

慢性膵炎の早期診断に対するプロテアーゼ依存 TGF- β 活性化反応を 標的とした新規線維化診断法の臨床的有用性に関する多施設共同研究

研究報告者 廣岡芳樹 名古屋大学医学部附属病院光学医療診療部 准教授

共同研究者

小嶋聡一（理化学研究所分子リガンド生物研究チーム），桐田暁子（理化学研究所分子リガンド生物研究チーム）
堀口明彦（藤田保健衛生大学胆膵・総合外科），入澤篤志（福島県立医科大学会津医療センター準備室）
伊藤鉄英（九州大学大学院病態制御内科学・膵臓病学），糸井隆夫（東京医科大学消化器内科）
竹原康雄（浜松医科大学医学部附属病院放射線部），山口武人（千葉県がんセンター）
正宗 淳（東北大学大学院消化器病態学），春日井俊史（袋井市立袋井市民病院消化器科）
石川卓哉（名古屋第一赤十字病院消化器内科），伊藤彰浩（名古屋大学大学院医学系研究科消化器内科学）
川嶋啓揮（名古屋大学大学院医学系研究科消化器内科学），大野栄三郎（名古屋大学医学部附属病院光学医療診療部）
伊藤裕也（名古屋大学大学院医学系研究科消化器内科学），中村陽介（名古屋大学医学部附属病院光学医療診療部）
平松 武（名古屋大学大学院医学系研究科消化器内科学），杉本啓之（名古屋大学大学院医学系研究科消化器内科学）
鷺見 肇（名古屋大学大学院医学系研究科消化器内科学），後藤秀実（名古屋大学大学院医学系研究科消化器内科学）

【研究要旨】

線維化初期マーカー TGF- β LAP 断片は，プロテアーゼ依存 TGF- β 活性化反応にて産生される副産物であり，初期の線維化マーカーとしての役割が期待されている．そこで慢性膵炎の早期診断に対する TGF- β LAP 断片の有用性を検討する事を目的に本多施設共同研究を計画した．対象は名古屋大学消化器内科及び共同研究機関において，「慢性膵炎臨床診断基準2009」により“慢性膵炎確定”，“慢性膵炎準確定”，“早期慢性膵炎”，“慢性膵炎疑診”或いは“早期慢性膵炎疑い”と診断した症例である．目標症例数は各病期20例の全100例，研究期間は平成24年1月～平成26年10月の予定である．検討内容を以下に示す．検討1)登録全症例の血漿 TGF- β LAP 断片濃度を測定し，慢性膵炎の5つの診断区分(慢性膵炎確定，慢性膵炎準確定，早期慢性膵炎，慢性膵炎疑診及び早期慢性膵炎疑い)との関連を検討する．検討2)研究期間内の膵切除例に対しては，切除膵における病理組織学的解析及び分子生物学的解析を詳細に行い，プロテアーゼ依存 TGF- β 活性化反応の慢性膵炎診断に対する有用性を探索的に検討する．現在の進捗状況は，2011年10月に独立行政法人理化学研究所倫理委員会の承認を得て，2012年1月に名古屋大学医学部附属病院 IRB にて承認された．2011年度中に名古屋大学にて症例集積を開始し，研究の忍容性，有効性，効率などを確認後，2012年度中に多施設共同研究に移行する予定である．TGF- β LAP 断片の有用性が明らかになれば，血液検査で早期の慢性膵炎を診断できるようになり，より低侵襲で客観性の高い診断方法の提供が可能になる．早期の研究完了を目標とする．

A. 研究目的

慢性膵炎は膵線維化の進行とともに，膵外分泌・内分泌機能の低下から栄養障害や糖尿病を発症し，生命予後の短縮，QOLの低下をきたす疾患である¹⁾．進行した慢性膵炎の多くは治療による予後改善が得られにくいため，慢性膵炎の予後を改善するには，慢性膵炎を早期に診断し，早期より積極的に治療介入する必要があ

る¹⁾．慢性膵炎を早期に診断することは臨床的に重要な課題であり，難治性膵疾患に対する調査研究班(下瀬川班)では“膵線維化の鋭敏な検出法の開発”を研究課題として取り上げている．

一方 TGF- β は，①細胞増殖抑制，②細胞外基質産生促進活性，③上皮-間葉細胞分化転換誘導活性，の三大活性を介して，肺線維症，肝硬変，腎炎，増殖性網膜症，心筋梗塞，嚢胞性

線維症、強皮症など様々な組織の線維症と深くかかわっているサイトカインである²⁾。そこで線維化における TGF- β シグナルの研究が精力的に進められ、TGF- β 活性化経路の一つとしてプロテアーゼ依存 TGF- β 活性化反応(図 1)が発見された^{3,4)}。現在本活性化反応を標的とした線維化診断法の開発(図 2)が試みられており⁵⁾、血漿 TGF- β LAP 断片は初期の肝線維化を検出できる可能性が報告されている⁶⁾。一方肝線維化で中心的役割をなす肝星細胞と膵線維化の中心的役割をなす膵星細胞とは、発現遺伝子の大部分が類似しているといわれており⁷⁾、

本活性化反応は膵臓における初期の線維化にも関与している可能性が高い。そこで本活性化反応を標的とした線維化診断法の、慢性膵炎早期診断に対する臨床的有用性を検討することを目的に本多施設共同研究を計画した。

B. 研究方法

対象：

名古屋大学消化器内科及び共同研究機関において、「慢性膵炎臨床診断基準2009」を用いて「慢性膵炎確診」，“慢性膵炎準確診”，“早期慢性膵炎”，“慢性膵炎疑診” 或いは “早期慢性膵

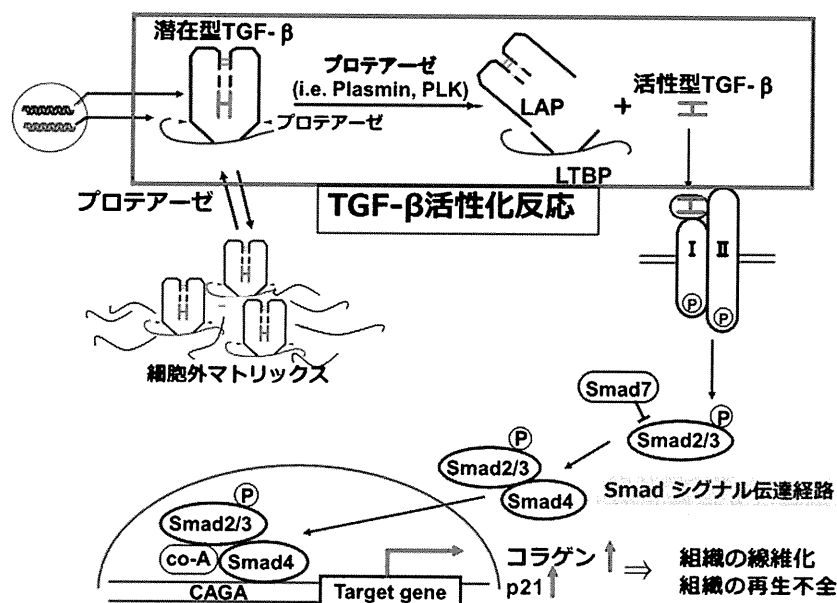


図 1 細胞外マトリックスに存在する高分子潜在型 TGF- β 複合体(LLC)がプラスミン/血漿カリクレイン(PLK)により切断され、活性型 TGF- β 、及び副産物のLatency associated protein (LAP)断片が生成される。活性型 TGF- β は線維形成に最も関与しているサイトカインであり、Smad シグナル伝達経路に作用することで最終的に線維形成を促進する。一方生成された LAP 断片は、TGF- β 活性化反応のサロゲートマーカーであり、すなわち線維化の活動度を反映するものと考えられる。

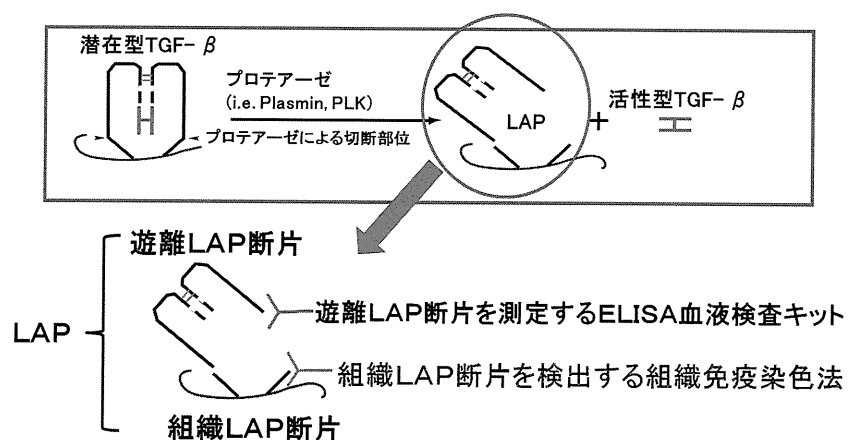


図 2 新規線維化診断技術として、①モノクローナル抗体を用いて血漿 LAP 断片濃度を測定する血液検査キット(ELISA)、および②モノクローナル抗体を用いて組織に残った LAP 断片を検出する免疫染色法が開発され(特許 US7, 803, 553; JP 4653660)、現在肝臓領域において多施設大規模臨床試験が進行中である。

炎疑い”と診断され、且つ患者の同意が得られた症例。

目標症例数：

「慢性膵炎臨床診断基準2009」における各診断区分(慢性膵炎確診，慢性膵炎準確診，早期慢性膵炎，慢性膵炎疑診，早期慢性膵炎疑い) 20例の全100例。

研究期間：

平成24年1月から，平成26年10月まで。

研究の概要①：

登録全症例の血漿 TGF- β LAP 断片濃度を測定し，慢性膵炎各診断区分(慢性膵炎確診，慢性膵炎準確診，早期慢性膵炎，慢性膵炎疑診及び早期慢性膵炎疑い)との関連を検討する。

研究の概要②：

研究期間内の膵切除例に対しては，切除膵における病理組織学的及び分子生物学的解析を詳細に行い，プロテアーゼ依存 TGF- β 活性化反応の慢性膵炎診断に対する有用性を探索的に検討する。具体的には切除膵組織をモノクローナル抗体にて免疫染色し，切除膵における LAP 断片の発現を観察する。また分子生物学的解析としては以下の4つの実験を行う。

1) in vitro PSC(膵星細胞)を用いて，PSCの活性化(= α SMA の発現)に伴い，培養液中に放出される LAP 断片と活性型 TGF- β の量をそれぞれの ELISA で定量し，三者の相関をみる。

2) in vitro PSC を用いて，PSC の活性化に伴い生成，細胞表面に残る LAP 断片と α SMA との蛍光二重染色を行い，両者の相関をみる。

3) in vitro PSC を用いて，TGF- β を切断活性化する本体である細胞表面の血漿カリクレイン-uPAR 複合体が増えることを確かめる。

4) 1)~3)を uPAR(血漿カリクレインのレセプター)高発現細胞や PLK siRNA KD(血漿カリクレイン産生をノックダウンした)細胞，FOY(血漿カリクレイン活性を阻害する)投与細胞で施行し，TGF- β 活性化反応の亢進または抑制の有無を検討する。

尚，血漿 TGF- β LAP 断片濃度の測定，組織 TGF- β LAP 断片に対する免疫染色及び

TGF- β 活性化反応のメカニズム解析は，すべて独立行政法人理化学研究所に委託して行う。

倫理面への配慮：

本研究は名古屋大学医学部附属病院 IRB(承認番号：1313)および独立行政法人理化学研究所倫理委員会(承認番号：和光第三18-13(8))の承認をうけ，ヘルシンキ宣言に準拠して施行する。実施に当たっては，文書および口頭にて被験者の同意を取得する。研究の参加は被験者の自由意思である。研究途中であっても，口頭もしくは文書による同意の撤回は可能である。たとえ研究の参加に同意されなくても，本研究以外に享受出来る診療に不利益を生じることはない。同意の撤回とともに，管理している試料はすべて復元不可能な状態に処理する(試料は，匿名化されていることを確認後感染性廃棄物として処理，印刷物等はシュレッダーで粉砕して廃棄，電子情報はディスクをフォーマットするなどして消去する)。論文もしくは学会等での発表は，個人を特定できない形式で行う。各共同研究機関と名古屋大学，或いは理化学研究所間での検体および診療情報の移動は，匿名化した状態で行う。本研究に参加することによって，新たに付加される身体的負担はないが，慢性膵炎の診断にあたり各種画像検査，採血などを施行するため，検査に伴う合併症を生じる可能性がある。合併症に対しては，その程度に応じて，標準的医療基準に基づいた対応を迅速に行う。本研究に関して，関連企業や営利団体との利益相反関係は一切認めない。

C. 研究結果

進捗状況を示す。2011年10月に独立行政法人理化学研究所の倫理委員会の承認，2012年1月に名古屋大学医学部附属病院 IRB の承認を得て，同月より症例集積を開始する予定である。

D. 考察

今後の展望は2011年度内に名古屋大学にて試験の認容性，有効性，効率などを確認後，2012年度内に多施設共同試験に移行，2013年度は症例集積を継続し，2014年10月の試験完了を目標とする。

E. 結論

慢性膵炎早期診断に対する TGF- β LAP 断片の有用性に関する多施設共同研究を計画した。本研究の有用性が明らかになれば、血液検査で早期の慢性膵炎を診断できるようになり、低侵襲で客観性の高い診断方法の提供が可能になる。早期の研究完了を目標とする。

F. 参考文献

1. 厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班, 日本膵臓学会, 日本消化器病学会: 慢性膵炎臨床診断基準2009. 膵臓 2009; 24: 645-708.
2. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor β in tissue fibrosis. *N Engl J Med.* 1994; 331: 1286-92.
3. Okuno M, Akita K, Moriwaki H, et al. Prevention of Rat Hepatic fibrosis by the protease inhibitor, camostat mesilate, via reduced generation of active TGF- β . *Gastroenterology.* 2001; 120: 1784-800.
4. Akita K, Okuno M, Enya M, et al. Impaired liver regeneration in mice by lipopolysaccharide via TNF- α /kallikrein-mediated activation of latent TGF- β . *Gastroenterology.* 2002; 123: 352-364.
5. 原 詳子, 小嶋聡一: TGF- β と線維症—TGF- β を標的とした線維症の予防・治療法, 診断法開発の試み. 医学のあゆみ 2010; 10: 977-82.
6. 原 詳子, 桐田暁子, 松浦知和, 他: プロテアーゼ依存 TGF- β 活性化反応副産物(LAP断片)の初期線維化マーカーとしての有用性検討. 肝臓 2011; 52(Suppl.1): A359.
7. Buchholz M, Kestler HA, Holzmann K, et al. Transcriptome analysis of human hepatic and pancreatic stellate cells: organ-specific variations of a common transcriptional phenotype. *J Mol Med.* 2005; 83: 795-805.

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

新規線維化診断技術として, ①モノクローナル抗体を用いて血漿 TGF- β LAP 断片濃度を測定する血液検査キット(ELISA), および②モノクローナル抗体を用いて組織に残った TGF- β LAP 断片を検出する免疫染色法が開発され, 米国および本国にて特許申請済みである(特許 US7,803,553; JP 4653660).

2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

新しい膵外分泌機能検査の開発

研究報告者 丹藤雄介 弘前大学医学部附属病院内分泌代謝内科学 講師

共同研究者

今 昭人, 近澤真司, 佐藤江里, 松本敦史, 松橋有紀, 田中 光, 柳町 幸, 中村光男
(弘前大学医学部)

下瀬川徹 (東北大学大学院消化器病態学), ワーキンググループ

【研究要旨】

安定同位体¹³Cで標識した基質を経口的に投与し、一定間隔で回収した呼気CO₂中の¹³C/¹²C存在比の変化を検討することで、その基質の消化吸収のされ方を評価することが可能である。この原理に基づく松本、中村らのBenzoyl-L-Tyrosyl-[1-¹³C]Alanineを基質とした¹³C-BTA法は、一定の条件下で膵外分泌機能不全(40g以上の脂肪摂取で脂肪便5g以上と定義)の検出に有用である。しかし、膵外分泌機能の軽度低下の検出や膵外分泌機能の完全定量化については、早期慢性膵炎の診断や膵外分泌機能に対する治療法の評価などへの必要性が指摘されているが、現在のところよい方法がない。さまざまな方法論を検討し、新しい膵外分泌機能検査法の開発を進める必要がある。

A. 研究目的

膵外分泌機能評価は、膵疾患患者の病期把握や予後予想に必要であり、消化酵素補充療法導入の目安としても重要である。しかし現在、臨床的に実施可能な膵外分泌機能検査はPFD[®]試験のみで、中村らが開発中の¹³C-BTA呼気試験や蓄便による便中脂肪量の測定は、保険適用がないことや、分析が煩雑、検体取り扱いに難があるなどの理由により、一部の施設で研究目的にしか施行されていない。また、これまで膵外分泌機能検査のGold standardであったセクレチン試験もセクレチンの入手が困難となり実施できなくなっている。そこで、膵外分泌機能が定量化でき、検体採取に侵襲が少なく、検体取り扱いが煩雑ではない新しい検査法の確立が求められている。本研究では、中村らが開発中の¹³C-BTA呼気試験の臨床的実用化と新しい膵外分泌機能検査法の探索を目的とした。

B. 研究方法

治療目的でExendin-4を使用した2型糖尿病患者の、Exendin-4導入前と導入2週間後に、PFD[®]試験を施行し、膵外分泌機能を比較検討した。すなわちExendin-4による膵外分

泌刺激および非刺激で差が生じ、Exendin-4負荷試験として膵外分泌機能を評価することが可能かどうかを検討した。また、DPP-4 inhibitorによる同様の検討が可能かどうかを調べるため、糖尿病患者および膵性糖尿病患者のDPP4活性をH-Gly-Pro-AMC・HBrを基質として測定した。

(倫理面への配慮)

PFD試験の実施および臨床検査値の解析については、十分な説明に基づく同意を得て行い、個人情報保護に十分配慮した。

C. 研究結果

治療上の必要性がありExendin-4導入が予定となった糖尿病患者3例(男性2例, 女性1例)から同意を得、PFD[®]試験を施行した。糖尿病患者におけるPFD[®]試験の結果は、Exendin-4投与前がそれぞれ、78.6%, 82.2%, 64.4%であり、Exendin-4投与後がそれぞれ92.4%, 82.6%, 78.6%といずれもExendin-4投与後が高値であった(図1)。一方、糖尿病患者43例(一次性33例, 膵性11例)の血中DPP4活性は平均 8.42 ± 1.63 nmol/min/mlであった。一方DPP4 inhibitorを服用していた糖尿病1例

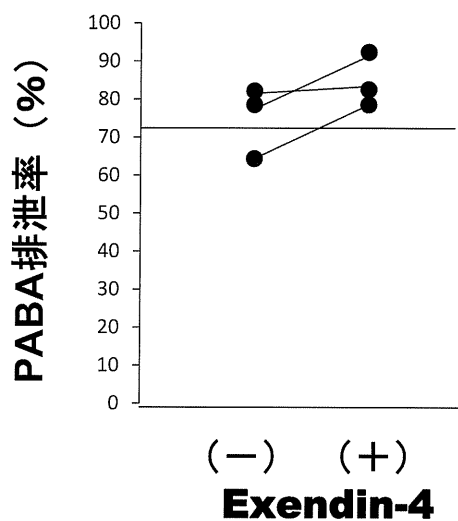


図1 2型糖尿病患者 n = 3 Exendin-4 導入前および Exendin-4 導入2週間後に PFDR 試験を実施した

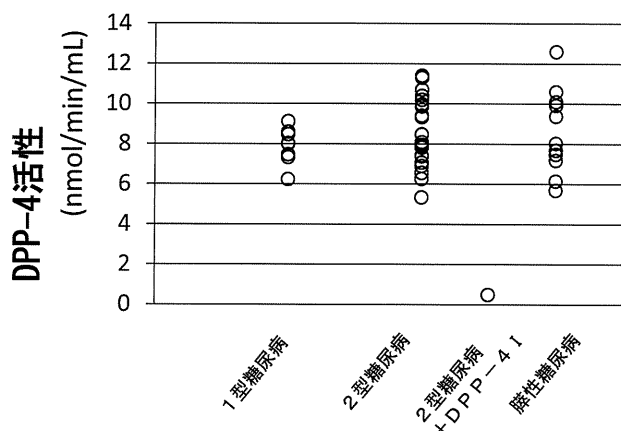


図2 1型糖尿病, 2型糖尿病, 慢性膵炎(膵性糖尿病)の DPP-4 活性を H-Gly-Pro-AMC · HBr 基質に測定した

では0.49 nmol/min/ml と DPP4 活性は抑制されていた(図2)。

D. 考察

現在実施可能な膵外分泌機能検査である PFD[®]試験や ¹³C-BTA 呼気試験は、セクレチン試験と異なり膵臓を刺激せずに膵外分泌機能を評価する検査である。すなわち、膵消化酵素の基礎分泌を評価する方法という事ができる。しかし、便中脂肪測定による検討からも理解できるように、膵外分泌機能は大きな予備能を持っているため、機能がかなり低下するか、大量に基質を摂取するなどして膵臓を刺激した状態で評価しなければ、症状(徴候, 検査結果など)をとらえることは困難である。

今回我々は、膵外分泌機能を刺激するという

方法で、より鋭敏な膵外分泌機能試験として使用できるものはないかを検討した。膵外分泌を刺激する(≒膵炎惹起の報告のある)物質または薬物として、アルコール、アセチルコリン、L-アスパラギナーゼ、シクロスポリン、ペグインターフェロンアルファ[®]2b、バルプロ酸ナトリウム、GLP-1 レセプターアゴニスト、DPP4 inhibitor などが報告されている¹⁾がその作用機序が不明であるものが多い。

今回、検討した GLP-1 レセプターアゴニスト Exendin-4 (Byetta[®])は、膵β細胞からインスリンを分泌させる作用の他、ラットにおいて膵腺房細胞の c-AMP を増加させ、Ca²⁺ 存在下でアミラーゼを分泌させることが知られている²⁾。膵疾患患者に Exendin-4 を単回使用することの安全性は検討されなければならないが、膵外分泌機能が低下していない糖尿病患者において、PFD[®]試験の結果が増加していることより、軽度の機能低下を評価できる可能性が示唆される。DPP4 inhibitor を投与した場合でも、内因性 GLP-1 の分解遅延が生じて、膵が刺激されていることも考えられる。膵性糖尿病においても DPP4 活性は一次糖尿病患者(1型糖尿病および2型糖尿病)とほぼ同様であることから、同様の機序で DPP4 inhibitor によって内因性の GLP-1 の分解延長が起こっていると考えられる。現在 GLP-1 の実測はさまざまな問題が指摘されており安定して測定できない状態であるが、注射薬より内服の方が侵襲は少なく簡便であり、今後 DPP4 inhibitor 服用前後での PFD[®]試験を検討する必要がある。また、PFD[®]試験についても結果にばらつきが多いため、前後で2回づつの施行が望ましいと考えられた。

E. 結論

PFD 試験を Exendin-4 による膵刺激下、膵非刺激下で施行し、その結果を比較することで、膵外分泌機能を評価できる可能性が示唆された。膵刺激の程度等の基礎的検討、試験条件、安全性などを検討しながら、その実用性について今後検討したい。

F. 参考文献

1. 丹藤雄介, 佐藤江里, 中村光男. インクレチン関連薬と膵炎. Medical Practice 29 (1) 106-110, 2012.
2. Malhotra R, Singh L, Eng J, Raufman JP. Exen-din-4, a new peptide from Heloderma suspectum venom, potentiates cholecystokinin-induced amy-lase release from rat pancreatic acini. Regul Pept. 41 (2) 149-56, 1992

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

慢性膵炎の成因の定義に関する検討

研究報告者 木村 理 山形大学医学部外科学第一講座 主任教授

共同研究者

下瀬川徹（東北大学大学院消化器病態学），伊藤鉄英（九州大学大学院病態制御内科学・膵臓病学）
大原弘隆（名古屋市立大学大学院地域医療教育学），岡崎和一（関西医科大学内科学第三講座消化器内科学）
神澤輝実（東京都立駒込病院内科），佐田尚宏（自治医科大学消化器・一般外科，鏡視下手術部）
竹山宜典（近畿大学医学部外科学），丹藤雄介（弘前大学医学部附属病院内分泌代謝内科学）
成瀬達（みよし市民病院），峯徹哉（東海大学医学部消化器内科）
須田耕一（東京西徳洲会病院病理科），西森 功（西 森 医 院）
丸山勝也（国立病院機構久里浜アルコール症センター内科），宮川宏之（札幌厚生病院第二消化器科）
廣田衛久（東北大学病院消化器内科）

【研究要旨】

ガイドライン，臨床診断基準における成因の定義も時代の流れとともに変わっていくものである。慢性膵炎の成因の定義に関するアンケート調査，文献検索を行い，成因の定義に関する問題点を抽出し，そこから考えられる現段階での方向性を示すことを目的とした。

慢性膵炎/急性膵炎の成因の定義に関する検討の共同研究者24名を中心に電子メールを利用したアンケート調査を施行し，さらに文献を含めて検討した。様々な見解はあるが閉塞性膵炎，自己免疫性膵炎を慢性膵炎から除外していいのか，慢性膵炎の拾い上げ基準としてのアルコール量に関して以下の①，②を一つの案として提唱したい。①閉塞性慢性膵炎，自己免疫性膵炎は，広義には慢性膵炎という範疇に入れ，臨床分類で区別し，別疾患として診断・治療を行う。②アルコール性慢性膵炎の拾い上げ基準としての1日アルコール量，男性で50g，数年以上の飲酒歴，また女性は男性より少ない飲酒量・期間とする。

A. 研究目的

ガイドライン，臨床診断基準における成因の定義も時代の流れとともに変わっていくものである。慢性膵炎は，いくつかの危険因子の複合作用により発症すると考えられるようになってきており，欧米から同様の考え方に基づいた慢性膵炎の成因分類がTIGAR-O分類¹⁾やM-ANNHEIM分類²⁾などで提唱されている。難治性膵疾患に関する調査研究班の立場からも慢性膵炎の成因の定義に関わる重要な論文があればそれに基づき，成因の定義の更新作業を行っていく必要がある。今回，共同研究者を中心としたアンケート調査，文献検索から成因の定義に関する問題点を明確にし，一定の方向性を示すことを目的とした。

B. 研究方法

平成23年度 第1回研究報告会で議題に挙げられた検討項目（閉塞性膵炎，自己免疫性膵炎は慢性膵炎から除外していいのか，アルコール慢性膵炎の定義，アルコール何g何年か，日本人と欧米人の人種差，性差，胆石性膵炎，特発性膵炎の定義）に関する見解，その他の成因の定義に関する問題点を明らかにする目的で，慢性膵炎/急性膵炎の成因の定義に関する検討の共同研究者24名を中心に電子メールを利用してアンケート調査を施行した。

【アンケートの内容】

ガイドライン，臨床診断基準における成因の定義も時代の流れとともに変わっていくものであると考えられます。難治性膵疾患に関する調査研究班の立場から成因の定義の更新作業を行

っていく必要があると考えられます。成因の定義に関わる重要な論文があればそれに基づき、もしそのような論文がなければ見識のある先生方のコンセンサスで成因の定義を決めて行かなくてはいけないと考えております。第1回の研究打ち合わせ会では、下記の項目を含む、いくつかの成因の定義に関する問題点を先生方に挙げて頂いております。これらの項目に関わる重要な論文等がございましたらお教え下さい。論文が無い場合は、先生方の率直な意見をお聞かせ頂ければと考えております。また、下記の事項以外にも先生方が日常、成因の定義に関して考えている問題点などございましたら御教授下さい。御意見の中に、可能でございましたら現在のガイドライン等における成因の定義との相違点も明示して頂ければ幸いです。

- 閉塞性膵炎、自己免疫性膵炎を慢性膵炎から除外していいのか。
- アルコール性急性/慢性膵炎の定義、アルコール何g/日、何年か？
- 日本人と欧米人の人種差、性差
- アルコール性急性膵炎と慢性膵炎の急性増悪の鑑別
- 胆石性膵炎の定義
- 特発性膵炎の定義など

(倫理面への配慮)

本研究は、電子メールでのアンケート調査、文献検索から構成されており、倫理的な問題は無いと考えられる。

C. 研究結果

1. アンケート回収率

全体でアンケートの回収率は67%(16/24)であった。慢性膵炎に関しては全体の54%(13/24)の先生に回答を頂いた。

2. 閉塞性膵炎を慢性膵炎に含めるか？

【慢性膵炎に含めてもいいとする回答】

- 閉塞性膵炎は本来、病態診断名であり、発症機転よりも進展機転を理解する上で有用な病名である。この病名自体が慢性膵炎固有の1型を示すものではない。閉塞性慢性膵炎という名称であれば慢性膵炎診断基準に残し得る。
- 病理学的には、広義の慢性膵炎という範疇に

入るか、膵の急性炎症では無いという観点では同じ。臨床的には区別して別疾患として扱うべき。

- 概念としては広く慢性膵炎の中に含め、臨床の間では、成因別に扱う。
- 可逆性のこともあるので今回の診断基準から外されたが閉塞性膵炎は慢性膵炎に入れてもいいと考えている。

【慢性膵炎には含めないとする回答】

- 閉塞性膵炎は多くの場合、原因が除かれると改善され慢性膵炎と異なっている。

【その他の意見】

- 慢性膵炎診断基準において“常に膵癌の除外”を明文化する必要がある。
- 膵管癒合不全に合併した慢性背側膵炎は、背側膵のみに起きた慢性膵炎ですが、これが除外されてもいいのか？

3. 自己免疫性膵炎は慢性膵炎か？

【慢性膵炎に含めてもいいとする回答】

- 自己免疫性膵炎は、基本的には慢性膵炎の1型であり、本来は慢性膵炎から除外するべきでは無い。慢性膵炎に内包させながら診断基準と治療法は別にする。最近の症例集積からステロイドが奏功しても膵石形成に至る症例も経験され、非可逆性進行性の慢性膵炎の長い臨床経過の中で、自己免疫性膵炎としての可逆的な一時期をみている可能性もある。
- 概念としては広く慢性膵炎の中に含める。臨床の間では成因別に扱う。
- 自己免疫性膵炎は進行した末期では慢性膵炎の病態・形態を呈するので慢性膵炎から外すことに少し抵抗がある。その点、TIGAR-O分類は理解しやすく、同じような分類にしていくことを考慮するのも良いと考えている。

【慢性膵炎に含めないとする回答】

- 自己免疫性膵炎の場合、線維化がみられるものの、ステロイド治療により線維化および膵内外分泌機能も改善することから除外していい。
- 自己免疫性膵炎の胆管病変と硬化性胆管炎の関係と同様に、自己免疫性膵炎と慢性膵炎は別疾患と考えた方がいいと考えている。
- 自己免疫性膵炎は多くの場合、原因が除かれ

ると改善され慢性膵炎と異なっている。

【その他の意見】

- 自己免疫性膵炎の中には経過中に膵石がみられるようになるなど、慢性膵炎の診断基準をみたく病態になる症例が存在する。アルコール性慢性膵炎がベースにあるかなど、純粋な自己免疫性膵炎で慢性膵炎に進行する症例がどのくらいいるのかなど今後検討する必要がある。
- 自己免疫性膵炎の進行例では、ステロイド治療後に膵管像が慢性膵炎の正確診画像(ERP画像で膵全体に分布するびまん性の分枝膵管の不規則な拡張)を呈する場合がある。このような症例を慢性膵炎の正確診と診断すると成因は自己免疫性とならざるを得ない。このような症例の長期経過を調べ膵管像や膵機能が改善するのか調査する必要がある。

4. 胆石性慢性膵炎に関して

- 慢性膵炎に関して胆石性の分類があるのは、日本だけでTIGAR-O分類を含めた欧米の最近の分類には、胆石性の慢性膵炎は含まれていない。胆石性急性膵炎を繰り返し、炎症が持続することで慢性に進展していく可能性はあるが、その他の機序での胆石と慢性膵炎の間の因果関係は不明である。非専門家の先生の中には、慢性膵炎に胆石を合併している症例の成因を胆石性としている可能性も考えられ、基本的には除外するべきと考える。

5. 慢性膵炎の発症に関するアルコール量の目安について

【現在の基準になった経緯】

現行の臨床診断基準の1日80g以上(純エタノール換算)の持続する飲酒歴は

①Zurich classification 1997で「80g/日以上が推奨されている」

②1986年アルコール性肝障害の飲酒家の基準が約80g/日(日本酒換算で3合)

③80gが日本酒3合、ビール大瓶3本など臨床上使用しやすい量であることから80gに決定されたが明確なエビデンスは無く、拾い上げ基準として便宜上決定した量である。

【現在の基準を支持する回答】

- アルコール80g/日、10年(日本酒換算3合/

日程度)。

- 3合以上。

- >80g/day for more than 7 years (Pancreatology 2004; 4: 223-228)。

【現在より少ない量(1日当たり)のアルコール量を支持する回答】

- 現在の飲酒量の基準には明確なエビデンスは無く、もう少し少ない量でも発症するので50gで3年以上の飲酒歴。
- 飲酒指数(飲酒指数=1日飲酒量×飲酒年数)1000以上を目安にする。例えば50g/日×20年など。

【アルコール量を定義することは難しいとする回答】

- 飲酒年数、飲酒量に関しても個人差の非常に大きな疾患で、定義づけること自体が困難。今回の慢性膵炎の診断基準では80g/日と定義されたが、これはアルコール性肝障害から流用したものである。この機会に新たな膵炎領域でのEBM(Evidence based medicine)づくりに着手するべき。
- 30~40歳代の若年者が多く、アルコール性肝障害のように単純に一日の飲酒量×年数のアルコール積算量だけで発症が規定されるものではないと考えている。
- Genetic backgroundのある症例では機会飲酒程度で発症する人もいる。飲酒量を定義するのは困難。

6. 慢性膵炎の発症に関するアルコール量と性差について

- 女性は男性より少ない量、期間で発症する。

7. 特発性慢性膵炎の定義に関して

- 様々な成因を検索して、原因が特定できなかったもの。遺伝的背景が関与する症例が少なからず存在するのでその旨を記載する。
- 通常の原因検索と画像診断に加えて、ERCP, Manometryなどを行っても成因が特定されないもの。
- TIGAR-Oに準拠した原因検索を行っても、現時点で発症原因が不明な慢性膵炎。
- 特発性はアルコール、胆石性、高中性脂肪血症、内視鏡(ERCP)処置後、外傷、手術、遺伝性など成因として報告されている症例以外

のものとする。厚生労働省の全国調査で1%以上の頻度のもので線引きすればよいのではないかと考える。

- 特発性膵炎の診断には自己免疫性膵炎と閉塞性膵炎を除外する必要がある。

8. 胆石性慢性膵炎に関して

- 慢性膵炎に関して胆石性の分類があるのは、日本だけでTIGAR-O分類を含めた欧米の最近の分類には、胆石性の慢性膵炎は含まれていない。胆石性急性膵炎を繰り返し、炎症が持続することで慢性に進展していく可能性はあるが、その他の機序での胆石と慢性膵炎の間の因果関係は不明である。慢性膵炎に胆石を合併している症例の成因を、他の成因検索を行わずに胆石性としてしまう可能性もあり、基本的に除外するべきではないか。

9. 慢性膵炎の成因の定義に関する意見

- TIGAR-O分類は理解し易く、同じように分類することを考慮していいのではないか。
- 「それは○○○が原因になっている慢性膵炎だ」というように個々のケースを定義に当てはめるのではなく、「○○○が原因となって慢性膵炎が発症した可能性がある」とリスクを考慮した成因分類にするとよいのではないか。あまりに成因にこだわりすぎて、成因を決定したらそれが全てで、臨床像を成因別の病態に当てはめるような診療になってはいけない。
- 慢性膵炎の成因、発症などの機序は、TIGAR-Oでも唱えられているように複合因子の複合作用が多い。

D. 考察

慢性膵炎の成因の定義も、日々刷新される知見に基づき変化していく必要がある。

慢性膵炎臨床診断基準2001で³⁾、慢性膵炎臨床診断基準の確診、準確診に合致しないことのある膵臓の慢性炎症として慢性閉塞性膵炎、膵管狭細型慢性膵炎は、別枠の注釈で記載された。慢性膵炎臨床診断基準2009でも⁴⁾自己免疫性膵炎および閉塞性膵炎は、治療により病態や病理所見が改善する事があり、可逆的である点より、現時点では膵の慢性炎症として別個に扱

表1 慢性膵炎の定義

慢性膵炎は膵臓の内部に不規則な線維化、細胞浸潤、実質の脱落、肉芽組織などの慢性変化が生じ、進行すると膵外分泌・内分泌機能の低下を伴う病態である。膵内部の病理組織学的変化は、基本的には膵臓全体に存在するが、病変の程度は不均一で、分布や進行性も様々である。これらの変化は、持続的な炎症やその遺残により生じ、多くは非可逆的である。

慢性膵炎では、腹痛や腹部圧痛などの臨床症状、膵内・外分泌機能不全による臨床症候を伴うものが典型的である。臨床観察期間内では、無痛性あるいは無症候性の症例も存在し、このような例では、臨床診断基準をより厳密に適用すべきである。慢性膵炎を、成因によってアルコール性と非アルコール性に分類する。自己免疫性膵炎と閉塞性膵炎は、治療により病態や病理所見が改善することがあり、可逆的である点より、現時点では膵の慢性炎症として別個に扱う。

(慢性膵炎臨床診断基準2009. 膵臓 24; 645-646, 2009)

うとされた(表1)。

閉塞性膵炎に関するアンケート調査からは広く慢性膵炎に含め臨床分類で区別するというものから、反対に原因が除かれると多くの場合、改善され慢性膵炎とは異なっているという大きく2つの意見が存在した。閉塞性膵炎では、原因が取り除かれると膵の線維化や障害された膵腺房細胞は改善するのか、また、慢性膵炎の定義の中(表1)に“多くは非可逆的”という記載があり、その記載をそのまま解釈すれば可逆性であるから除外するという理由は矛盾しているとも考えられる。欧米における成因分類であるTIGAR-O¹⁾やM-ANNHEIM²⁾分類では、閉塞性膵炎は慢性膵炎に含まれており、海外の分類との整合性の問題もあるだろう。また、記載の仕方として“閉塞性膵炎”は病態診断名であり、“閉塞性慢性膵炎”を使用するべきという意見もあった。英語表記は“Obstructive chronic pancreatitis”であり¹⁾、そのまま訳すと閉塞性慢性膵炎となる。用語に関しても統一した見解が必要であろう。今回の検討から閉塞性膵炎に関して以下の①、②ではどうかと考えている。①広義には、閉塞性慢性膵炎という用語で慢性膵炎という範疇に入れる。②臨床分類で区別し、別疾患として診断・治療を行う。

自己免疫性膵炎に関するアンケート調査からは、閉塞性膵炎と同様に、疾患概念として慢性

膵炎の中に含めて、臨床分類で区別するという意見と、ステロイドにより改善することから慢性膵炎から除外してもいいという意見の大きく2つの見解に分かれた。また、自己免疫性膵炎の中には、ステロイド治療後に膵石が認められる症例や膵管像が慢性膵炎診断基準2009の正確診画像(ERP像で膵全体に分布するびまん性の分枝膵管の不規則な拡張)を呈し、非可逆的な経過を辿る症例がいるという内容の回答を何人かの先生から頂いた。このように自己免疫性膵炎には慢性の経過を辿る症例が存在する可能性があり、現時点では慢性膵炎と自己免疫性膵炎は図1のような関係にあるのではないかと考えている。アルコールなど他の成因の関与が自己免疫性膵炎の経過に与える影響などを含め、長期経過を明らかにすることが今後の課題であると考えられるが、現段階では、広義には慢性膵炎という範疇に入れ、臨床分類で区別し、別疾患として診断・治療を行うことを一つの案として考えている。

慢性膵炎臨床診断基準におけるアルコール量の基準は1日80g以上(純エタノール換算)の持続する飲酒歴となっている。この飲酒量となった理由は以下の①～③の3点からである⁷⁾。
 ① Zurich classification 1997で⁵⁾「80g/日以上が推奨されている」② 1986年アルコール性肝障害の飲酒家の基準が約80g/日(日本酒換算で3合)⁶⁾③ 80gが日本酒3合、ビール大瓶3本など臨床上使用しやすい量である。しかし、アルコール80g/日を裏付ける明確なエビデンス

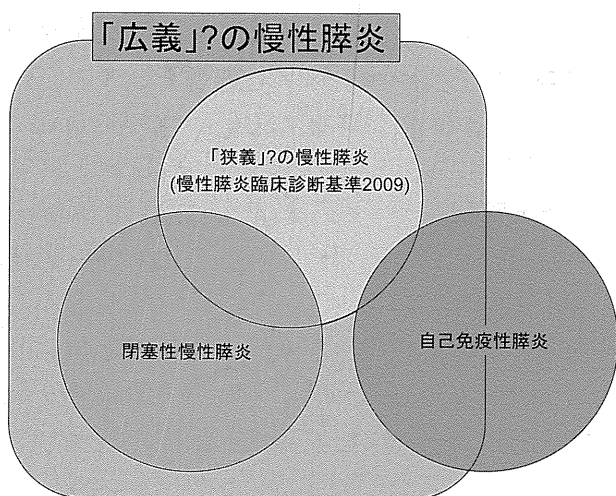


図1 「広義」? の慢性膵炎

は無く、拾い上げ基準として便宜上定められた量である。今回のアンケート調査では現行の基準を支持する意見、もう少し少ない量でも良いのではないかとする意見、個人差が大きく量を定義するのは難しいとする大きく3つの意見に分けられた。確かに、現在の基準である80g/日(純エタノール換算)を作成する際に参考にされた論文では1日のアルコール量の平均値は144~397gと多いものが多い⁸⁾が、Zurich classificationが作成された1997年以降の論文では40~60g/日の継続した飲酒は慢性膵炎発症のリスクを上昇させるという報告が相次いでいる⁹⁾⁻¹⁴⁾。また、平成10年度の難治性膵疾患に関する調査研究報告書では1日飲酒量50-99g以上のオッズ比6.72(95%信頼区間:1.95-18.5)と報告されている¹⁵⁾。アルコール性慢性膵炎と診断された症例の中に80g/日未満の飲酒量の患者が相当数含まれている^{16),17)}という実情を勘案しても現在の飲酒量の基準を再検討する時期にきていると考えられる。また、比較的最近、報告された慢性膵炎の分類であるM-ANNHEIM分類では80g/日より少ないアルコール量をリスク因子として設定している²⁾。

飲酒期間に関しては、個人差が大きいことから慢性膵炎診断基準2009では設定されなかった⁴⁾。海外の分類ではZurich classification, M-ANNHEIM分類ともに数年間(for several years)の飲酒歴としており個人差を加味した広い範囲の設定となっている^{1),2)}。飲酒期間に関しては平成10年度難治性膵疾患の研究報告書にある1日飲酒量×飲酒年数で決まる飲酒指数1000-2999のオッズ比は5.95(95%信頼区間:1.91-18.5)であり、飲酒指数1000以上も一つの参考になると考えられる¹⁶⁾。

アルコール量における性差に関しては、最近行われた本邦におけるアルコール性膵障害の実態調査で、男性と比べ女性は飲酒期間、累積飲酒量ともに少なかったという結果が得られている¹⁷⁾。一般的に女性は男性と比べアルコールに対する感受性が高いと考えられているがZurich classificationでも女性は男性と比べて少ない飲酒量・期間とされている⁵⁾。

今回の検討から、慢性膵炎拾い上げ基準とし

での飲酒量・期間を以下のようにしてみてもどうかと一つの案として考えている。「1日のアルコール量, 男性で50 g以上, 数年以上の飲酒期間, また女性はこれより少ない飲酒量・期間」。一般的に適量と考えられている1日の飲酒量は, 男性は約20 g, 女性は男性より少ない量¹⁸⁾, 男性では1日約50 g以上の継続した飲酒は健康を害すると考えられている¹⁸⁾⁻²⁰⁾。啓蒙の観点からもこの位の量が適切ではないかと考えている。さらに, 喫煙, 遺伝的背景などのその他の慢性膵炎発症に関与する危険因子が加わることにより, これより少ない量でも慢性膵炎を発症することがあるという旨の文章を, 同様に啓蒙的な観点より注釈などで加えてはどうかと考えている。

胆石を慢性膵炎の成因の一つとして難治性膵疾患調査研究班では古くから用いてきたが, 最近ではその因果関係に関して懐疑的な論文もある²¹⁾。TIGAR-O分類やM-ANNHEIM分類など欧米の分類では胆石を慢性膵炎の独立した成因としていない^{1),2)}。アンケート調査でも急性膵炎を繰り返し慢性膵炎に移行していく症例は存在する可能性はあるが, その他の機序は分かっておらず, 胆石を合併しているだけで安易に胆石性慢性膵炎と診断してしまう危険性があり基本的には除外したほうがいいのではないかという意見があった。どういふものを胆石性慢性膵炎とするのかについても検討が必要であると考えられる。

特発性慢性膵炎に関するアンケートの回答では, ERCPやManometryなどを含む成因検索(TOGAR-O分類に準拠した)をしても成因が特定されない慢性膵炎。また, この中には遺伝的背景を有している症例が存在するという記事を記載すべきという意見もあった。特発性慢性膵炎の診断は, 他の成因の除外診断でなされるため, 鑑別すべき成因とそれぞれの成因の定義をある程度, 明確にする必要があると考えられる。

成因の分類に関していくつかのアンケートからTIGAR-O分類と同じように, 複合因子の作用で慢性膵炎は発症するというを前提とした成因分類を考慮した方がいいのではないか

という意見があった。難治性膵疾患の調査研究班として, 今後どのような成因分類を用いていくかも今後の検討課題の一つである。

アンケートに記載は無かったが高脂血症性の慢性膵炎に関しても, 高脂血症と急性膵炎との因果関係は分かっているが慢性膵炎との因果関係は分かっておらず^{22),23)}, どのような症例を高脂血症性とするかについても検討が必要であると考えられる。また, 最近では喫煙が補助因子として慢性膵炎の発症を促進するのみではなく, 独立した危険因子であるとする報告がなされてきている²⁴⁾⁻²⁶⁾。また, 一つ一つのリスク因子の作用は小さくても, 複数のリスク因子が作用することにより慢性膵炎へと進展すると考えられるようになってきており²⁷⁾, このような症例の扱いに関しても明確にしていく必要があるだろう。

E. 結論

閉塞性膵炎, 自己免疫性膵炎を慢性膵炎から除外していいのか, 慢性膵炎の拾い上げ基準としてのアルコール量に関して以下の①, ②を一つの案として提唱したい。①閉塞性慢性膵炎, 自己免疫性膵炎は, 広義には慢性膵炎という範疇に入れ, 臨床分類で区別し, 別疾患として診断・治療を行う。②アルコール性慢性膵炎の拾い上げ基準としての1日アルコール量, 男性で50 g, 数年以上の飲酒歴, また女性は男性より少ない飲酒量・期間とする。

F. 参考文献

1. Etemad B, Whitcomb DC. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology* 2001; 120: 682-707.
2. Schneider A, Löhr JM, Singer MV. The M-ANNHEIM classification of chronic pancreatitis: introduction of a unifying classification system based on a review of previous classifications of the disease. *J Gastroenterol* 2007; 42: 101-119.
3. 日本膵臓学会. 日本膵臓学会慢性膵炎臨床診断基準2001. *膵臓* 2001; 16: 560-561.
4. 厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班,

- 日本膵臓学会, 日本消化器病学会. 慢性膵炎臨床診断基準 2009. 膵臓 2009; 24: 645-646.
5. Ammann RW. A clinically based classification system for alcoholic chronic pancreatitis: summary of an international workshop on chronic pancreatitis. *Pancreas* 1997; 14: 215-221.
 6. 武内重五郎, 奥平雅彦, 高田 昭, 太田康幸, 辻井 正, 伊藤 進, 藤沢 列, 谷川久一, 蓮村 靖. わが国におけるアルコール性肝障害の実態(その2)—1985年全国集計の成績から. *日消誌* 1987; 84: 1623-1630.
 7. 佐田尚宏. 診断基準の解説—6. 早期慢性膵炎の概念—. *膵臓* 2009; 24: 676-679.
 8. Durbec JP, Sarles H. Multicenter survey of the etiology of pancreatic diseases. Relationship between the relative risk of developing chronic pancreatitis and alcohol, protein and lipid consumption. *Digestion* 1978; 18: 337-350.
 9. Talamini G, Bassi C, Falconi M, Sartori N, Salvia R, Rigo L, Castagnini A, Di Francesco V, Frulloni L, Bovo P, Vaona B, Angelini G, Vantini I, Cavallini G, Pederzoli P. Alcohol and smoking as risk factors in chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 1303-1311.
 10. Lin Y, Tamakoshi A, Hayakawa T, Ogawa M, Ohno Y; Research Committee on Intractable Pancreatic Diseases. Associations of alcohol drinking and nutrient intake with chronic pancreatitis: findings from a case-control study in Japan. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2622-2627.
 11. Corrao G, Bagnardi V, Zambon A, La Vecchia C. A meta-analysis of alcohol consumption and the risk of 15 diseases. *Prev Med* 2004; 38: 613-619.
 12. Irving HM, Samokhvalov AV, Rehm J. Alcohol as a risk factor for pancreatitis. A systematic review and meta-analysis. *JOP* 2009; 10: 387-392.
 13. Yadav D, Hawes RH, Brand RE, Anderson MA, Money ME, Banks PA, Bishop MD, Baillie J, Sherman S, DiSario J, Burton FR, Gardner TB, Amann ST, Gelrud A, Lawrence C, Elinoff B, Greer JB, O'Connell M, Barmada MM, Slivka A, Whitcomb DC; North American Pancreatic Study Group. Alcohol consumption, cigarette smoking, and the risk of recurrent acute and chronic pancreatitis. *Arch Intern Med* 2009; 169: 1035-1045.
 14. Lankisch MR, Imoto M, Layer P, DiMagno EP. The effect of small amounts of alcohol on the clinical course of chronic pancreatitis. *Mayo Clin Proc* 2001; 76: 242-251.
 15. 玉腰暁子, 早川哲夫, 他. 症例対照研究による慢性膵炎発生要因の検討. 厚生省特定疾患消化器系疾患調査研究班. 平成10年度研究報告書. 1998: 48-55.
 16. 佐田尚宏, 大槻 眞, 他. アルコール性膵障害の初期像, アルコール性膵症 (Alcoholic Pancreatopathy). 厚生労働科学研究費補助金難治性膵疾患克服研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究. 平成17年度~19年度総合研究報告書. 2008: 113-121.
 17. 正宗 淳, 下瀬川徹. アルコール性膵障害の実態調査. 厚生労働科学研究—. 平成21年度研究報告書, 2010.
 18. 樋口 進(編). 健康日本21推進のためのアルコール保健指導マニュアル. 社会保険研究所, 東京, 2003.
 19. Di Castelnuovo A, Costanzo S, Bagnardi V, Donati MB, Iacoviello L, de Gaetano G. Alcohol dosing and total mortality in men and women: an updated meta-analysis of 34 prospective studies. *Arch Intern Med* 2006; 166: 2437-2445.
 20. Inoue M, Nagata C, Tsuji I, Sugawara Y, Wakai K, Tamakoshi A, Matsuo K, Mizoue T, Tanaka K, Sasazuki S, Tsugane S; for the Research Group for the Development and Evaluation of Cancer Prevention Strategies in Japan. Impact of alcohol intake on total mortality and mortality from major causes in Japan: a pooled analysis of six large-scale cohort studies. *J Epidemiol Community Health* 2010. [Epub ahead of print]
 21. Yan MX, Li YQ. Gall stones and chronic pancreatitis: the black box in between. *Postgrad*

- Med J 2006; 82: 254-258.
22. Athyros VG, Giouleme OI, Nikolaidis NL, Vasiliadis TV, Bouloukos VI, Kontopoulos AG, Eugenidis NP. Long-term follow-up of patients with acute hypertriglyceridemia-induced pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34: 472-475.
 23. Lloret Linares C, Pelletier AL, Czernichow S, Vergnaud AC, Bonnefont-Rousselot D, Levy P, Ruzsniowski P, Bruckert E. Acute pancreatitis in a cohort of 129 patients referred for severe hypertriglyceridemia. *Pancreas* 2008; 37: 13-18.
 24. Imoto M, DiMugno EP. Cigarette smoking increases the risk of pancreatic calcification in late-onset but not early-onset idiopathic chronic pancreatitis. *Pancreas* 2000; 21: 115-119.
 25. Law R, Parsi M, Lopez R, Zuccaro G, Stevens T. Cigarette smoking is independently associated with chronic pancreatitis. *Pancreatology* 2010; 10: 54-59.
 26. Maisonneuve P, Frulloni L, Müllhaupt B, Faitini K, Cavallini G, Lowenfels AB, Ammann RW. Impact of smoking on patients with idiopathic chronic pancreatitis. *Pancreas* 2006; 33: 163-168.
 27. Keller J, Layer P. Idiopathic chronic pancreatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22: 105-113.

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

慢性膵炎患者における CFTR 遺伝子の解析

研究報告者 成瀬 達 みよし市民病院 院長

共同研究者

藤木理代（名古屋学芸大学管理栄養学部管理栄養学科），北川元二（名古屋学芸大学管理栄養学部管理栄養学科）
石黒 洋（名古屋大学総合保健体育科学センター），中莖みゆき（名古屋大学大学院健康栄養医学）
近藤志保（名古屋大学大学院健康栄養医学），山本明子（名古屋大学大学院健康栄養医学）

【研究要旨】

膵導管細胞において $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 輸送を担う CFTR の遺伝子多型と慢性膵炎との関連を解析した。慢性膵炎患者（アルコール性71人，特発性20人）および健常人180人を対象とした。アルコール性慢性膵炎では p.L1156F が7人（9.9%），p.Q1352H が12人（16.9%）と健常人（1.1%，3.9%）に比し有意（ $p < 0.01$ ）に高頻度であった。特発性慢性膵炎では p.R1453W が4人（20%）と健常人（5%）に比し有意（ $p < 0.05$ ）に高頻度であった。プロモーター領域の変異 c.-790 Δ t はアルコール性慢性膵炎3名（5.6%）にのみに認められた。更に，CFTR 機能の指標である汗の Cl^- 濃度は，p.L1156F および p.Q1352H をもつ患者で高値を示し，CFTR 遺伝子多型によるチャンネル機能の低下と疾患との関連が示唆された。

A. 研究目的

CFTR (Cystic-fibrosis transmembrane conductance regulator) は上皮細胞に発現する cAMP 依存性のイオンチャンネルで， Cl^- および HCO_3^- 輸送を担っている。嚢胞性線維症 (cystic fibrosis; CF) は CFTR 遺伝子の変異によって発症する常染色体劣性疾患で，気道，腸管，膵管，胆管，汗管，輸精管などのイオンおよび水輸送が障害される¹⁾。CFTR は汗腺では Cl^- の再吸収に必要なため，CFTR 機能が低下すると汗の Cl^- 濃度が高くなる。慢性膵炎患者の約半数の汗中 Cl^- 濃度は，基準値（60 mM）を超える高濃度を示す²⁾。そこで，本研究では，CFTR 遺伝子の変異および多型を解析し疾患との関連を検討した。

B. 研究方法

遺伝子解析

インフォームドコンセント（名古屋大学医学研究科倫理委員会にて承認を得た「慢性膵炎における膵炎関連遺伝子の検討」，承認番号 114-2）を得た慢性膵炎患者（アルコール性71人，特発性20人），健常人180名を対象に，末

梢血から白血球由来の DNA を抽出した。CFTR 遺伝子翻訳領域および翻訳領域の上流約 2 kb を PCR 法により増幅し，直接シーケンス法で遺伝子配列を決定した。統計解析には χ^2 検定を用いた。

汗中 Cl^- 濃度の測定

慢性膵炎患者（アルコール性36人，特発性10人），健常人40名を対象に，左右の親指からそれぞれ10分間自然発汗された汗の Cl^- 濃度を，高感度 Cl^- 法³⁾を用いて測定した。

C. 研究結果

CFTR 遺伝子の翻訳領域における多型

アルコール性慢性膵炎では，p.L1156F が7人（9.9%），p.Q1352H が12人（16.9%）で，健常人（1.1%，3.9%）に比し有意（ $p < 0.01$ ）に高頻度であった。特発性慢性膵炎では，p.R1453W が4人（20%）で，健常人（5%）に比し有意（ $p < 0.05$ ）に高頻度であった（表1）。

CFTR 遺伝子の非翻訳領域における多型

プロモーター領域の変異 c.-790 Δ t はアルコール性慢性膵炎にのみ3名（5.6%）認められた（表2）。

表 1 CFTR 遺伝子の翻訳領域における多型と頻度

	exon6a E217G	exon11 I556V	exon10 M470V	exon18 L1156F	exon22 Q1352H	exon24 R1453W
慢性膵炎群						
アルコール性 n=71	3(4.2%)	2(2.8%)	49(77.5%)	7**(9.9%)	12**(16.9%)	2 (2.8%)
特発性 n=20	0(0%)	2(10%)	16(80.0%)	1 (5.0%)	1 (5.0%)	4*(20.0%)
健常群 n=180	6(3.3%)	12(6.7%)	154(85.6%)	2 (1.1%)	7 (3.9%)	7 (3.9%)

* Yates Chi square test $p < 0.05$ vs 健常群
** Yates Chi square test $p < 0.01$ vs 健常群

表 2 CFTR 遺伝子の非翻訳領域における多型と頻度

	5' UTR -790Δt 125c		IVS-8 (TG) ₁₂ /(TG) ₁₂
	慢性膵炎群		
アルコール性 n=71	3(4.2%)	11(15.5%)	23(32.4%)
特発性 n=20	0(0.0%)	0(0.0%)	5(25.0%)
健常群 n=180	0(0.0%)	16(8.9%)	38(21.1%)

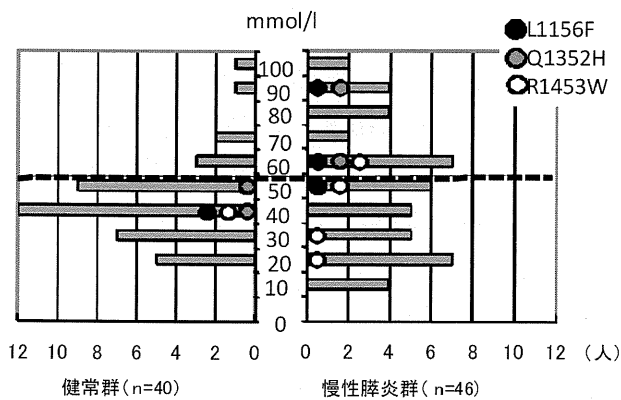


図 1 汗の Cl⁻ 濃度の分布と CFTR 遺伝子多型

汗の Cl⁻ 濃度の分布と CFTR 遺伝子多型

p.L1156F および p.Q1352H をもつ患者の汗の Cl⁻ 濃度は比較的高値を示した(図 1)。

D. 考察

日本における CF の発症率は極めて低く⁴⁾, これまで報告のある CFTR 遺伝子の変異も世界的に極めて稀なタイプのものである⁵⁾. しかし, 我々はこれまでに日本人の慢性膵炎患者の CFTR 機能(汗中 Cl⁻ 濃度測定)²⁾や CFTR 遺伝子多型を解析し, 日本における慢性膵炎と CFTR 遺伝子との関連を示唆してきた⁶⁾.

p.Q1352H および p.R1453W は, CFTR の

第二 ATP 結合部位付近に位置し⁷⁾, p.Q1352H はチャンネルとしての機能が約 29% に, p.R1453W は約 63% に低下する⁸⁾. p.L1156F については, 疾患との関連や機能低下についての報告がなく, 我が国のアルコール性慢性膵炎患者に特徴的な遺伝子多型である。

CFTR は汗腺では Cl⁻ の再吸収に必要なため, CFTR 機能が低下すると汗の Cl⁻ 濃度が高くなる. p.L1156F および p.Q1352H をもつ患者の汗の Cl⁻ 濃度は比較的高値を示した. このことから, p.L1156F および p.Q1352H によるクロライドチャンネル機能の低下と疾患との関連が示唆される。

-790Δt 変異の付近には転写調節因子 Foxd3 の結合配列モチーフ GATTTTTTTTTC がある⁹⁾. 従って, この変異が CFTR 遺伝子の発現量に影響する可能性がある. この変異はアルコール性慢性膵炎患者にのみ 3 例見つかかり, 疾患との関連が示唆される. 世界的にはトルコ人の CF 家系でこの変異の報告はあるが⁷⁾, その他の人種での報告はなく, わが国のアルコール性慢性膵炎患者に特異的な変異である。

E. 結論

CFTR 遺伝子の p.L1156F, p.Q1352H, c.-790Δt は日本人のアルコール性慢性膵炎との関連が示唆された. p.R1453W は日本人の特発性慢性膵炎との関連が示唆された。

F. 参考文献

- 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. 膵囊

胞線維症の診療の手引き(大槻眞, 成瀬達編). アークメディア 2008.

2. Naruse S, Ishiguro H, Suzuki Y, et al. A finger sweat chloride test for the detection of the high-risk group of chronic pancreatitis. *Pancreas* 2004; 28: e80-5.
3. 中莖みゆき, 石黒 洋, 代田桂一, 山本明子, 洪 繁, 後藤秀実, 藤木理代, 近藤孝晴, 遠藤 彰, 成瀬達汗中クロライド濃度の簡便な測定法の開発, *膵臓*, 2008; 23: 486-493.
4. 成瀬 達, 他: 第3回膵嚢胞線維症全国疫学調査の集計結果について「難治性膵疾患に関する調査研究」平成17年度総括, 分担研究報告書, p123-130, 2006.
5. 吉村邦彦, 他: わが国の嚢胞線維症症例における *CFTR* 遺伝子変異に関する解析「難治性膵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, 2007.
6. Fujiki K, Ishiguro H, Ko SBH, et al. Genetic evidence for *CFTR* dysfunction in Japanese: background for chronic pancreatitis. *J Med Genet* 2004; 41: e55.
7. Cystic Fibrosis Mutation Database.
<http://www3.genet.sickkids.on.ca/cftr/app>
8. Lee JH, Choi JH, Namkung W, Hanrahan JW, Chang J, Song SY, Park SW, Kim DS, Yoon JH, Suh Y, Jang IJ, Nam JH, Kim SJ, Cho MO, Lee JE, Kim KH, Lee MG. A haplotype-based molecular analysis of *CFTR* mutations associated with respiratory and pancreatic diseases. *Hum Mol Genet.* 2003; 12: 2321-2332.
9. Perera HK, Caldwell ME, Hayes-Patterson D, Teng L, Peshavaria M, Jetton TL, Labosky PA. Expression and shifting subcellular localization of the transcription factor, *Foxd3*, in embryonic and adult pancreas. *Gene Expr Patterns.* 2006; 6: 971-7.

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表
 - 1) 藤木理代, 石黒 洋, 中莖みゆき, 近藤志保, 山本明子, 洪 繁, 北川元二,

成瀬 達, 慢性膵炎における *CFTR* 遺伝子の関与, 第42回日本膵臓学会大会(弘前) 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

慢性膵炎合併膵癌の分子生物学的検討

研究報告者 杉山政則 杏林大学医学部消化器外科 教授

共同研究者

中里徹矢, 鈴木 裕 (杏林大学医学部消化器外科)

【研究要旨】

【背景】慢性膵炎は膵癌のリスクファクターとされるが、発癌に関連する遺伝子異常は明らかではない。また、DNAのメチル化などのepigenetics異常の蓄積が発癌に関与するとされる。【目的】慢性膵炎合併膵癌と膵癌、慢性膵炎のDNAのメチル化を解析し差異を明らかにし、発癌に関わる異常を探索する。【対象と方法】慢性膵炎、膵癌、慢性膵炎合併膵癌の切除例を対象とする。現在、慢性膵炎合併膵癌2例、慢性膵炎5例、通常型膵癌50例を抽出している。パラフィン包埋組織よりDNAを抽出し、炎症や癌に関連する遺伝子についてmethylation specific PCR法によりメチル化解析を行い、臨床病理学的な諸因子を加えて比較検討する。【結果】通常型膵癌18例中4例(22%)にMGMTのメチル化が認められた。【結語】今後も対象症例数、検討する遺伝子数を増やし解析を継続していく。

A. 研究目的

膵癌は未だに難治性の癌として知られている。分子生物学的手法により発癌のメカニズムや治療法について多くの研究がなされているが明らかにはされていない。また、慢性膵炎は膵癌のリスクファクターとして知られているが、そのメカニズムや関連遺伝子など未だ不明である。本研究は慢性膵炎合併膵癌、慢性膵炎、通常型膵癌のDNAメチル化を解析することによりそれぞれの差異を明らかにし、慢性膵炎の発癌に関わる遺伝子の異常を探索することを目的とする。

B. 研究方法

慢性膵炎合併膵癌、慢性膵炎、通常型膵癌におけるDNAメチル化解析のために、以下の①および②の方法により解析を行う。

①慢性膵炎合併膵癌、慢性膵炎、通常型膵癌症例の抽出

手術により切除された症例で、病理学的に確定診断がなされた症例を抽出する。

②慢性膵炎合併膵癌、慢性膵炎、通常型膵癌症例の網羅的遺伝子メチル化解析

病理学の専門家により対象症例のホルマリ

ン固定パラフィン切片のプレパラートを作成し、細胞を分離、DNAを抽出する。

DNAのメチル化解析はMSP(methylation specific PCR)法により解析を行う。これらの方法により既知の膵癌に高頻度に発現する遺伝子群(MGMT, reprim, UHCL1, NPTX2)^{1~3)}など、最終的に10数種類を網羅的に解析する予定である。

(倫理面の配慮)

本研究は平成23年7月25日に杏林大学医学部倫理委員会において「膵腫瘍に関する臨床病理学および分子生物学的研究」として承認された。研究対象患者には説明の上、同意を得る。また個人情報保護に努める。

C. 研究結果

①2008年から2010年までに当施設で膵手術を行った症例の中から、今回の検討に合致する症例の抽出を行った。結果、慢性膵炎合併膵癌2例、慢性膵炎5例、通常型膵癌50例を確認した。②通常型膵癌18例に対してMGMTのMSPをおこなった。結果、4/18(22%)にメチル化が認められた。