機序の解明

研究報告者 太田哲生 金沢大学医薬保健研究域医学系がん局所制御学 教授

共同研究者

林 泰寛（金沢大学医薬保健研究域医学系がん局所制御学），古河浩之（金沢大学医薬保健研究域医学系がん局所制御学）
宮下智治（金沢大学附属病院集中治療部）

【研究要旨】

急性膵炎は他臓器疾患を誘因として発症することがあり，その後の管理や原疾患の治療に難渋することが経験される．我々の施設において劇症肝炎を基礎疾患として急性膵炎を発症し，肝移植を施行し得なかった症例が経験された．劇症肝炎を背景とする急性膵炎は，少なからぬ頻度が報告されており，その発症の機序に肝からの HMGB1 分泌が関与している可能性がある．今後症例を重ね，さらなる検討を予定している．

A. 研究目的

急性膵炎に対する治療成績は近年向上しているが，未だ十分なものとはいえない．治療成績の向上には，他臓器疾患との関連性を含めた病態の理解が肝要であると考えられる．今回我々は，劇症肝炎を基礎疾患として急性膵炎を発症し，急性膵炎をコントロールし得ず，肝移植を施行し得なかった症例を経験した．この2例の病態を考察する中で，劇症肝炎を背景とする急性膵炎を一つの疾患単位として提案し，サイトカインを介した他臓器間の相互作用という観点からその発症，重症化の機序を検討する．

B. 研究方法

2011年1月より当院において経験された劇症肝炎症例のうち，急性膵炎を伴っていた2例を後ろ向きに検討した．この研究は金沢大学がん局所制御学内で個人情報保護に十分配慮したうえで施行された．この研究は診断治療目的に過去に得られた検査データを用いる後ろ向き研究で，対象者に与える不利益，危険性は最小限であり，また，対象者の権利を脅かす危険性も低いことから，倫理面で問題は無いと考えられた．

C. 研究結果

（症例1）47歳，女性．原因不明の劇症肝炎に

対して生体肝移植を希望され，当院紹介となった．転院後，人工肝補助療法(Plasma diafiltration)を施行し，手術に至ったが，手術直前のCTにて grade III相当，開腹所見にて血性腹水を伴う膵炎を認め，移植手術を断念した(図1)．（症例2）54歳，男性．B型肝炎による劇症肝炎に対して脳死肝移植を希望されて当院紹介となった．入院後に急性膵炎を発症し，CT上は grade I相当の膵炎像を認め，アミラーゼ値の急激な上昇を認めた．そのため，人工肝補助療法(血漿交換及びCHDF)に並行して動注療法を施行したが奏功せず，移植を断念した(図2)．

D. 考察

劇症肝炎における急性膵炎の発症は治療方針

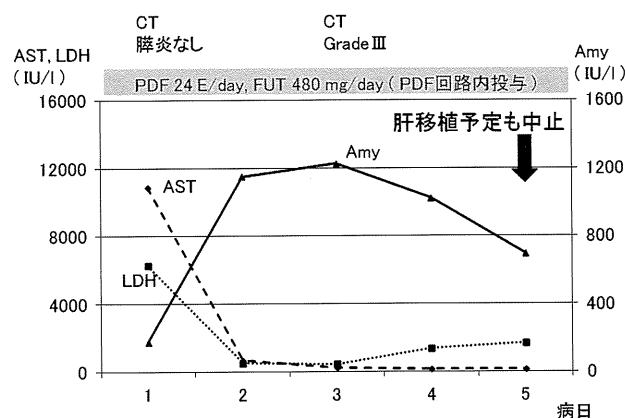


図1 症例1経過

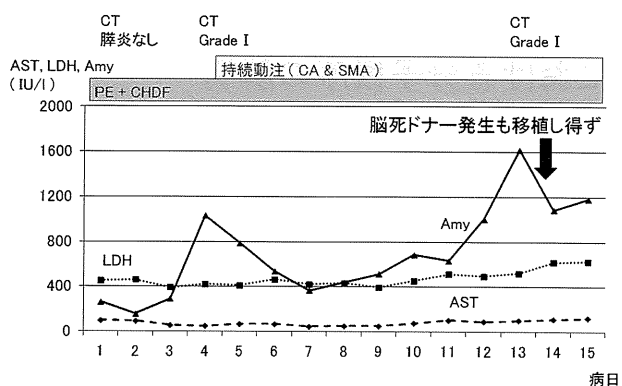


図2 症例2経過

の決定に大きな影響を与える。我々の経験した症例においても症例1は生体肝移植を中止せざるを得ず、また、症例2においては脳死ドナー発生への報告を受けたものの、移植手術には至らなかった。このような経験を踏まえ、劇症肝炎と急性膵炎の相関について考察を行った。劇症肝炎の剖検例においては約35%程度の症例において急性膵炎の発症が報告されている¹⁾。また、B型肝炎ウイルスは膵の腺房細胞に感染することにより膵炎を来すと考えられている²⁾。一方で、B型肝炎ウイルスによるもの以外の劇症肝炎において急性膵炎を来す病態は、種々の誘因が考えられる。肝不全に伴って放出されるフリーラジカルの関与や凝固障害の関与を示唆する報告があるが、明らかなものは指摘されていない³⁾。我々は今回、劇症肝炎と急性膵炎の相関に HMGB1 が関与している可能性を考えた。急性膵炎において、患者血清中の HMGB1 濃度は上昇していることが報告されており、また、ラット急性膵炎モデルにおいて HMGB1 中和抗体が膵炎あるいは他臓器障害を軽減することが報告されている^{4,5)}。HMGB1 は壊死細胞からの passive leakage や単球あるいはマクrophage からの active secretion によって分泌されることが知られている。よって、劇症肝炎において肝細胞壊死による分泌、あるいは免疫担当細胞からの HMGB1 分泌により、前述のフリーラジカルや凝固障害などを理由とした急性膵炎が増悪あるいは治療抵抗性を有しているものと推測される。

E. 結論

劇症肝炎を基礎疾患に持つ急性膵炎の発症、増悪においては HMGB1 が関与している可能性がある。今後、HMGB1 血中濃度の変化を確認し、他臓器疾患と急性膵炎の関連性について更なる検討を進める予定である。

F. 参考文献

1. Ham JM, Fitzpatrick P. Acute pancreatitis in patients with acute hepatic failure. *Am J Dig Dis* 1973; 18: 1079-1083.
2. Shimoda T, Shikata T, Karasawa T, Tsukagoshi S, Yoshimura M, Sakurai I. Light microscopic localization of hepatitis B virus antigens in the human pancreas. Possibility of multiplication of hepatitis B virus in the human pancreas. *Gastroenterology* 1981; 81: 998-1005.
3. de Oliveira LC, Rezende PB, Ferreira AL, de Freitas AA, de Carvalho AM, Guedes CA, Costa WO. Concurrent acute hepatitis and pancreatitis associated with hepatitis B virus: case report. *Pancreas* 1998; 16: 559-561.
4. Yasuda T, Ueda T, Takeyama Y, Shinzeki M, Sawa H, Nakajima T, Ajiki T, Fujino Y, Suzuki Y, Kuroda Y. Significant increase of serum high-mobility group box chromosomal protein 1 levels in patients with severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2006; 33: 359-363.
5. Sawa H, Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, Shinzeki M, Nakajima T, Kuroda Y. Blockade of high mobility group box-1 protein attenuates experimental severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7666-7670.

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

凝固機能と再生因子からみた急性膵炎における細胞障害機序の解明 — トロンビンと HGF 活性制御の観点から（経過報告）

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

濱田賢司，種村彰洋，水野修吾，臼井正信，田端正己（三重大学大学院肝胆膵移植外科学）

【研究要旨】

急性膵炎での細胞障害発生における凝固因子の意義を解明する目的で，ラット膵炎モデルに抗凝固因子である活性化プロテイン C (APC) 及びトロンボモジュリン (TM)，またトロンビン誘導性細胞障害レセプターである PAR-1 の阻害剤を投与しその組織障害の相違を検討した。【方法】12週齢ラットセルレイン膵炎モデルを作成し，① APC (100 μ g/kg) 経静脈投与群，② recombinant TM (1 mg/kg) 経静脈投与群，③ PAR-1 antagonist 経静脈投与群，④ 対照群，の4群を作成し，膵炎誘導後12 h 時間における膵障害度を膵湿重量，組織学所見，血清アミラーゼ値にて評価した。また，炎症性サイトカイン (TNF- α , IL-6) の血中濃度を ELISA にて測定した。【結果】APC 群，rTM 群，PAR-1 antagonist 投与群とも対照群と比し，膵障害は湿重量，組織及びアミラーゼ値は共には軽減され，さらに炎症性サイトカインの産生も抑制されていた。その障害抑制効果は APC 群と rTM 群がより強く，PAR-1 阻害剤投与では他の2群より抑制効果は軽度であった。【結語】ラット急性膵炎モデルにおいて APC 及び TM はトロンビンにより誘導される PAR-1 を介した細胞障害誘導を抑制することによる凝固・炎症制御に加えて独自の障害抑制作用を有する可能性が示唆された。

A. 研究目的

急性膵炎の重症化機序は未だ不明であるが，重症化することで SIRS や MOF へ高率に移行すると言われている。また，重症急性膵炎では DIC をはじめとする凝固機能異常を引き起こしていることが多く，さらに凝固異常の程度が重症度に相関することが報告されており，急性膵炎の重症化を抑制するためには凝固系の抑制する必要があると考えられている。

一方で障害からの修復機構には各種再生因子や細胞外マトリクスなど様々な因子の報告があるが，その開始には凝固促進が必要である。一例として肝細胞増殖因子 (HGF) は最近膵再生にも寄与すると報告されているが，HGF の作用発現には障害局所でのトロンビンの活性化が必須であることから再生の観点からすると急性膵炎においてある程度の凝固亢進は寛容する必要があると思われる。

凝固系の中心的な因子としてトロンビンが知られているが，このトロンビンは単なる凝固促進因子のみならず，細胞上トロンビンレセプ

ター (Proteinase Activated Receptor (PAR)-1) を介して様々な炎症を惹起することにより細胞障害や炎症反応を促進することが知られている。このトロンビンの制御薬剤として開発された活性化プロテイン C (APC) 製剤やプロテイン C 経路を活性化するトロンボモジュリン (TM) 製剤が挙げられるがこれらの急性膵炎における効果に関しては不明である。そこで本研究ではラット膵炎モデルにおいて APC 製剤，トロンボモジュリン製剤，さらにはトロンビンレセプター阻害剤 (PAR-1 アンタゴニスト) を投与し，膵障害を検討することによりこれらの薬剤の急性膵炎治療における可能性とその作用機序について検討した。

B. 研究方法

12週齢 Wister ラットにセルレインを腹腔内投与した膵炎モデルを作成し，① 膵炎誘導後に APC (100 μ g/kg) を3時間毎に静脈内投与した群 (APC 群)，② recombinant TM (1 mg/kg) を膵炎誘導直後に投与した群 (TM 群)，③

PAR-1 antagonist (BAS200260: 2 mg/kg) を静脈投与した群 (PAR1 群), 及び④生食を投与した群 (対照群), の 4 群を作成し, 膵炎誘導後 12 h 時間における膵障害度を膵湿重量, 組織学所見, 血清アミラーゼ値にて評価した. また炎症性サイトカイン (TNF- α , IL-6) の血中濃度を ELISA にて測定した.

C. 研究結果

まず, セルレイン投与後 12 h での PAR-1 の発現を PCR にて確認すると, 正常膵の約 2.5 から 3 倍程度発現が増強していた (図 1). 続いて

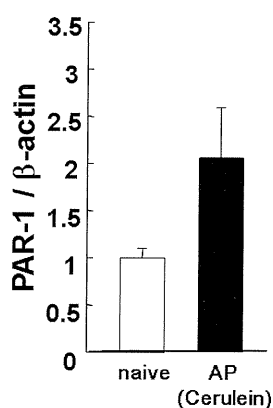


図 1 正常膵とセルレイン誘導膵炎での膵における PAR-1 の発現 (RT-PCR)

セルレイン誘導膵炎に対する APC 群, rTM 群, PAR-1 antagonist 投与群を対照群と比較検討したところ, 膵障害の指標となる膵湿重量 (図 2A), 血清アミラーゼ値 (図 2B), 及び組織 (図 3) は薬剤投与群は対照群と比較して軽減していた. さらに TNF- α や IL-6 など炎症性サイトカイン産生も抑制されていた (図 4). その障害抑制効果を詳細に検討するとその抑制効果は APC 群, rTM 群の順に強く, PAR-1 群では効果は軽度であった (図 2-4).

D. 考察

これまでの動物実験¹⁾や臨床研究^{2,3)}から, 急性膵炎において凝固制御因子である活性化プロテイン C やアンチトロンビン III が急速に低下し発症初期から過凝固状態となることが報告されている. またこれらの因子の経過中の減少も MOF の発症率や急性膵炎の治療成績との相関性が指摘されこれらは biomarker としての可能性も期待されている.

これらの報告をもとに, Chen ら⁴⁾は膵炎動物モデルに APC を投与することで急性膵炎の障害を緩和することを報告してきた. その作用機序として, 抗凝固作用による過凝固状態の緩和

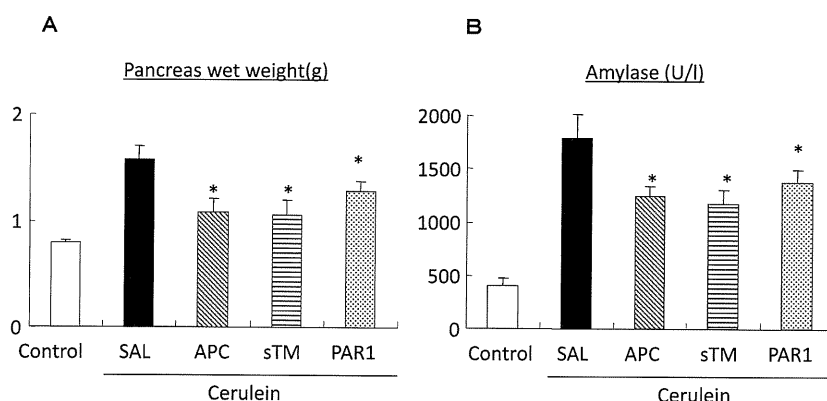


図 2 セルレイン投与後 12 h における膵湿重量 (a) と血清アミラーゼ値 (b)

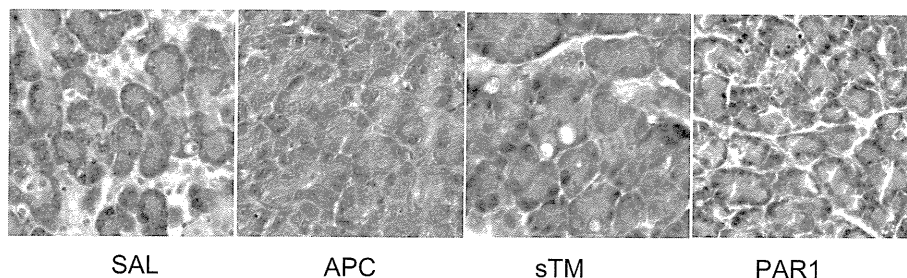


図 3 組織標本 (H&E 染色)

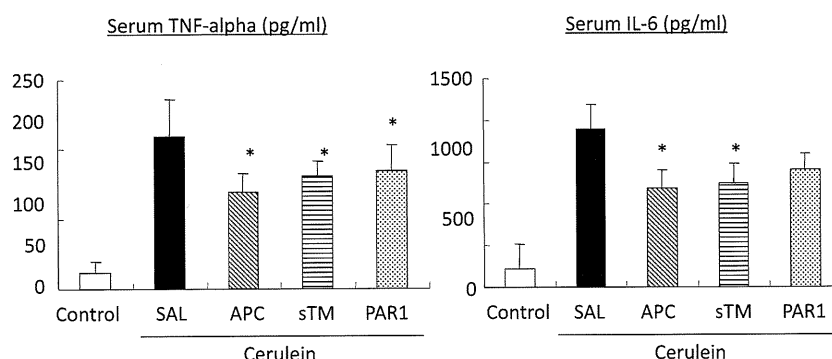


図4 セルレイン投与後12 hにおける血中炎症性サイトカイン(ELISA 法)

和だけでなく、MAPKを介した炎症制御により抗炎症作用によるものと結論していた⁴⁾。さらにその後の研究で血管内皮細胞上のプロテインCレセプターやトロンボモジュリンの発現を増強させてAPCの作用を増強している可能性も指摘した⁵⁾。

しかし、トロンピンは凝固因子としての作用の他に直接・間接的に細胞障害を誘導することが報告されており、この障害機序としてトロンピンレセプターとしてのPAR-1のシグナルを介した細胞障害機序が考えられている。さらにPAR-1はAPCにより活性化されるがこの場合は細胞障害抑制・抗アポトーシスに働くとされている。また急性膵炎誘導によりPAR-1の発現が正常膵より2~3倍も上昇していることから、急性膵炎におけるPAR-1の発現の意義とこれらの制御による治療の可能性について検討した。

結果として、APC、TM、PAR-1アンタゴニスト投与により急性膵炎による障害は抑制された。また、炎症性サイトカインの産生も抑制されており、3剤とも抗炎症作用を有していると考えられた。しかし、その効果に関しては様々であり、APC投与では炎症性サイトカイン・組織障害ともに強い抑制効果が見られたが、TM投与では若干炎症性サイトカインの抑制効果は弱かったが、結果としての組織所見やアミラーゼ値はAPC投与群と同等の効果が認められた。一方、PAR-1アンタゴニスト投与ではサイトカインの抑制効果も膵障害抑制効果も減弱しており、APC及びTM投与による障害抑制作用はPAR-1を介した細胞障害抑制効果だけでなく個々の薬剤の特殊な障害抑制経路があ

るものと推察される。その経路として細胞外マトリクスや再生因子を介した経路や、HMGB1などのTMに特異的な障害抑制作用が挙げられ⁶⁾、今後上記因子などを解析する予定である。

E. 結論

ラット急性膵炎モデルにおいてAPC及びTMはトロンピンにより誘導されるPAR-1を介した細胞障害誘導を抑制することによる凝固・炎症制御に加えて独自の障害抑制作用を有する可能性が示唆された。ただし、APC、TM、PAR-1投与でその抑制効果に多様性があることから、この相違点を見出すことで急性膵炎における新規バイオマーカーや新規治療薬としての可能性を探索していく予定である。

F. 参考文献

- Ottesen LH, Bladbjerg EM, Osman M, Lausten SB, Jacobsen NO, Gram J, Jensen SL. Protein C activation during the initial phase of experimental acute pancreatitis in the rabbit. *Dig. Surg.*; 16: 486-495.
- Radenković D, Djordje B, Aleksandar K, Branislav S, Natasa M, Svetlana I, Pavle G, Miroslav M. Disorders of hemostasis during the surgical management of severe necrotizing pancreatitis. *Pancreas* 2004; 29: 152-156.
- Liaw PC, Esmon CT, Kahnamoui K, Schmidt S, Kahnamoui S, Ferrell G, Beaudin S, Julian JA, Weitz JI, Crowther M, Loeb M, Cook D. Patients with severe sepsis vary markedly in their ability to generate activated protein C. *Blood*. 2004; 104: 3958-64.

4. Chen P, Zhang Y, Qiao M, Yuan Y. Activated protein C, an anticoagulant polypeptide, ameliorates severe acute pancreatitis via regulation of mitogen-activated protein kinases. *J Gastroenterol.* 2007; 42: 887-96.
5. Ping C, Yongping Z, Minmin Q, Weiyan Y, Yaozong Y. Activated protein C improves the severity of severe acute pancreatitis via up-regulating the expressions of endothelial cell protein C receptor and thrombomodulin. *Dig Dis Sci.* 2010; 55: 1599-609.
6. Nagato M, Okamoto K, Abe Y, Higure A, Yamaguchi K. Recombinant human soluble thrombomodulin decreases the plasma high-mobility group box-1 protein levels, whereas improving the acute liver injury and survival rates in experimental endotoxemia. *Crit Care Med.* 2009; 37: 2181-6.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 伊佐地秀司：感染性膵壊死に necrosectomy は必要か？ walled-off pancreatic necrosis (WOPN) の概念と対応. *INTENSIVIST* 2011; 3 (4): 693-702.
- 2) 伊佐地秀司：Sentinel loop sign, colon cut-off sign, 皮膚病変 (Grey-Turner 徴候など) と急性膵炎. *外科* 2011; 73 (12): 1413-1419.
- 3) 伊佐地秀司：急性膵炎 膵膿瘍 (被包化膵壊死) 膵臓症候群 (第2版) — その他の膵臓疾患を含めて. *日本臨床別冊膵臓症候群* 2011; 141-145.
- 4) 水野修吾, 伊佐地秀司：急性膵炎 臓器移植後急性膵炎. 膵臓症候群 (第2版) — その他の膵臓疾患を含めて. *日本臨床別冊膵臓症候群* 2011; 121-125.
- 5) 伊佐地秀司：膵疾患 急性膵炎・慢性膵炎. *消化器外科学レビュー* 2011; 141-148.

2. 学会発表

- 1) Isaji S: Surgical management of acute necrotizing pancreatitis including

laparoscopic treatment. 4th AOPA & KPBA, Jeju, Korea, 2011, Sept 3-4.

- 2) 伊佐地秀司：急性膵炎の治療. 第97回日本消化器病学会総会ポストグラデュエイトコース. 東京, 2011年, 5月15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

急性膵炎重症化と血漿 ADAMTS13 活性の動態解析

研究報告者 植村正人 奈良県立医科大学第三内科 准教授

共同研究者

森岡千恵, 高谷広章, 藤本正男, 松山友美, 沢井正佳, 吉田太一, 美登路昭, 山尾純一,
福井 博 (奈良県立医科大学第三内科)

松本雅則, 藤村吉博 (奈良県立医科大学輸血部), 西尾健治, 奥地一夫 (奈良県立医科大学救急科)
丸上永晃, 高濱潤子, 吉川公彦 (奈良県立医科大学放射線科)

【研究要旨】

重症急性膵炎(SAP)は、膵臓の著しい炎症と全身性炎症反応症候群から高率に多臓器不全を来たす予後不良な疾患である。ADAMTS13は、血小板と最も反応性に富む超高分子量 von Willebrand factor(VWF)マルチマー(unusually large VWF multimer, UL-VWFM)を分解するが、本酵素活性が低下するとUL-VWFMが増加し、血小板血栓形成傾向となり諸臓器の微小循環障害が惹起される。

平成21~22年度にかけて、SAP早期の血漿ADAMTS13活性の低下とVWF抗原の増加が、本症の重症度、多臓器不全ならびに予後の指標になり得ることを指摘し、発症早期の高度なEt血症がADAMTS13活性の低下と密に関連し、膵炎の重症化に関わっている可能性を報告した^{1~3)}。

本年度は少数例ではあるが、SAPにおける膵虚血を早期に評価し得るperfusion CT像を血漿ADAMTS13活性およびサイトカインと対比した。その結果、多臓器不全にて死亡した1例では、入院時膵虚血部血流量の著減、ADAMTS13活性の低下(21%)、VWF抗原の増加(378%)、IL-8ならびにTNF α の著明な上昇が認められた。生存例2例ではpoorly perfused areaは認められず、ADAMTS13活性は軽度低下し、VWF抗原およびIL-6の増加は軽度に留まった。本酵素活性の低下がサイトカイン血症と関連し、SAP発症早期の膵灌流障害と密に関連するか否か、今後さらに多数例での検討を要する。

一方、ERCP後SAPを発症した1例のADAMTS13活性は、ERCP後翌日には半減(50%→24%)し、IL-8は上昇後低下した。ERCP前、胆管炎発症例の2例では、正常の3倍にまで著増したVWF抗原は内視鏡的ドレナージ後低下し、増加していたIL-6は低下した。ERCP前後において炎症性サイトカイン上昇群は非上昇群に比し、高齢でありERCP前のVWF抗原およびVWF/ADAMTS13比が高値、ERCP後3hのVWF抗原、VWF/ADAMTS13比、WBCおよび血中アミラーゼが高値、翌日のVWF抗原が高値であった。

以上より、SAP早期におけるADAMTS13活性低下とサイトカイン血症は、VWF依存性血小板過凝集により、膵微小循環障害から多臓器不全に至る病態形成に密に関連している可能性が示唆された。また、ERCP後のADAMTS13活性の動態は、膵炎ならびに胆管炎等による急性炎症性反応の消長と関連する可能性がある。

A. 研究目的

重症急性膵炎(SAP)は、膵臓の著しい炎症と全身性炎症反応症候群(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)から高率に多臓器不全を来たす予後不良な疾患であるが、その発生機序は未だ十分解明されていない^{4~8)}。

ADAMTS13は、血小板と最も反応性に富む超高分子量VWFマルチマー(UL-VWFM)を

分解するが、本酵素活性が低下するとUL-VWFMが増加し、血小板血栓形成傾向となり諸臓器の微小循環障害が惹起される^{9,10)}。血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)は本酵素が低下した病態^{9,10)}であることが明らかにされ脚光を浴びて以来、臓器微小循環障害の観点から種々の疾患での動態が注目されてきている^{11,12)}。従来、TTPの経過中に急性膵炎が発症すること

が報告されている¹³⁾が、最近、急性膵炎の経過中に TTP が発症する例が相次ぎ^{14~16)}、膵虚血・灌流障害が重要な発症要因の一つとして注目されている^{1~8,13~16)}。

我々は平成21~22年度にかけて SAP 早期における血漿 ADAMTS13 活性の低下が、本症の重症度、多臓器不全ならびに予後の指標になり得ることを指摘し、発症早期の高度なエンドトキシン(Et)ならびに顆粒球エラスターゼが ADAMTS13 活性の低下と密に関連し、膵炎の重症化に関与している可能性を報告した^{1~3)}。さらに、日本人の ADAMTS13 遺伝子多型として発見され、血栓性疾患との関連で注目されている P475S 変異(1423C>T)¹⁷⁾の有無につき検討を加えた¹⁾。

平成23年度は、少数例ではあるが SAP において膵虚血を早期に評価し得る perfusion CT 像¹⁸⁾と血漿 ADAMTS13 活性ならびにサイトカインの推移を観察すると共に、ERCP 施行前後の血漿 ADAMTS13 活性およびサイトカインを測定し、ERCP 後膵炎との関連を検討した。

B. 研究方法

1. SAP における perfusion CT 像と血漿 ADAMTS13 活性、血漿サイトカインの動態

SAP 3 例において、発症48時間以内と2週間後の2度、Perfusion CTを施行し、血漿 ADAMTS13 活性、VWF 抗原ならびにサイトカインの推移を検討した。Perfusion CTは本調査研究班の「急性膵炎重症度評価における perfusion CT の有用性に関する多施設研究¹⁹⁾」に準じて施行した。

2. ERCP 前後における血漿 ADAMTS13 活性、血漿サイトカインの動態

ERCP 施行22例を対象に、ERCP 施行前、施行3時間、翌朝に血漿 ADAMTS13 活性、VWF 抗原ならびにサイトカイン(IL-6, IL-8, TNF α)を測定し、ERCP 後膵炎との関連を検討した。血漿 ADAMTS13 活性は ADAMTS13-act-ELISA²⁰⁾、IL-6, IL-8 および TNF α は ELISA にて測定した。

(倫理面への配慮)

上記2つの研究課題の主旨は予め患者あるいは家族に十分説明を行った上で同意を得ており、同意文書はカルテに保管し、そのコピーは主治医が保管している。

C. 研究結果

1. SAP における perfusion CT 像と血漿 ADAMTS13 活性、VWF 抗原、サイトカインの動態

死亡例の1例は、76歳男性。急性膵炎にて某病院入院。腹部 CT で膵腫大、腹水の増強を認めた為、発症4日後当院緊急入院。造影 CT にて膵は腫大し、頭部から尾部に亘る造影不良域と腎下極以遠に達する腹水が認められた。重症度判定基準の予後因子4点、CT grade 3, APACHE II スコア-19点であった(表1)。Perfusion CT では膵虚血部は0.4 ml/100 ml と著明な膵血流量の低下を認めた。CHDF、抗生物質と膵酵素阻害剤の動注療法を開始したが、翌日、肺水腫出現。abdominal compartment syndrome に対し減圧術を施行したが、腎不全、呼吸不全の改善なく、第18病日に死亡した。ADAMTS13 活性は入院時22%と低値を示し、第3病日に29%と軽度上昇したが、以後11%~19%の低値を持続した。VWF 抗原は入院時378%と高値を示し、第7病日に648%にまで上昇、以後高値を持続した。血漿 IL-8 は第7病日には3811 pg/ml と著明な高値を示し、第14病日には70 pg/ml まで低下したが、TNF α は48~60 pg/ml と高値を持続した(表1)。

生存例2例(症例2, 3)は、入院時重症度 score それぞれ0, 1, CT grade 2, 2, APACHE スコア-6, 1, Perfusion CT では2例共 poorly perfused area は認められなかった(表1)。ADAMTS13 活性はそれぞれ入院時43%, 40%と軽度低下していたが、症例2は翌日85%に、症例3は7日後に79%に上昇した。VWF 抗原は2例共、第2日後に軽度上昇したが、1週間後には症例2は正常化、症例3は低下傾向を示した。IL-6は2例とも軽度上昇に留まり、以後検出されなかった(表1)。

2. ERCP 前後における血漿 ADAMTS13 活

表 1 Perfusion CT を施行した重症急性膵炎 3 例のまとめ

Age/sex	成因	重症度 score	CT grade	APACHE score	Perfused blood flow		血漿 ADAMTS13 活性とその関連因子	入院後日数				転帰
					poor area	preserved area		1日	2日	7日	14日	
1. 76/男	特発性	4	3	19	0.4*	6.6*	ADAMTS13活性(%)	22	29	15	11	死亡
							VWF: Ag(%)	378	380	648	480	
							IL-6(pg/ml)	<7.8	<7.8	<7.8	<7.8	
							IL8(pg/ml)	<7.8	<7.8	3811	110	
							TNFα(pg/ml)	<15.6	<15.6	60	48	
2. 46/男	アルコール	0	2	6	—	6.7, 7.9	ADAMTS13活性(%)	43	85	88	90	生存
							VWF: Ag(%)	100	280	140	100	
							IL-6(pg/ml)	14	10	<7.8	<7.8	
							IL8(pg/ml)	<7.8	<7.8	<7.8	<7.8	
							TNFα(pg/ml)	<15.6	<15.6	<15.6	<15.6	
3. 25/男	特発性	1	2	1	—	7.1	ADAMTS13活性(%)	40	41	79		生存
							VWF: Ag(%)	152	280	252		
							IL-6(pg/ml)	26	15	<7.8		
							IL8(pg/ml)	<7.8	<7.8	<7.8		
							TNFα(pg/ml)	<15.6	<15.6	<15.6		

* perfused blood flow (ml/100 ml) determined by perfusin CT

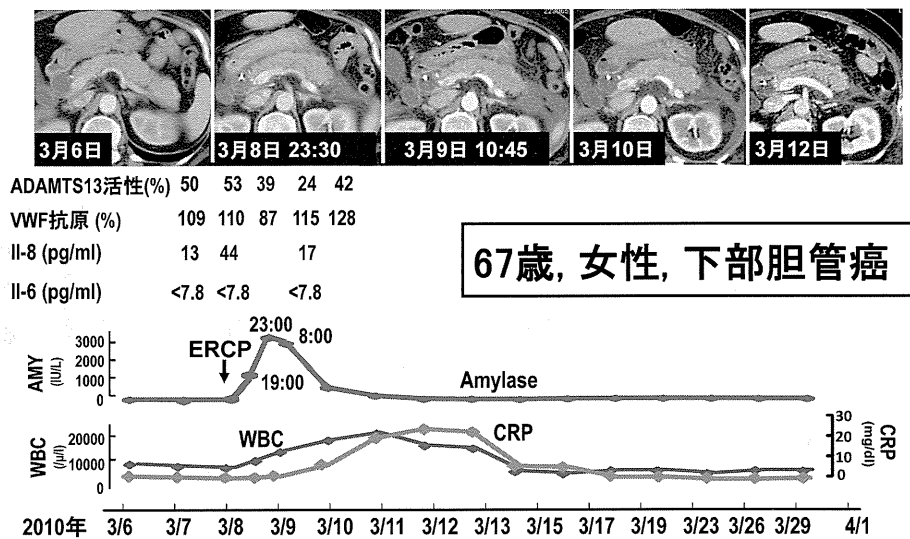


図 1 ERCP 後膵炎発症例における血漿 ADAMTS13 活性および炎症性サイトカインの推移
67歳, 女性, 下部胆管癌. 入院時肝障害(T.Bil 12.7 mg/dl, ALT 248 IU/L, ALP 2187 IU/L)を認め, ERBD を施行. 血漿 ADAMTS13 活性は, ERCP 後 3 時間 著変ないが, 7 時間では 39% と低下し, 翌朝には 24% と半減した. IL-8 は, ERCP 後 3 時間で上昇し, 翌朝には低下傾向を示した.

性, VWF 抗原, サイトカインの動態

SAP を発症した 1 例は 67 歳, 女性, 下部胆管癌であり, 来院時黄疸(T.Bil 12.7 mg/dl), 肝機能障害(AST 76 IU/L, ALT 248 IU/L, ALP 2187 IU/L)を認め, ERBD 施行例(所要時間 30 分)であった. ERCP 前, 後 3 時間, 翌朝の ADAMTS13 活性は 50% → 53% → 24% と半減し, VWF 抗原は著変なかったが, IL-8 は上昇後低下(13 pg/ml → 44 pg/ml → 17 pg/ml)

した(図 1). ERCP 前, 胆管炎発症例の 2 例では, ADAMTS13 活性に著変なかったが, VWF 抗原は内視鏡的ドレナージ後低下(333% → 346% → 116%, 311% → 232% → 101%)し, IL-6 は 1 例で低下(202 pg/ml → 129 pg/ml → 65 pg/ml), 他の 1 例は軽度上昇後低下(6 pg/ml → 15 pg/ml → 8 pg/ml)した. ERCP 前後において, IL-6 または IL-8 上昇例と非上昇例は各々 11 例ずつにみられ, 両者を比較すると,

表 2 ERCP 前後におけるサイトカイン上昇群と非上昇群の差異

サイトカイン の動態	年齢 (歳)	ERCP 前		ERCP 後 3 時間			Amylase (IU/L)	翌朝 VWF (%)
		VWF (%)	VWF/ ADAMTS13	VWF (%)	VWF/ ADAMTS13	WBC (/mm ³)		
上昇群 (n=11)	73±11*	172±108**	4.0±3.3**	168±87*	4.1±2.5*	8127±4103*	355±32*	145±75**
非上昇群(n=11)	63±12	82±19	1.6±0.5	105±43	2.1±0.8	5036±1729	132±72	77±21

* p<0.05 and ** p<0.01 vs. サイトカイン非上昇群

サイトカイン上昇群は非上昇群に比して高齢であり， ERCP 前の VWF 抗原および VWF / ADAMTS13 比が高値であり， ERCP 後 3h の VWF 抗原， VWF / ADAMTS13 比， WBC および血中アミラーゼが高値， 翌朝の VWF 抗原が高値であった(表 2)。

D. 考察

我々はこれまで SAP 早期の血漿 ADAMTS13 活性の低下と VWF 抗原の増加が， 本症の重症度， 多臓器不全ならびに予後の指標になり得ることを指摘し， 発症早期の高度な Et 血症が ADAMTS13 活性の低下と密に関連し， 膵炎の重症化に関わっている可能性を指摘した^{1~3)}。今回， 少数例ではあるが， SAP における膵虚血を早期に評価し得る perfusion CT 像¹⁸⁾と血漿 ADAMTS13 活性ならびにサイトカインの推移を検討した結果， 死亡例の 1 例では膵虚血部血流量は 0.4 ml/100 ml と著明な低下を認め， CHDF， 膵酵素阻害剤の動注療法等の集学的治療²¹⁾を施行したが， 第 18 病日に多臓器不全にて死亡した(表 1)。ADAMTS13 活性は入院時 22% と低値を示し， 第 3 病日に軽度上昇したが， 以後低値を持続した。VWF 抗原は入院時 378% と高値を示し， 第 7 病日に 648% にまで上昇， 以後高値を持続した。血漿 IL-8 は 3811 pg/ml から 70 pg/ml まで低下したが， TNF α は 50~60 pg/ml と高値を持続した(表 1)。一方， 生存例の 2 例では， poorly perfused area は認められず。ADAMTS13 活性は， 2 例共入院時軽度低下したが， 症例 2 は翌日に， 症例 3 は 7 日後に正常値に復した(表 1)。VWF 抗原は 2 例共， 第 2 日後に軽度上昇したが， 症例 2 は 1 週間には正常化， 症例 3 は低下傾向を示した。IL-6 は 2 例共， 軽度上昇に留まり， 以後検出されな

った。以上より， 広範囲膵壊死を有する SAP の血漿 ADAMTS13 活性は低下傾向， サイトカインは上昇傾向を示すが， 本酵素活性の低下ならびにサイトカイン血症が SAP 発症早期の膵灌流障害と関連するか否か， 今後さらに多数例での検討を要するものと考えられる。

ところで， 急性膵炎の成因は平成 21 年度の全国調査によるとアルコール性が最も多く (32.8%)， 次いで胆石 (25.6%)， 特発性 (17.9%)， 慢性膵炎 (5.5%)， 診断的 ERCP (3.3%)， 内視鏡的乳頭処置 (2.0%) の順であり， ERCP 関連膵炎の発症頻度は決して低率ではない²²⁾。ERCP 関連膵炎の早期診断として， 最近 ERCP 3 時間急性膵炎臨床診断暫定基準案が設けられており， ERCP 後 3 時間以内の上腹部自発痛と圧痛の出現， 血中膵酵素の上昇 (正常値の 5 倍以上)， 翌日膵に急性膵炎に伴う画像異常があることなどが提唱されている²³⁾。そこで， 今回 ERCP 前， 3 時間， 翌朝の 3 点で血漿 ADAMTS13， サイトカインを測定した結果， ERCP 後に SAP を発症した 1 例では， ERCP 前， 後 3 時間， 翌朝の ADAMTS13 活性は 50% から 24% にまで半減し， IL-8 は上昇後低下した。ERCP 前， 胆管炎発症例の 2 例では， ADAMTS13 活性に著変なかったが， 内視鏡的ドレナージ術前， 正常の 3 倍にまで上昇していた VWF 抗原は低下し， IL-6 は 1 例で低下， 他の 1 例は上昇後低下した。ERCP 前後において， サイトカイン上昇群は非上昇群に比し， 高齢であり ERCP 前の VWF 抗原および VWF / ADAMTS13 比が高値， ERCP 後 3h の VWF 抗原， VWF / ADAMTS13 比， WBC およびアミラーゼが高値， 翌日の VWF 抗原は高値であった。以上より， ERCP 後の血漿サイトカインの動態は， ADAMTS13 活性と VWF 抗原の酵素・基質不均衡と密に関連

し、膵炎あるいは胆管炎による急性炎症性反応の消長と連動する可能性があることが示唆されたが、今後さらに多数例での検討が必要であろう。この際、サイトカイン上昇群は非上昇群に比し、高齢であったことは興味深い。健常人において加齢と共に血漿 ADAMTS13 活性は低下し、VWF 抗原が増加することが指摘²⁴⁾されており、高齢になるに従い VWF 依存性血小板過凝集から臓器微小循環障害に至るリスクが高まる可能性が示唆された。

ERCP 関連膵炎の発症要因として、膵管内圧の上昇、トリプシンの活性化が重要視されている²⁵⁾。患者因子としては年齢、乳頭機能不全、ERCP 後膵炎の既往、技術因子としては2回以上の膵管造影、副乳頭切開術、術者に初心者が含まれるなどが列記されている²⁶⁾が、ADAMTS13 活性の推移が ERCP 関連膵炎の発症の早期診断、病態把握に有用か否か、今後さらに検討する必要がある。

E. 結論

SAP 早期の血漿 ADAMTS13 活性の著減と UL-VWFM の著増という酵素・基質の不均衡が、本症の重症度、多臓器不全ならびに予後の指標となり、発症早期の高度な Et 血症が ADAMTS13 活性の低下と密に関連する可能性を指摘してきた。少数例ではあるが、SAP において膵虚血を早期に評価し得る perfusion CT 像と血漿 ADAMTS13 活性ならびにサイトカインの推移を検討した結果、広範囲膵壊死を有する SAP の血漿 ADAMTS13 活性は低下傾向、サイトカインは上昇傾向を示すが、本酵素活性の低下ならびにサイトカイン血症が SAP 発症早期の膵灌流障害と関連するか否か、今後さらに多数例での検討を要する。ERCP 前後の血漿サイトカインの動態は、ADAMTS13 活性と VWF 抗原の不均衡と密に関連し、膵炎あるいは胆管炎による急性炎症性反応の消長と連動する可能性があるが、今後さらに多数例での検討が必要である。

F. 参考文献

1. 植村正人. 急性膵炎重症化と血漿 ADAMTS13

活性. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服事業 難治性膵疾患に関する調査研究(研究代表者 下瀬川 徹). 平成20~22年度 総合研究報告書 2011年, p142-153.

2. 植村正人, 藤村吉博, 福井 博. 急性膵炎重症化と血漿 ADAMTS13 活性. 「Annual review 消化器 2011, 第Ⅲ章 胆膵-膵臓2」, 林 紀夫, 日比紀文, 上西紀夫, 下瀬川徹, 編. 東京, 中外医学社, 2011年, p237-244.
3. Morioka C, Uemura M, Matsuyama T, Matsumoto M, Kato S, Ishikawa M, Ishizashi H, Fujimoto M, Sawai M, Yoshida M, Mitoro A, Yamao J, Tsujimoto T, Yoshiji H, Urizono Y, Hata M, Nishino K, Okuchi K, Fujimura Y, Fukui H. Plasma ADAMTS13 activity parallels the APACHE II score, reflecting an early prognostic indicator for patients with severe acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 1387-96.
4. 廣田昌彦. I. 急性膵炎 2. 成因と病態 日本内科学会雑誌 2010; 99: 9-14.
5. Otsuki M, Hirota M, Arata S, et al. Research Committee of Intractable Diseases of the Pancreas. Consensus of primary care in acute pancreatitis in Japan. *World J Gastroenterol*. 2006; 12: 3314-23.
6. Al Mofleh IA. Severe acute pancreatitis: pathogenetic aspects and prognostic factors. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 675-84.
7. Cuthbertson CM, Christophi C. Disturbances of the microcirculation in acute pancreatitis. *Br J Surg* 2006; 93: 518-530.
8. Foitzik T, Eibl G, Hotz B, et al. Persistent multiple organ microcirculatory disorders in severe acute pancreatitis: experimental findings and clinical implications. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 130-8.
9. Moake JL. Thrombotic microangiopathies. *N Engl J Med* 2002; 347: 589-99.
10. Fujimura Y, Matsumoto M, Yagi H, Yoshioka A, Matsui T, Titani K. von Willebrand factor-cleaving protease and Upshaw-Schulman syndrome. *Int J Hematol* 2002; 75: 25-34.

11. Uemura M, Fujimura Y, Ko S, Matsumoto M, Nakajima Y, Fukui H. Pivotal role of ADAMTS13 function in liver diseases. *Int J Hematol.* 2010; 91: 20–29.
12. Claus RA, Bockmeyer CL, Sossdorf M, Lösche W. The balance between von-Willebrand factor and its cleaving protease ADAMTS13: biomarker in systemic inflammation and development of organ failure? *Curr Mol Med* 2010; 10: 236–248.
13. Olsen H. Thrombotic thrombocytopenic purpura as a cause of pancreatitis. Report of a case and review of the literature. *Am J Dig Dis* 1973; 18: 238–46.
14. Swisher KK, Doan JT, Vesely SK, Kwaan HC, Kim B, Lämmle B, Kremer Hovinga JA, George JN. Pancreatitis preceding acute episodes of thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: report of five patients with a systematic review of published reports. *Haematologica* 2007; 92: 936–43.
15. Boyer A, Chadda K, Salah A, Bonmarchand G. Thrombotic microangiopathy: an atypical cause of acute renal failure in patients with acute pancreatitis. *Intens Care Med.* 2004; 30: 1235–9.
16. Vergara M, Modolell I, Puig-Divi V, Guarner L, Malagelada JR. Acute pancreatitis as a triggering factor for thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 2215–8.
17. Kokame K, Matsumoto M, Soejima K, Yagi H, Ishizashi H, Funato M, Tamai H, Konno M, Kamide K, Kawano Y, Miyata T, Fujimura Y. Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 11902–11907.
18. Tsuji Y, Yamamoto H, Yazumi S, Watanabe Y, Matsueda K, Yamamoto H, Chiba T. Perfusion computerized tomography can predict pancreatic necrosis in early stages of severe acute pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1484–1492.
19. 武田和憲, 片岡慶正, 竹山宣典, 廣田昌彦, 多田真輔, 辻喜久, 木村憲治, 桐山勢生, 古谷智規, 下瀬川徹. 急性膵炎重症化の早期予知としての perfusion CT の有用性の検討—特に膵 perfusion CT 施行時の被曝線量の低減について— 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服事業 難治性膵疾患に関する調査研究 (研究代表者 下瀬川徹)平成21年度 総括・分担研究報告書 2010, p52–54.
20. Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T, Isonishi A, Hiura H, Fujimura Y. Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. *Transfusion* 2006; 46: 1444–52.
21. Takeda K. Antiproteases in the treatment of acute necrotizing pancreatitis: continuous regional arterial infusion. *JOP* 2007; 8 (4 Suppl): 526–32.
22. 下瀬川徹, 佐藤賢一, 正宗淳, 他. 急性膵炎, 重症急性膵炎の全国調査. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服事業. 難治性膵疾患に関する調査研究 (研究代表者 下瀬川徹)平成21年度 総合研究報告書 2010; p35–8.
23. 峯徹哉, 明石隆吉, 五十嵐良典, 大原弘隆, 川口義明, 宮川宏之, 西森功, 森實敏夫, 伊藤鉄英, 入澤篤志, 片岡慶正, 木田光弘, 吉田仁, 花田敬士, 下瀬川徹. ERCP 後膵炎暫定基準案の検証 [共同研究] 厚生労働科学研究費補助金. 難治性疾患克服事業. 難治性膵疾患に関する調査研究 (研究代表者 下瀬川徹)平成21年度 総括・分担研究報告書. 2010, p80–84.
24. Mannucci PM, Canciani MT, Forza I, Lussana F, Lattuada A, Rossi E. Changes in health and disease of the metalloproteinase that cleaves von Willebrand factor. *Blood* 2001; 98: 2730–5.
25. Akashi R, Kiyozumi T, Tanaka T, Sakurai K, Oda Y, Sagara K. Mechanism of pancreatitis caused by ERCP. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 50–54.
26. Cheng CL, Sherman S, Watkins JL, Barnett J, Freeman M, Geenen J, Ryan M, Parker H, Frakes JT, Fogel EL, Silverman WB, Dua KS, Aliperti G, Yakshe P, Uzer M, Jones W, Goff J,

Lazzell-Pannell L, Rashdan A, Temkit M, Lehman GA. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective multicenter study. Am J Gastroenterol 2006; 101: 139-147.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Morioka C, Uemura M, Matsumoto M, Takaya H, Fujimoto M, , Tsujimoto T, Kawaratani H, Toyohara M, Hori Y, Hayakawa M, Nishino K, Marugami N, Okuchi K, Fujimura Y, Fukui H. Persistent detection of unusually large von Willebrand factor multimer despite moderately decreased ADAMTS13 in severe acute pancreatitis: A case report. (submitted)

2. 学会発表

- 1) 森岡千恵, 植村正人, 福本江梨, 高谷広章, 沢井正佳, 吉田太之, 美登路昭, 山尾純一, 松本雅則, 藤村吉博, 福井博. 重症肝・膵疾患における微小循環障害に伴う多臓器不全の病態解析—ADAMTS13を中心に
シンポジウム 第97回日本消化器病学会総会(東京) 2011年5月13日～15日
- 2) 森岡千恵, 植村正人, 高谷広章, 才川宗一郎, 福本江梨, 堂原彰敏, 武山真也, 沢井正佳, 吉田太之, 美登路昭, 山尾純一, 松本雅則, 藤村吉博, 福井博. 内視鏡的逆行性膵胆管造影(ERCP)前後におけるADAMTS13活性とVWF抗原の動態. 第53日本消化器病学会大会(横浜), 2011年10月20日～23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・局所/全身合併症の診断における Perfusion CT の有用性

研究報告者 児玉裕三 京都大学医学研究科消化器内科学講座 助教

共同研究者

辻 喜久（京都大学消化器内科, Division of Radiology, Mayo Clinic, Rochester）

塩川雅広, 栗田 亮, 澤井勇吾, 宇座徳光, 千葉 勉（京都大学消化器内科）

渡邊 翼, 小泉幸司, 磯田裕義（京都大学放射線科）

山本 博（倉敷中央病院消化器内科）

【研究要旨】

膵炎の重症化は、局所所見(膵壊死/のう胞)ならびに全身所見を合併した状態と定義される。以上から、膵炎の重症度を評価するうえで、局所-全身合併症の両方を正確に診断することが重要である。我々は、Perfusion CT を用いれば、局所合併症(膵壊死)を正確に予測しうることを示したが Perfusion CT が、全身合併症を診断しうるかは不明である。そこで、重症急性膵炎の全身合併症の発症に深く関与すると考えられている発症早期の血清 Angiotensin-2 値¹⁾と Perfusion CT の測定値の関係をしらべたところ、有意に相関した。

A. 研究目的

重症急性膵炎の全身合併症の発症に深く関与すると考えられている発症早期の血清 Angiotensin-2 値と Perfusion CT の測定値の関係をしらべる。

B. 研究方法

発症3日以内に、Perfusion CT を撮像した49人のうち、発症3日以内の血清が保存されていた11人の Angiotensin-2 値を、ELISA 法にて測定した。ついで、発症3日以内の Perfusion CT (One-compartment 法)にて、膵 Perfusion Parameter (FV, VD, Tau, R2)を測定し相関関係を Spearman の相関係数を用いて調べた。本研究は、後ろ向きかつ一切の患者負担を伴わないものであり、倉敷中央病院倫理委員会の承認を得たものである。

C. 研究結果

発症早期の Tau が短縮した症例は、Angiotensin-2 値の上昇と相関関係を示した ($Rho = -0.68$, $p = 0.03$)。その他の Perfusion Parameter は有意な関係を示さなかった。

D. 考察

Tau 値は、腹部大動脈ならびに、非壊死部における実質の造影剤の動態から算出される。以上から、Systemic な血流以上の影響が Tau 値の短縮に関与している可能性があると考えられた。

E. 結論

重症急性膵炎の発症早期の血清 Angiotensin-2 値と Perfusion CT の測定値は相関する²⁾。

F. 参考文献

1. Whitcomb DC, Muddana V, Langmead CJ, Houghton FD Jr, Guenther A, Eagon PK, Mayerle J, Aghdassi AA, Weiss FU, Evans A, Lamb J, Clermont G, Lerch MM, Papachristou GI. Angiotensin-2, a regulator of vascular permeability in inflammation, is associated with persistent organ failure in patients with acute pancreatitis from United States and Germany. *Am J Gastroenterol.* 2010; 105: 2287-92.
2. Watanabe T, Tsuji Y, Kodama Y, Isoda H, Yamamoto H, Chiba T. Relationship between serum angiotensin-2 level and perfusion CT