

D. 考察

これまでの検討では通常型膵癌18例中4例にMGMTのメチル化が認められた。MGMTはDNAの修復酵素で正常細胞には発現している。遺伝子プロモーター領域のメチル化により発現が制御されている。通常型膵癌におけるメチル化の頻度は0～12%と報告されている。今回の検討では22%とやや頻度が高い結果であった。しかしながら症例数も少ないため、今後も症例を重ねて行く必要がある。

E. 結論

膵癌18症例の検討では4例(22%)にMGMTのメチル化が認められた。今後も対象症例数、検討遺伝子数を増やしていく予定である。

F. 参考文献

1. Ueki T, Toyama M, Sohn T, Yeo CJ, Issa JP, Hruban RH, Goggins M: Hypermethylation of multiple genes in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer research*. 2000, 60: 1835-1839.
2. Sato N, Fukushima N, Maitra A, Matsubayashi H, Yeo CJ, Cameron JL, Hruban RH, Goggins M: Discovery of novel targets for aberrant methylation in pancreatic carcinoma using high-throughput microarrays. *Cancer research*. 2003, 63: 3735-3742.
3. Omura N, Li CP, Li A, Hong SM, Walter K, Jimeno A, Hidalgo M, Goggins M: Genome-wide profiling of methylated promoters in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Biol Ther*. 2008, 7 (7): 1146-1156.

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

体表超音波検査の早期慢性膵炎画像診断能 —超音波内視鏡検査との比較検討—

研究報告者 入澤篤志 福島県立医科大学会津医療センター準備室 教授

共同研究者

澁川悟朗，二階堂暁子，阿部洋子（福島県立医科大学会津医療センター準備室）

【研究要旨】

早期慢性膵炎診断における体表超音波検査(US)の役割を明らかにする事を目的に、EUS所見とUS所見をretrospectiveに比較検討した。対象は、2010年4月から2011年3月までに、ほぼ同時期にEUSとUSを施行した42症例(男性26例，女性16例，平均年齢66.1歳)。体部膵実質のUSとEUSの画像を見直し、各々について早期慢性膵炎診断基準記載所見(Lobularity(L)，Non-honeycombing lobularity(nL)，Hyperechoic foci(HF)，Stranding(S))を評価した。USで異常なし(N)であった14例中、EUSでもNであったのは7例(50%)，早期慢性膵炎の所見を2項目以上認めたのは6例(43%)であった。USで2項目以上を認めた14例中、EUSでも2項目以上認めたのは11例(78.6%)，USで1項目以上を認めた28例中、EUSで2項目以上認めたのは18例(64.3%)であった。また、USでL/nLを認めた3例では全例でEUSでも同所見を認めた。USで正常膵と考えられても、EUSで早期慢性膵炎の所見を呈する症例も多く、飲酒歴や臨床所見等で早期慢性膵炎を疑う症例では、積極的なEUS施行が推奨される。一方、USで異常所見を2項目以上認める症例やUSで分葉エコーを認める症例では、EUSでも早期慢性膵炎診断基準に合致する膵実質異常所見を呈することが多く、早期慢性膵炎診断におけるUSの新たな役割が示唆された。

A. 研究目的

2009年の慢性膵炎診断基準改訂¹⁾に伴い、早期慢性膵炎という概念が導入された。早期慢性膵炎診断のためには微細な膵実質変化を捉える必要があるが、超音波内視鏡(Endoscopic ultrasonography: EUS)は現存する画像診断機器の中で最も膵実質変化を詳細に観察できるものであり^{2~4)}、早期慢性膵炎診断基準においても、その特徴的な画像所見としてEUS像が呈示された。しかし、EUSを施行できる施設は限られており、EUS診断技術の習得にも十分なトレーニングが必要である。また、EUSを侵襲的な検査と考えている医師も少なからずおり、早期慢性膵炎診断基準が提唱されたとはいえ、EUSがハードルとなって十分に活用されていない可能性もある。一方、体表超音波検査(ultrasonography: US)は一般的に広く施行されている画像検査であり、近年の機器の進歩に伴い、膵実質の変化を詳細に描出できるようになって来た。一般的にEUSの前段階として体

表超音波検査が施行されるが、どの程度の所見まで体表超音波検査で拾い上げる事ができるかは明らかではない。今回、早期慢性膵炎診断におけるUSの役割を明らかにする事を目的に、EUS所見とUS所見をretrospectiveに比較検討した。

B. 研究方法

1. 対象と方法

対象は、福島県立会津総合病院で2010年4月から2011年3月までに膵実質を観察する目的でEUSを施行した110症例のうち、ほぼ同時期にUSを施行していた42症例(男性26例，女性16例，平均年齢66.1歳)である。

膵実質の評価は、早期慢性膵炎診断基準で早期慢性膵炎の特徴的画像とされた所見のうち必須とされている以下の4項目：Lobularity(分葉エコー：L)，Non-honeycombing lobularity(不連続な分葉エコー：nL)，Hyperechoic foci(点状高エコー：HF)，Stranding(索状高エ

コー：S), を用いた. これらの所見について, 体部膵実質のUSとEUSの画像を見直し再評価した. なお, 画像評価は一人が行い, 各々の画像所見を伏せた状態で行われた.

2. 倫理面への配慮

本研究は通常診療の一環としてUSおよびEUSを施行し, その結果をretrospectiveにまとめたものである. あくまで集合のデータであり, 個人のデータを個人が特定できるような公開ではない. なお, EUSを施行する際には, 各検査の必要性と偶発症については十分に説明し, 文書によるinformed consentを得て施行した. 倫理面での問題はないと考えた.

C. 研究結果

1. 全症例におけるUS所見とEUS所見の比較(図1)

1) USで異常なし(N)であった14例中, EUSでもNであったのは7例(50%), 異常所見を1項目認めたのは1例(7%), 2項目以上認めたのは6例(43%)であった.

2) USで1項目であった14例中, EUSで異常なしが7例(50%), 2項目以上認めたのは7例(50%)であった.

3) USで2項目以上を認めた14例中, EUSで異常なしが1例(7%), 1項目認めたのは1例(7%), 2項目以上認めたのは12例(86%)であった.

2. USで所見が認められた症例における比較検討(図2)

1) USで所見が認められた症例についての検討では, USで1項目以上の異常所見が認められた28例では, EUSでは19例(67.9%)に2項目以上の異常所見が認められた.

2) USで2項目の以上の異常所見が認められた14例では, EUSでは12例(86%)に2項目以上の異常所見が認められた.

3. USにおける各所見とEUS所見の対比(図3)

1) USで認められた所見がEUSでも同様に認められるとは限らず, USでの1項目がEUSでは2項目以上の所見として捉えられることもあった. また, USで異常所見を認めてもEUSでは正常である症例も存在した.

2) USで分葉エコー(L)を認めた3例では全例でEUSでも同所見を認めた.

D. 考察

慢性膵炎臨床診断基準2009¹⁾が上梓され, 早期慢性膵炎という概念が導入されその診断基準も明記された. これまではある程度進んだ状態で診断されていた慢性膵炎が, 早期から診断できるようになった. 本診断基準では, 早期慢性膵炎に特徴的とされる微細な膵実質異常所見を得る手段としてEUSが初めて取り上げられたこともきわめて画期的なことであった. これまでの種々の研究報告^{2~4)}からも, 慢性膵炎診断において, 膵実質近傍から高解像度で観察できるEUSの高い有用性は立証されているが, EUSができる施設は限られており, また, そのテクニック習得のためにはしっかりとした教育が必要であり, 他国に比してEUSの普及が進んでいる日本においても, 広く簡便にできる

USで所見あり	EUSで2項目以上の所見あり
2項目以上:14例	12例(86%)
1項目以上:28例	19例(67.9%)

図2

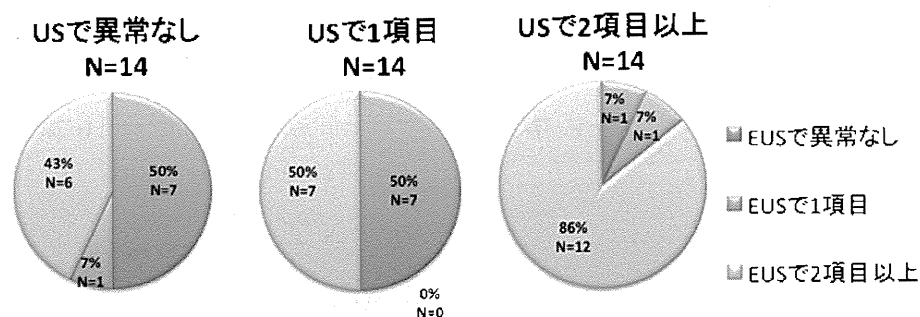


図1

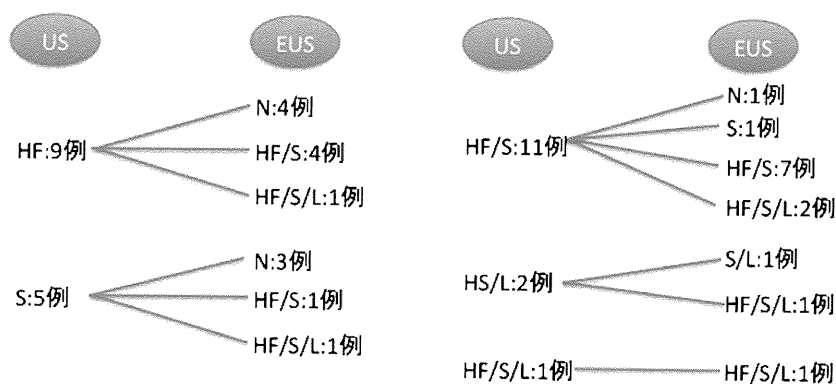


図 3

検査とは言い難い。

一般的に、膵の画像検査として最も簡便かつ頻繁に施行される検査法は体表からの US であるが、早期慢性膵炎診断基準には US の役割が記載されていない。本研究では、早期慢性膵炎診断における US の意義について検討した。結果として、US で正常膵またはわずかな変化しかないと考えられる症例であっても、EUS で早期慢性膵炎の所見を呈する例も半数程度存在していた。飲酒歴や臨床所見から早期慢性膵炎を疑う症例では、US 所見に関わらず積極的な EUS の施行が望ましいと思われた。一方、US で一項目の所見が見られても EUS では半数の症例で正常膵実質であった。これは、体表から膵を観察した際の様々なアーチファクト混在が原因であろうと思われるが、この辺りは US の限界かもしれない。しかし、US で異常所見を 2 項目以上認めた 14 症例中、12 例 (86%) で EUS でも早期慢性膵炎診断基準に合致する膵実質異常所見 (2 項目以上) を呈していた。また、US で明らかに分葉エコーが確認された 3 例ではいずれも EUS では 2 項目以上 (分葉エコーを含む) が認められている。すなわち、US で 2 項目以上の膵実質異常所見を認めた際には、EUS を施行せずとも早期慢性膵炎の画像診断が得られる可能性が高い。本研究から、早期慢性膵炎診断における画像検査法としての体表 US の新たな役割が示唆された。

E. 結論

慢性膵炎の早期診断のために、US で微細な変化を認める症例や臨床所見から早期慢性膵炎

を疑う症例では、積極的な EUS 施行が推奨される。一方、体表からの US 観察で明らかな膵実質異常を認めた際には、EUS を施行せずとも早期慢性膵炎診断が可能となる可能性も示唆された。

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: 645–646.
2. Catalano MF, Lahoti S, Geenen JE, Hogan WJ. Prospective evaluation of endoscopic ultrasonography, endoscopic retrograde pancreatography, and secretin test in the diagnosis of chronic pancreatitis. *Gastrointest Endosc.* 1998, 48, 11–17.
3. Sahai AV, Zimmerman M, Aabakken L, Tarnasky PR, Cunningham JT, van Velse A, Hawes RH, Hoffman BJ. Prospective assessment of the ability of endoscopic ultrasound to diagnose, exclude, or establish the severity of chronic pancreatitis found by endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Gastrointest Endosc.* 48: 18–25, 1998.
4. Irisawa A, Katakura K, Ohira H, Sato A, Bhutani MS, Hernandez LV, Koizumi M. Usefulness of endoscopic ultrasound to diagnose the severity of chronic pancreatitis. *J Gastroenterol*, 2007, 42 (Suppl 17), 90–94.

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし

2. 学会発表

- 1) 二階堂暁子，入澤篤志，宍戸昌一郎，渋谷悟朗，阿部洋子，富樫一智，飯塚美伸，鈴木啓二．体表超音波検査の早期慢性膵炎診断能 超音波内視鏡検査との比較検討．第82回日本消化器内視鏡学会総会，福岡，2011年10月．
- 2) Atsushi Irisawa. Role of EUS in the Early Stage of Chronic Pancreatitis. The International Pancreas Research Forum 2011. Osaka. 2011年11月．

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

慢性膵炎臨床診断基準2009の評価(EUSを中心として)

研究報告者 宮川宏之 札幌厚生病院第2 消化器科 主任部長

共同研究者

長川達也，平山 敦，松永隆裕，岡村圭也，奥 大樹，宮川麻希
(札幌厚生病院第2 消化器科)

【研究要旨】

新慢性膵炎診断基準の早期慢性膵炎に関し EUS による診断と最終診断を比較し診断能を評価した。さらに早期慢性膵炎切除例から EUS 所見と組織像を対比した。

A. 研究目的

本研究班が中心となり慢性膵炎診断基準が改訂され2年が経過し，現在までの評価を行う必要があり，特に今回新たに基準に加わった早期慢性膵炎の臨床像につき検討する。

B. 研究方法

基準が改訂された2009年3月から2011年末に受診された症例で，EUS や ERCP で慢性膵炎が疑われた症例を対象とし，新診断基準による判定を行い画像上の所見数や所見の傾向，臨床所見を加えた最終診断結果などを対比評価する。(通常の一般診療で行われた検査や治療結果の検討であるため倫理的に問題はないと考える。)

C. 研究結果

膵胆道疾患が疑われ EUS が行われた例(同時期に ERCP 行われた例を含む)で担当医が所見用紙に慢性膵炎(疑い)と記載あった例中，腫瘍性病変の併発例を除外した86例の画像を検討した。これらで慢性膵炎臨床診断基準2009(以下新診断基準)を運用し EUS の確診，準確診，EUS 上の早期を満たすもの56例を対象とした。56例中確診・準確診は16例であり画像上の早期は40例であった。この40例では最終的に早期慢性膵炎とされたのは12例，早期慢性膵炎疑診は14例，EUS 画像のみ早期慢性膵炎相当(画像のみ)が14例であった。新診断基

準の EUS 画像所見として提示された7項目とその出現頻度を提示する(表1)。

最も多く見られたのは索状高エコー(Stranding)で93%，次に点状高エコー(Hyperechoic foci; non-shadowing)が65%，不連続な分葉エコー(Nonhoneycombing lobularity)は40%であった。蜂巢状高エコー(Lobularity, honeycombing type)や分枝膵管拡張(Dilated side branches)は少なかった。3群間では所見の出現に大きな違いがみられず画像上の判別はできなかった。今回の検討では索状エコーの見られないものは早期慢性膵炎と診断される例は少ないと思われた。

新診断基準による最終診断での臨床像(表2)では早期慢性膵炎が全例に上腹部痛がみられ膵酵素異常も10例にみられた。疑診例は画像所

表1 EUS 早期慢性膵炎相当40例における所見出現率

	N	%	早期慢性膵炎% 早期疑診%	画像のみ%	
蜂巢状分葉エコー	2	5	8	7	0
不連続な分葉エコー	16	40	50	21	50
点状高エコー	26	65	58	71	64
索状高エコー	37	93	100	100	79
嚢胞	7	18	0	29	21
分枝膵管拡張	1	3	0	0	7
膵管辺縁高エコー	6	15	17	0	29

表 2 EUS 早期慢性膵炎相当例における最終診断と臨床像

早期慢性膵炎	12
上腹部痛	12
膵酵素異常	10
アルコール(80 g/d 以上)	3
早期慢性膵炎疑診	14
上腹部痛	9
膵酵素異常	4
アルコール(80 g/d 以上)	0
画像のみ早期相当	14
上腹部痛	0
膵酵素異常	0
アルコール(80 g/d 以上)	1

見以外に 1 項目の臨床所見が必要であるが、上腹部痛が多かった。アルコール継続飲酒は早期 9 例、疑診 4 例、画像のみは 8 例であり、80 g/d 以上の大酒家は早期 3 例と画像のみが 1 例であった。

各群における生化学検査(図 1: 単位を省略)は初診時または EUS 直近の結果を用いたが、早期群が p 型アミラーゼとリパーゼが他の 2 群に比べ有意に高く異常値を示した。コリンエステラーゼ(CHE)は正常値内であるが早期群が低値を示した。この結果から早期群では軽症の膵炎が起きている例が多いと考えられ上腹部痛が全例に見られたことも臨床的特徴と思われる。軽症膵炎を起こしていない時期には疑診とまでしか診断されない可能性が高かった。

症例提示

39歳 女性

膵酵素逸脱を伴う上腹部痛の反復と尾部仮性嚢胞の消失が得られず膵尾部切除。

[画像診断]

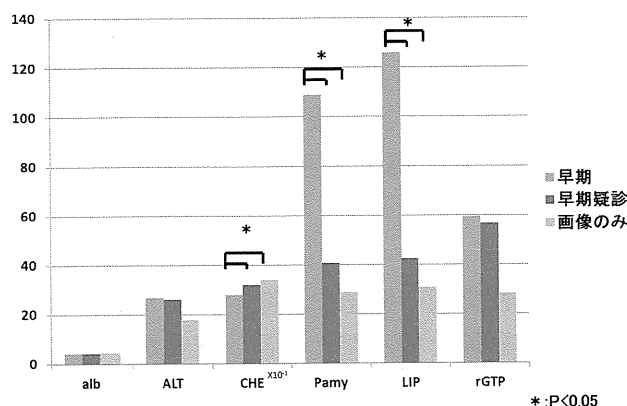


図 1 各診断と生化学検査

EUS(図 2)では膵体尾部の scan では索状高エコーや点状高エコー、膵管壁高エコーなどが目立つ。尾部には厚い壁を持つ嚢胞が見られた。

CT(図 3)では尾部の嚢胞性病変と体部には膵管が認められるが慢性膵炎の準確診にあたる所見はない。ERCP(図 4)は尾部に嚢胞がみられるが膵管分枝の拡張なく早期や準確診にあたる所見はない。

[病理]

膵体尾部切除が行われた。嚢胞から離れた部位での膵体部実質では小葉間の線維化がみられ、一部小葉内にも線維化がみられた。主膵管

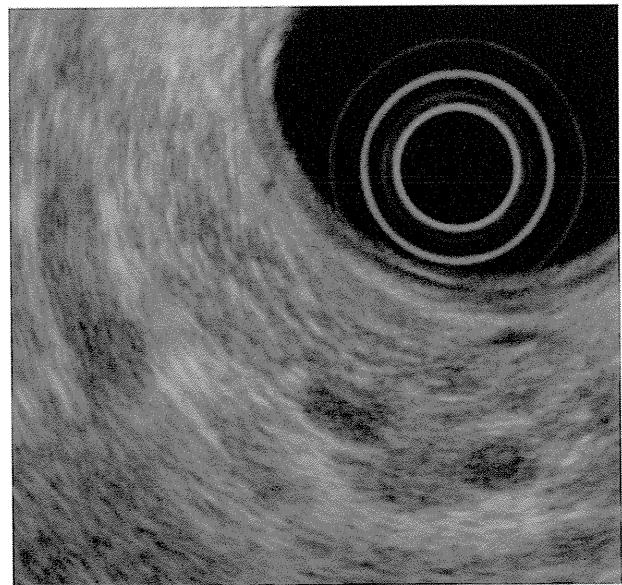


図 2 EUS
膵体部の EUS 像を示す。索状高エコー、点状高エコー、膵管壁高エコーがみられた。

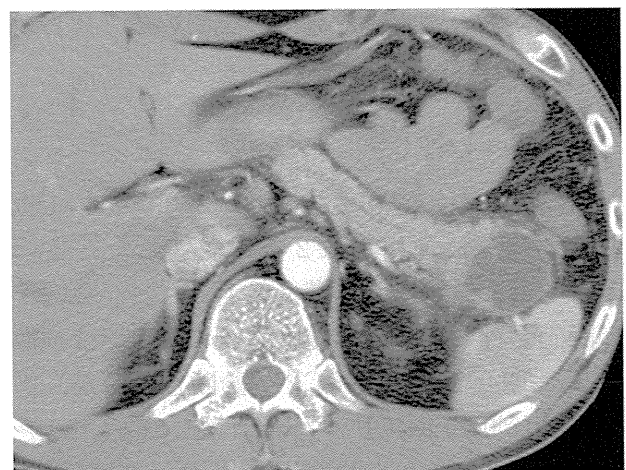


図 3 CT
造影 CT では膵尾部にやや厚い壁を持つ嚢胞がみられる。体部膵管は認められるが準確診所見はない。

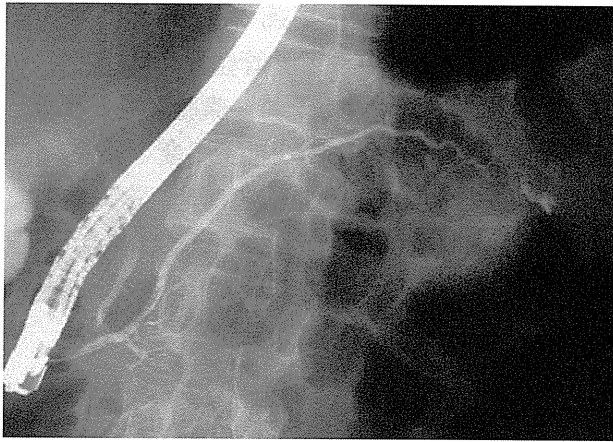


図4 ERCP
ERCPでは尾部嚢胞に造影剤の流入がみられ、体部側膵管は狭窄しているがさらに頭側の膵管には慢性膵炎の変化はない。

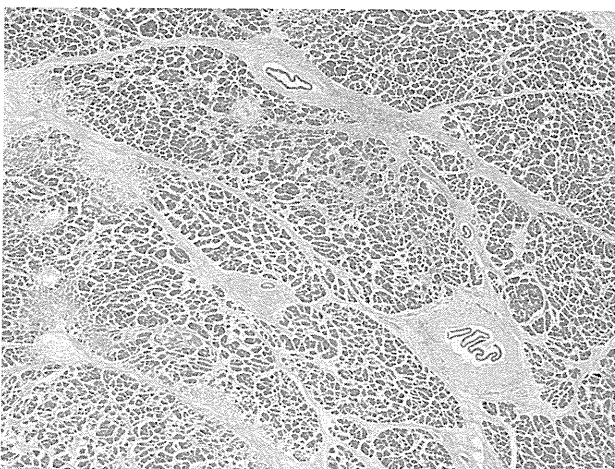


図5 組織像(膵体部)
小葉間の線維化(一部小葉内線維化)と主膵管および分枝膵管の壁肥厚がみられた。

の壁肥厚も見られるが、分枝にも壁肥厚があった(図5)。EUSに実質エコーの変化はこれら線維化や膵管壁肥厚所見を表していると思われる。

D. 考察

診断基準が慢性膵炎診断基準2009¹⁾として改訂され臨床に運用され2年が経過した。この改訂で新たに早期慢性膵炎が定義され、今回その評価を行った。早期慢性膵炎の診断では画像所見はEUSまたはERCPで診断されるが、実際には診断的ERCPが行われ難いため、ほとんどがEUSによる診断となった。このEUS所見では索状高エコーが最も多く93%、点状高エコーが65%、不連続な分葉エコーは40%

などであった。これらの所見診断は今回本研究班研究者間での画像診断のすり合わせ後に、1名の専門医師がおおむねその標準的基準で評価したものである。画像診断は常に主観的な影響を受けるが、早期慢性膵炎で出現頻度の高い索状高エコーや点状高エコーはあいまいなものやアーチファクト状のものまで拾い上げると偽陽性率が高くなり、早期慢性膵炎が高率となる可能性もある。大半のものが同じ診断となるように標準的読影のためのアトラスなどの提示周知努力は必要である。今回の診断基準2009では画像以外の臨床所見を重要視しているため、画像診断に差があっても多数の早期慢性膵炎の偽陽性は含まれないと思われた。

これまで慢性膵炎のEUS所見として報告されたもので組織とEUSの対比が厳密におこなわれたものはない^{2~5)}。今回のEUS所見と組織像を対比すると、結石や嚢胞は組織画像対応は容易と思われる。蜂巣状分葉エコーまたはその不全形の不連続な分葉エコーは、分葉状の低エコー部をやや高エコーが取り巻く構造で、診断基準組織像の「小葉が結節状、いわゆる硬変様をなす」という状態を表すと考える。膵管辺縁高エコーは今回膵体部で見られた主膵管壁肥厚と一致した。索状高エコーは対比がやや難しく、小葉とそれ以外の構造物の配置から、小葉間線維化と小葉との境界エコーや小葉間の結合織、さらに分枝膵管の壁肥厚などが線状に高エコーを呈すると思われた。点状高エコーは所見の拾い上げに術者間の差が大きい。明らかなものは小石灰化やタンパク栓や小脂肪壊死などが原因と考えられるが、他に分枝膵管壁肥厚でも起こり得るしさらに索状高エコーのやや短いものも拾い上げられていると思われる。今回画像と組織の対比をおこなったところ、小葉間線維化や膵管壁肥厚など慢性膵炎の組織変化をEUSがある程度描出できたと思われた。

E. 結論

早期慢性膵炎の概念や診断を評価するにはまだ十分な経験を積んだとは言いが、超音波内視鏡は特徴的な所見からある程度組織を反映する診断法であり、症例の経過観察結果も踏ま

えつつ継続して組織像と対比検討を続ける必要がある。

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: 645~646.
2. Michael B. Wallace and Robert H. Hawes. Endoscopic Ultrasound in the Evaluation and Treatment of Chronic Pancreatitis. Pancreas 2001; 23: 26-35.
3. Catalano ME Sahai A, Levy M, et al. EUS-based criteria for the diagnosis of chronic pancreatitis: the Rosemont classification. Gastrointest Endosc 2009; 69: 1251-61.
4. Chowdhury R, Bhutani MS, Mishra G, Toskes PP, Forsmark CE. Comparative analysis of direct pancreatic function testing versus morphological assessment by endoscopic ultrasonography for the evaluation of chronic unexplained abdominal pain of presumed pancreatic origin. Pancreas 2005; 31: 63-8.
5. Sahai AV, Zimmerman M, Aabakken L, Tarnasky PR, Cunningham JT, van Velse A, Hawes RH, Hoffman BJ. Prospective assessment of the ability of endoscopic ultrasound to diagnose, exclude, or establish the severity of chronic pancreatitis found by endoscopic retrograde cholangiopancreatography. Gastrointest Endosc 1998; 48: 18-25.

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

線維化活動度マーカー“TGF- β LAP 断片”に関する研究

研究報告者 小嶋聡一 理化学研究所分子リガンド生物研究チーム チームリーダー

共同研究者

桐田暁子, 原 詳子 (理化学研究所分子リガンド生物研究チーム)

永妻啓介 (東京慈恵会医科大学付属柏病院消化器肝臓内科), 松浦知和 (東京慈恵会医科大学臨床検査医学講座)

菊田和宏, 正宗 淳 (東北大学大学院消化器病態学)

【研究要旨】

TGF- β はプロペプチドである latency associated protein(LAP)に包まれた潜在型複合体として産生され、活性化されることにより線維化を誘発するとされており、血漿カリクレイン(plasma kallikrein: PLK)がLAPのR58-L59を限定分解することによりTGF- β を活性化することが示されている。我々はTGF- β LAP断片に対する2種の特異抗体(L59, R58抗体)を作製し、肝硬変に関わる肝星細胞培養系、動物モデル、患者検体において、L59抗体を使用したELISAを用いて血漿中C末側L59 LAP断片を定量し、R58抗体を用いて細胞・組織表面に残存したN末側R58 LAP断片の検出を行った。ラット初代肝星細胞では、細胞が活性化されるのに応じて培養上清中へのL59 LAP断片放出量が増加し、活性化星細胞のマーカーである α -SMAと共に、細胞表面においてR58 LAP断片が検出された。マウスCCl₄肝線維化モデルでは、薬剤投与開始後4週、BDL肝線維化モデルでは術後3日の線維形成反応が高まる時期に血漿中L59 LAP断片量の増加が α -SMAの増加と一致して見られたことから、血漿中L59 LAP断片が初期線維化すなわちfibrogenesisの血中バイオマーカーとして有用であることを報告した。

今回我々は、肝星細胞と発現遺伝子が99.8%一致する腓星細胞でも同一の反応が起っているのではないかと考え、腓臓におけるPLK依存TGF- β 活性化反応検出のために、ヒト腓活性化星細胞株(hPSC5)及び、ラット腓炎モデル(WBN/Kobラット)を用いて腓線維化初期段階の診断、予防・治療法開発のための基礎的検討を行った。その結果、hPSC5細胞では、プロテアーゼインヒビター処理により培養上清中L59 LAP断片量が減少し、同時に、R58 LAP断片染色性も減少したことから、活性化ヒト腓星細胞上でPLK依存TGF- β 活性化が起っていることが示唆された。

WBN/Kobモデルラット血漿中L59 LAP断片量の測定結果と、腓組織R58 LAP断片免疫染色の結果を総合すると、WBN/Kobラットにおける腓臓の線維化では、PLK依存TGF- β 活性化に伴う線維化が働いていると考えられた。以上の結果より、同反応を標的とした線維化診断法は、慢性腓炎の血液診断に応用できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

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¹⁾。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、本研究室においてTGF- β 活性化経路の一つとして肝線維化に伴うプロテアーゼ依存TGF- β 活性化反応が発見された^{2,3)}。本研究室では、

現在本活性化反応を標的とした肝線維化診断法の開発(図1)を試みており⁴⁾、既存の肝線維化マーカー(ヒアルロン酸、IV型コラーゲン等)と異なり、初期段階の線維化を検出できる可能性を報告した⁵⁾。一方、肝線維化で中心的役割をなす肝星細胞と腓線維化の中心的役割をなす腓星細胞とでは、発現遺伝子の大部分が類似しているといわれており⁶⁾、プロテアーゼ依存TGF- β 活性化反応は腓臓における初期の線維化にも関与している可能性が示唆されていた。

慢性腓炎は腓臓の内部に不規則な線維化、細

TGF- β 活性化反応を標的とした腓線維症の診断、予防・治療法開発に向けた基礎研究（理化学研究所・小嶋聡一）

肝線維化活動度マーカーであることが最近示されたTGF- β LAP断片に対する特異抗体を用いて腓線維化初期段階の診断、予防・治療法開発のための基礎・応用研究を行う。

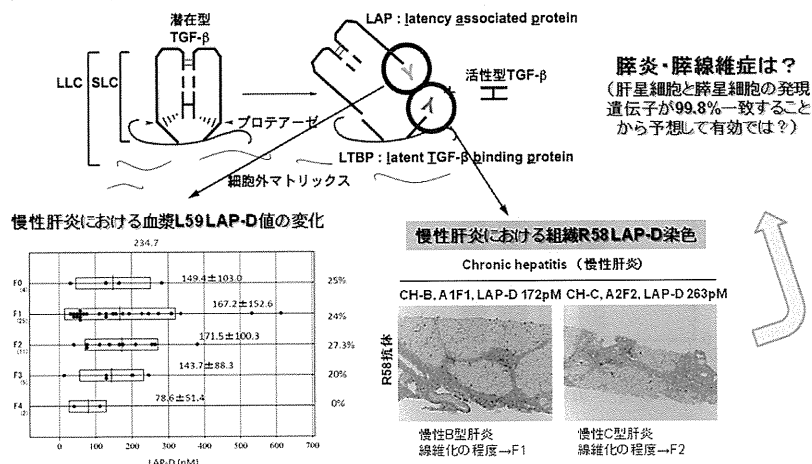


図1 TGF- β 活性化反応を標的とした腓線維症の診断、予防・治療法開発に向けた基礎研究

胞浸潤，実質の脱落，肉芽組織などの慢性変化が生じ，進行すると腓外分泌・内分泌機能の低下を伴う病態である．これらの変化は，持続的な炎症やその遺残により生じ，進行した慢性腓炎の多くは非可逆性であり，治療による患者の予後改善につながりにくいと言われる⁷⁾．慢性腓炎を早期に診断することは臨床的に重要な課題であり，そのためには新規診断技術の導入が必要不可欠と考えられる．

今回我々が着目したPLK依存TGF- β 活性化反応は，腓線維化初期の病態形成にも関与している可能性が高く，本活性化反応を標的とした線維化診断法は，慢性腓炎を早期に診断できる可能性を秘めている．

B. 研究方法

活性化腓星細胞株(hPSC 5)と，WBN/Kob雄性ラット(6, 9, 12, 15, 18, 21週齢)各2匹より採取した血漿と腓体尾部の4%PFA固定パラフィンブロックを東北大学大学院医学系研究科消化器病態学分野より供与を受けた．

スライドグラス入りの24穴プレートに活性化腓星細胞をまき(5×10⁴/well)，10%ウシ胎児血清入りDMEM/F12(1:1)培地で一晚培養した．細胞がディッシュに接着・伸展したことを確認した後，プロテアーゼインヒビターCamostat mesilate (FOY 305)(終濃度500 μ M)

を含む1%ウシ血清アルブミン入りDMEM/F12(1:1)培地に交換し，24, 48時間後に培養上清を回収した．回収した培養上清は遠心して細胞片を除いた後，ELISAによるTotal TGF- β 1, L59 LAP断片の定量に使用した．活性化腓星細胞を培養したスライドガラスは4%PFAで固定し，R58抗体及び抗 α -SMA抗体を用いた免疫多重染色に用いた．

WBN/Kobラット血漿中L59 LAP断片量の測定を行い，腓体尾部のパラフィンブロックから組織切片を作製し，腓組織のH&E，シリウスレッド染色及び免疫染色(R58, L59, α -SMA)を行った．

(倫理面への配慮)東北大学倫理委員会承認済(受付番号: 2011-524)

ヒト腓星細胞の分離・培養は東北大学医学部倫理委員会の承認のもと行った(承認番号2009-79)

C. 研究結果

活性化腓星細胞株(hPSC 5)培養上清中のTotal TGF- β 1, L59 LAP断片量を測定したところ，Camostat mesilate処理によりTotal TGF- β 1量は変化しなかったが(図2A)，L59 LAP断片量は有意に低下した(図2B)．

活性化腓星細胞の蛍光免疫染色では，ほぼ全ての細胞でR58 LAP断片陽性であったが，活

ヒト活性化腓星細胞培養上清中に存在する
Total TGF-β量ならびにL59 LAP断片量の測定

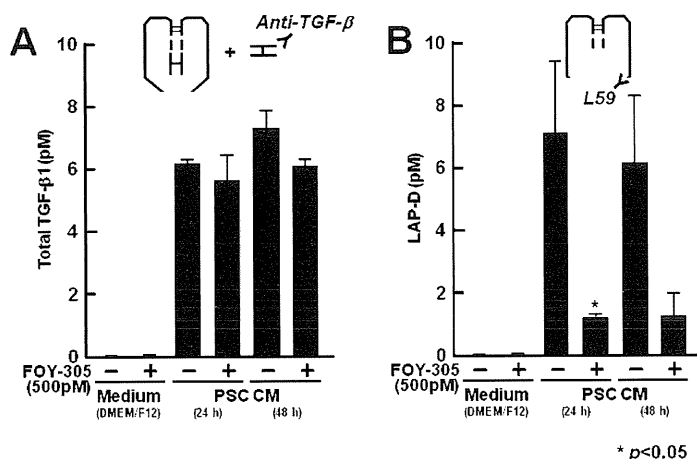


図2 ヒト活性化腓星細胞培養上清中に存在する Total TGF-β 量ならびに L59 LAP 断片量の測定

ヒト活性化腓星細胞表面に存在する
R58 LAP断片の検出

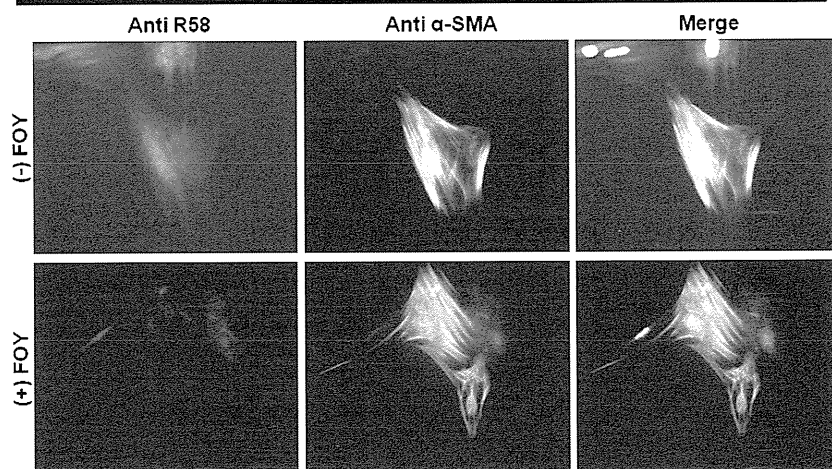


図3 ヒト活性化腓星細胞表面に存在する R58 LAP 断片の検出

性化星細胞のマーカーである α -SMA の陽性率は20%程度であった。Camostat mesilate 処理により R58 の染色性が減少したことから、細胞培養上清中の L59 LAP 断片量の測定結果と同様に、Camostat mesilate 処理により腓においても PLK 依存 TGF- β 活性化が抑制されていると考えられた(図3)。一方、 α -SMA の染色性は Camostat mesilate 処理により顕著に減少しなかった(図3)。

WBN/Kob モデルラット血漿中 L59 LAP 断片量は6-15週までは大きな増減は見られず、18週で一過性に大きく増加し、21週で極端に低下した。その時の腓臓組織切片の免疫染色で

は、6週より腓小葉内細胞周囲において、R58 LAP 断片染色陽性部位とシリウスレッド陽性部位が見られ、H&E 染色において腓小葉内細胞の障害が認められる9週以降(data not shown)さらに増加し、コラーゲンの増加に先立って R58 LAP 断片陽性部位が増加する傾向が見られた(図4)。R58 LAP 断片陽性細胞と α -SMA 陽性細胞とは、ほぼ一致した(図4)。

これに対して、L59 抗体を用いた免疫組織染色では、6-21週全ての組織において L59 LAP 断片陽性像は見られず、PLK によって切断された L59 LAP 断片は血中に放出されることが示唆された。

WBN/Kobラット腩線維化モデルにおける R58 LAP断片と血漿L59 LAP断片の変化

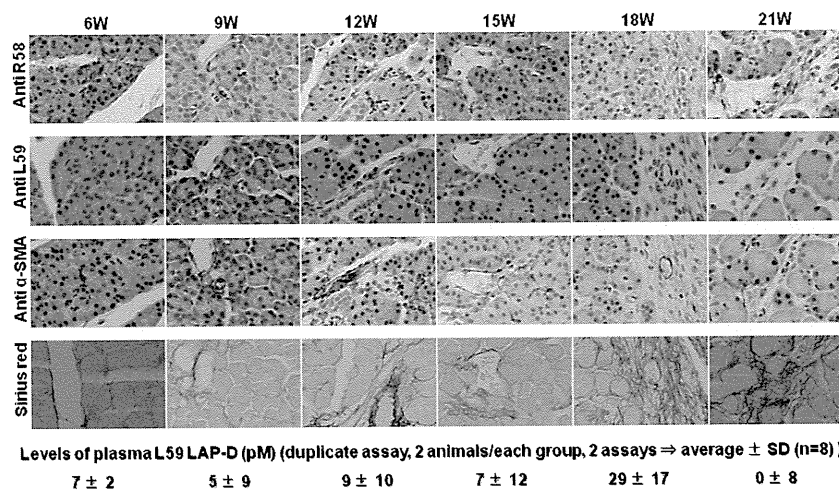


図4 WBN/Kobラット腩線維化モデルにおける R58 LAP断片と血漿 L59 LAP断片の変化

以上のことから、初期の腩線維化は、血漿中 L59 LAP断片量の結果からでは PLK非依存の線維化となるが、R58 LAP断片の染色結果からでは、PLK依存 TGF-β活性化に伴っているとされ、小葉内細胞の障害が顕著な9週以降から PLK依存の TGF-β活性化に伴う線維化は増加し、血漿中でも L59 LAP断片量が18週で一過的に増加することから、腩線維化においても小葉内細胞周囲において PLK依存 TGF-β活性化に伴う線維化が起きていることが示唆された。

D. 考察

活性化腩星細胞の実験結果から、活性化腩星細胞上で PLK依存 TGF-β活性化が起きていると考えられた。

WBN/Kobラットの結果から、同モデルラットにおいては線維化初期段階から PLK依存の TGF-β活性化に伴う線維化が増加していると考えられた。

しかしながら、血漿中 L59 LAP断片量は、ヒトやマウスに比べて少量であったために正確な測定ができておらず、また18週でのみ一過性の増加をしており、今後更なる検討が必要である。Camostat mesilateは腩星細胞による線維化を抑えることが、いくつかの動物モデルで報告されており⁸⁻¹⁰⁾、今回の結果と合わせて考えると、その分子機構として Camostat

mesilateが PLK依存 TGF-β活性化反応を抑制していたことが考えられる。

今後は、今回正確な測定ができなかった WBN/Kobラットモデルにおける血漿 L59 LAP断片の定量をやり直すとともに、名古屋大学の廣岡先生を中心として、臨床介入試験を開始する。

E. 結論

PLK依存 TGF-β活性化反応は、腩線維化初期の病態形成にも関与している可能性が示され、本活性化反応を標的とした線維化診断法が、慢性腩炎を早期に診断できる可能性が支持された。

F. 参考文献

1. Border WA, Noble NA. Transforming growth factorβ in tissue fibrosis. *N Engl J Med.* 1994; 331: 1286-92.
2. Okuno M, Akita K, Moriwaki H, Kawada N, Ikeda K, Kaneda K, Suzuki Y, Kojima S. Prevention of Rat Hepatic fibrosis by the protease inhibitor, camostat mesilate, via reduced generation of active TGF-β. *Gastroenterology.* 2001; 120: 1784-1800.
3. Akita K, Okuno M, Enya M, Imai S, Moriwaki H, Kawada N, Suzuki Y, Kojima S. Impaired liver regeneration in mice by lipopolysaccharide

via TNF- α /kallikrein-mediated activation of latent TGF- β . *Gastroenterology*. 2002; 123: 352-364.

4. 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: 977-982.
5. 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.
6. Buchholz M, Kestler HA, Holzmann K, Ellenrieder V, Schneiderhan W, Siech M, Adler G, Bachem MG, Gress TM. Transcriptome analysis of human hepatic and pancreatic stellate cells: organ-specific variations of a common transcriptional phenotype. *J Mol Med*. 2005; 83: 795-805.
7. 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: 645-6.
8. Emori Y, Mizushima T, Matsumura N, Ochi K, Tanioka H, Shirahige A, Ichimura M, Shinji T, Koide N, Tanimoto M. Camostat, an oral trypsin inhibitor, reduces pancreatic fibrosis induced by repeated administration of a superoxide dismutase inhibitor in rats. *J Gastroenterol Hepatol*. 2005; 20: 895-9.
9. Jia D, Taguchi M, Otsuki M. Preventive and therapeutic effects of the protease inhibitor camostat on pancreatic fibrosis and atrophy in CCK-1 receptor-deficient rats. *Pancreas*. 2005; 30: 54-61.
10. 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.

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

膵線維化診断に対する超音波エラストグラフィーの有用性

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，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）

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），鷲見 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】

（背景）腫瘍尾側膵には閉塞性膵炎の影響により，膵実質内に様々な程度の線維化が存在し，その結果膵臓の硬さに変化を生じている．一方組織弾性を評価可能な超音波エラストグラフィーにより，膵臓の硬さを視覚的に認識できるようになった¹⁻³．腫瘍尾側膵の超音波エラストグラフィー画像は，腫瘍尾側膵の硬さ，即ち膵線維化の進行度を反映している可能性がある．（目的）膵線維化の進行度診断に対する超音波エラストグラフィーの有用性を検討すること．（対象）2004年9月～2010年10月までに名古屋大学消化器内科にて術前に腫瘍尾側膵に対し超音波エラストグラフィーを施行し，術後に腫瘍尾側膵の病理組織学的評価をし得た全58例．（方法）術前の腫瘍尾側膵の超音波エラストグラフィー画像を統計的に解析し，術後の同部位の病理組織学的線維化の進行度と比較検討した．超音波エラストグラフィー画像の解析は専用ソフトウェア Elasto_ver 1.5.1（日立アロカメディカル）を使用し，① Mean（解析領域内の弾性の平均値），② Standard Deviation（解析領域内の弾性の標準偏差），③ Skewness（解析領域内の弾性分布の歪度），④ Kurtosis（解析領域内の弾性分布の裾の広がり）の4項目の統計量を算出した⁴．膵線維化の病理組織学的分類は，Klöppel らの提唱に基づき⁵，膵線維化進行度を grade 0～12までスコア化し，スコア 0～2 を正常，スコア 3～4 を軽度線維化，スコア 5～6 を中等度線維化，スコア 7～9 を高度線維化，スコア 10～12 をびまん性線維化と定義した．（結果）腫瘍尾側膵の膵線維化進行度は正常：14例，軽度線維化：17例，中等度線維化：12例，高度線維化：6例，びまん性線維化：9例であった．4項目統計量と膵線維化進行度との間には有意な相関関係を認めた．（① $r = -0.752^{**}$ ，② $r = -0.489^{**}$ ，③ $r = 0.700^{**}$ ，④ $r = 0.627^{**}$ ： $^{**}p < 0.001$ ，Spearman の順位相関係数）．（結論）超音波エラストグラフィーを用いて膵線維化の進行度診断は可能と考えられる．今後は症例を前向きに集積し，慢性膵炎の早期診断に対する有用性を確認することで，臨床的に有用な診断技術の開発を目指したい．

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⁶．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⁶．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．

一方超音波エラストグラフィーは組織弾性を画像化できる超音波診断技術であり、腫瘍や線維化などの硬い組織を検出することが可能である^{1~3,7)}。肝臓領域においては肝線維化の進行度を高精度に診断できることが報告されており⁷⁾、その技術は膵線維化診断にも応用可能と考えられる。名古屋大学では、2004年より超音波エラストグラフィーを膵臓に実施し、その臨床的有用性を報告してきた^{1~3)}。そこで膵線維化の進行度診断に対する超音波エラストグラフィーの有用性を検討することを目的に本研究を計画した。

B. 研究方法

対象：

2004年9月～2010年10月の間に、術前に腫瘍尾側膵に対し超音波エラストグラフィーを施行し、その4週間以内に腫瘍を含めた膵切除術を実施した全58例を後ろ向きに検討した。術前化学療法および化学放射線療法を施行した症例、膵管ステントを留置した症例、腫瘍核出術などを施行し腫瘍尾側膵の病理組織学的評価ができなかった症例は検討から除外した。

方法：

超音波内視鏡下に観察した腫瘍尾側膵の超音波エラストグラフィー画像を統計的に解析し、術後の同部位の病理組織学的膵線維化進行度と比較検討した。

超音波観測装置はEUB8500/HV900(日立アロカメディカル、図1a)を、超音波内視鏡は電子ラジアル型超音波内視鏡EG-3630UR/EG-3670URK(HOYA株式会社PENTAXライフケア事業部、図1b, c)を、超音波エラストグラフィーは椎名らにより開発されたReal-time tissue elastography[®](日立アロカメディカル、図2)を使用した⁸⁾。

画像解析は専用ソフトウェアElasto_ver 1.5.1(日立アロカメディカル、図3)を使用した。解析画像は腫瘍尾側膵が良好に描出されている超音波エラストグラフィーの静止画像からランダムに5画像を抽出し、解析領域はB-mode画像で認識できる腫瘍尾側膵全体(図3aの赤枠に相当)に設定した。解析の原理はテクスチャ解析であり、超音波エラストグラフィー画像の色調を0(青)～255(赤)の256階調のグレースケールに変換することにより、グレースケール画像(図3c)およびその分布を示すグレースケールヒストグラム(図3d)を再構成し、

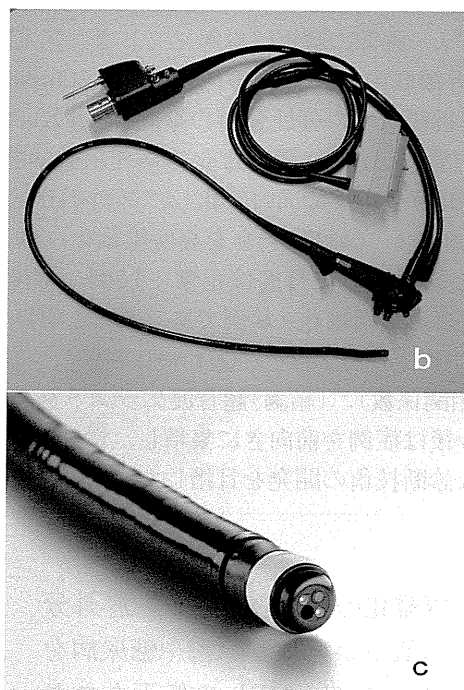
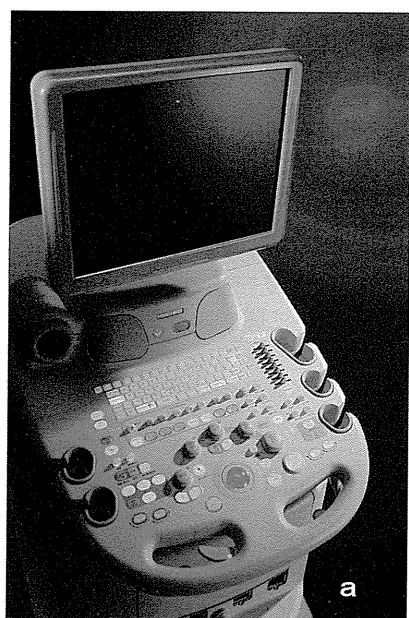


図1 使用装置

日立アロカメディカル製超音波観測装置(Hi Vision 900)(a)とPentax製電子ラジアル型EUS(EG-3670URK)の遠景写真(b)と近景写真(c)。

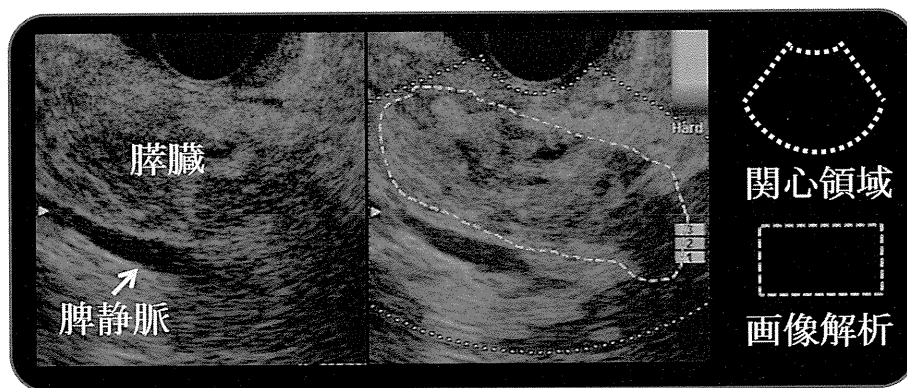


図2 腫瘍尾側脾の超音波エラストグラフィー画像

左は腫瘍尾側脾のB-mode画像、右はReal-time tissue elastography[®]による超音波エラストグラフィー画像である。Real-time tissue elastography[®]では関心領域内の相対的な弾性情報が画像化され、硬い組織は青く、柔らかい組織は赤く、平均的な硬さの組織は緑に描出される。画像例では周囲組織と比較し、膵臓の超音波エラストグラフィー画像は青く描出されており、周囲組織より硬い膵臓と考えられる。

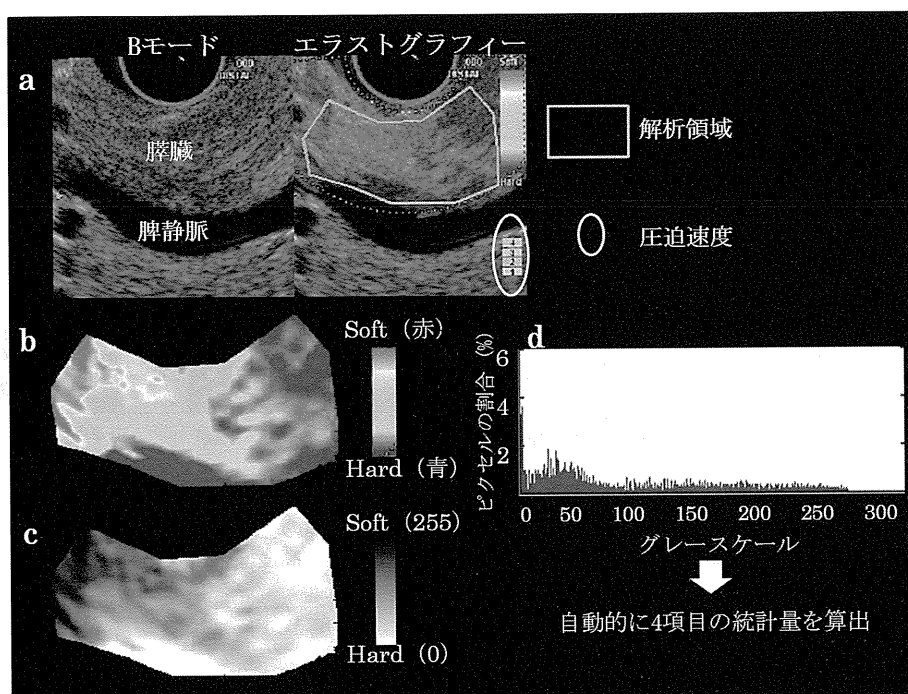


図3 画像解析ソフト Elasto_ver 1.5.1(日立アロカメディカル)の原理

解析の原理はテクスチャ解析であり、Real-time tissue elastography[®]画像(図3b)の色調を0(青)~255(赤)の256階調のグレースケールに変換することにより、グレースケール画像(図3c)およびその分布を表すグレースケールヒストグラム(図3d)を再構成し、4項目の統計量を算出する。4項目の内訳は、グレースケールヒストグラムの平均値を示すMean、標準偏差を示すStandard Deviation、歪みを示すSkewness、裾野の広がりを示すKurtosisである。尚、画像解析はB-mode画像で認識される腫瘍尾側脾全体(図3a赤枠)に施行した。また圧迫速度Bar(図3a黄丸)は圧迫速度の大きさを7段階(1~7)に表示した棒グラフであり、圧迫速度値が3~5(適正な圧迫状況と判断される)の画像を画像解析に使用した。

4項目の統計量を算出した。4項目の内訳は、グレースケールヒストグラムの平均値を示すMean、標準偏差を示すStandard Deviation、歪みを示すSkewness、裾野の広がりを示すKurtosisからなる⁴⁾。そしてこれら4項目統計量の5画像における平均値を膵線維化進行度診断の候補とした。

腫瘍尾側脾の病理組織学的線維化は Klöppel

の報告(図4)に基づき、小葉間、小葉内線維化をそれぞれ0~6の7段階に分類し、その合計スコア(0~12)を算出した⁵⁾。そしてスコア0~2を正常、スコア3~4を軽度線維化、スコア5~6を中等度線維化、スコア7~9を高度線維化、スコア10~12をびまん性線維化と定義し、膵線維化進行度を5段階に層別化した。

倫理面への配慮：

本研究は通常行われる医療行為を後ろ向きに検討した研究であり、研究対象者へのインフォームドコンセントやIRBの承認は特に取得しなかった。しかし学会発表や論文報告に関しては、個人を特定できない形式で行い、プライバシー及び個人情報の管理には最大限の配慮を行った。また本研究に関して、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

58例の平均年齢は61.8 ± 13.3歳 (Mean ± SD), 男女比は24 : 34であった。疾患の内訳は膵管内乳頭粘液性腫瘍28例, 通常型膵癌8

例, 膵内分泌腫瘍7例, その他の腫瘍15例であった。術式は膵頭部切除術35例, 膵体尾部切除術20例, 膵中央切除術3例であった。

全58例の画像解析結果を以下に示す。Meanは正規分布し, その平均値は81.58 ± 26.04 (Mean ± SD)であった。Standard Deviationも正規分布し, その平均値は57.83 ± 10.13 (Mean ± SD)であった。Skewnessも正規分布し, その平均値は0.7013 ± 0.5363 (Mean ± SD)であった。Kurtosisは正規分布せず, その中央値は2.6864, 1.56-8.10 (Median, range)であった。

腫瘍尾側膵の膵線維化進行度の結果を示す(図5)。正常を14例, 軽度線維化を17例, 中等

線維化のパターン	線維化の程度		
	軽度	中等度	高度
小葉間線維化			
限局性	1	2	3
びまん性	4	5	6
小葉内線維化			
限局性	1	2	3
びまん性	4	5	6

図4 Klöppel らによる膵線維化の病理組織学的分類

腫瘍尾側膵の病理組織学的線維化は, 小葉間, 小葉内線維化をそれぞれ0~6の7段階に分類し, その合計スコア(0~12)を算出した。そしてスコア0~2を正常, スコア3~4を軽度線維化, スコア5~6を中等度線維化, スコア7~9を高度線維化, スコア10~12をびまん性線維化と定義し, 膵線維化進行度を5段階に層別化した。

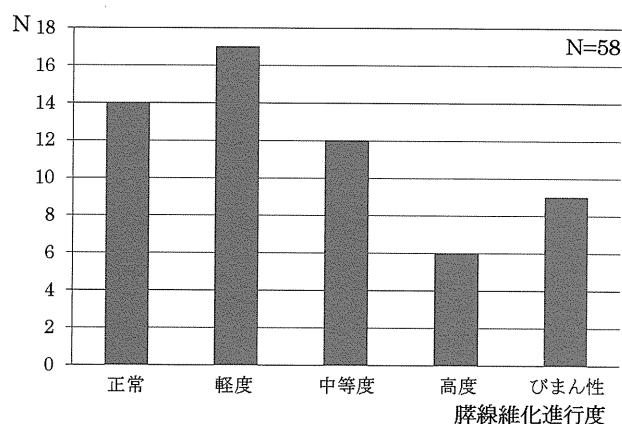


図5 腫瘍尾側膵の膵線維化進行度

腫瘍尾側膵の線維化は正常14例, 軽度線維化17例, 中等度線維化12例, 高度線維化6例, びまん性線維化9例に分類された。

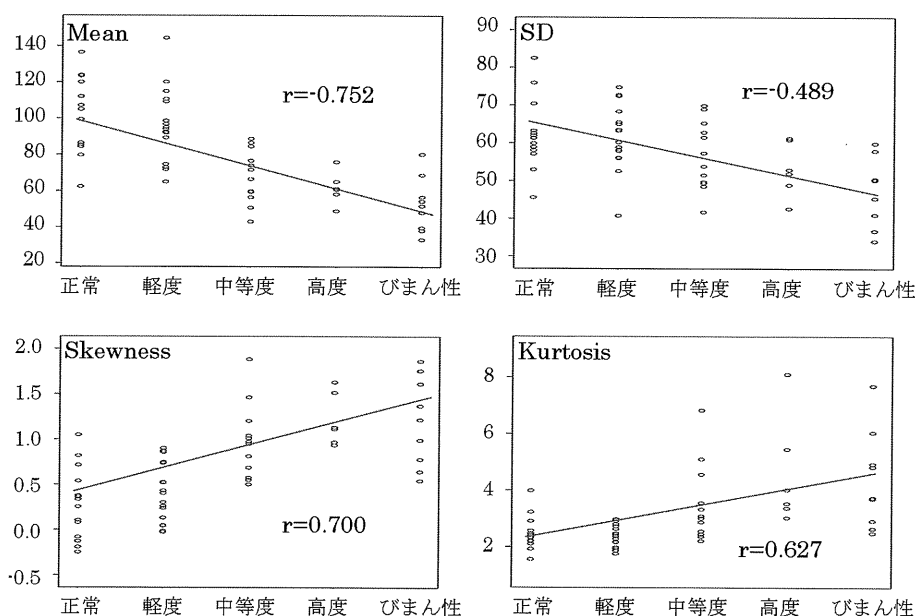


図6 4項目統計量と膵線維化進行度との相関関係

4項目統計量のすべてが膵線維化進行度と有意な相関を認め, Mean及びStandard Deviationは負の相関を, SkewnessおよびKurtosisは正の相関を認めた。

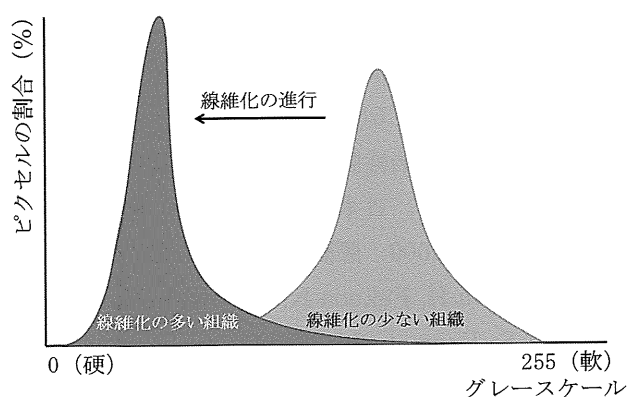


図7 腓線維化の進行に伴うグレースケールヒストグラムの変化

4項目統計量の結果から、腓線維化の進行に伴い、グレースケールヒストグラムの形状は平均値が小さく、左に歪み、裾が長くなる傾向を認めた。

度線維化を12例、高度線維化を6例、びまん性線維化を9例に認めた。

4項目統計量と腓線維化進行度との相関関係を示す(図6)。4項目統計量のすべてが腓線維化進行度と有意な相関を認め、Mean及びStandard Deviationは負の相関を、Skewness及びKurtosisは正の相関を認めた。(Mean: $r = -0.752^{**}$, Standard Deviation: $r = -0.489^{**}$, Skewness: $r = 0.700^{**}$, Kurtosis: $r = 0.627^{**}$: $^{**}p < 0.001$)。また4項目統計量の解析結果をもとにグレースケールヒストグラムの形状変化を分析すると、腓線維化の進行に伴い、ヒストグラムの平均値は小さくなり、形状は左に歪み、裾は長くなる傾向を認めた(図7)。すなわち腓線維化の進行に伴い、超音波エラストグラフィ画像は硬くなるものと考えられた。

D. 考察

現在日常臨床で用いられている慢性膵炎診断技術の多く(CT, MRI, ERCP, BT-PABA試験)は、腓線維化進行度(早期の腓線維化を含む)を診断することはできない。唯一超音波内視鏡検査のみ、腓線維化進行度(早期の腓線維化を含む)を診断できることが報告されているが^{9,10}、専門性の高い検査であり、所見が主観的であるなどの問題点もある¹¹。そのため腓線維化の進行度診断には、客観性の高い新規診断技術の開発・導入が必要と考えられ、我々は

超音波エラストグラフィ画像を統計的に解析することで4項目の統計量を算出し、それらを腓線維化の指標として検討した。

一方、新規診断技術の開発・導入にあたり、ゴールドスタンダードの設定が重要になってくるが、慢性膵炎の手術例は極めて少なく、組織生検では組織学的腓線維化を十分に評価できないため¹²、慢性膵炎の病理所見をゴールドスタンダードに設定することは容易ではない。しかし腫瘍尾側膵には閉塞性膵炎の結果、様々な程度の線維化が存在し、腫瘍切除に伴い尾側膵も一部切除されるため、腫瘍尾側膵の病理所見を得ることは比較的容易である。そこで腫瘍尾側膵の術後病理組織像をゴールドスタンダードに設定することで、腓線維化進行度診断を試みた。

その結果、腫瘍尾側膵の超音波エラストグラフィ画像から統計的に算出される4項目は、腓線維化進行度と有意な相関関係を認め、超音波エラストグラフィにより腓線維化進行度を診断できる可能性が明らかとなった。本研究の妥当性を支持する報告として、肝線維化診断に対する超音波エラストグラフィの有用性に関する検討がある^{7,13}。森川らは我々と同様の解析を行うことで、肝線維化を定量的に、高精度に診断しており、Meanの肝線維化Stage F 0-1に対する診断能はAUC = 0.89(ROC解析)であり、Standard Deviationの診断能は0.81(ROC解析)であったと報告している⁷。臓器の違い、線維化分類の違いを認めるものの、今回の結果は腓線維化の早期診断、定量的診断に期待もてる結果である。また4項目統計量の結果からグレースケールヒストグラムの形状変化を分析すると、腓線維化の進行に伴いヒストグラムの平均値は小さくなり、形状は左に歪み、裾は長くなる傾向を認めた。すなわち腓線維化の進行に伴い、腫瘍尾側膵の超音波エラストグラフィ画像は硬くなるものと考えられた。腓線維化の進行に伴い、膵硬度が上昇することは日常よく経験することであり、このことも本研究の妥当性を支持する内容と考えられる。

本研究の問題点としては後ろ向きの研究であること、症例数が比較的少数であること、臨床

的有用性が明らかでないこと，超音波内視鏡検査による研究であり侵襲を伴うことなどが挙げられる．今後は多数例の慢性膵炎早期診断に対する有用性を，超音波内視鏡検査のみならず腹部超音波検査も使用して前向きに検討する予定である．

E. 結論

超音波エラストグラフィを用いて膵線維化の進行度診断は可能と考えられる．症例を前向きに集積し，慢性膵炎の早期診断に対する有用性や腹部超音波エラストグラフィの有用性を確認することで，臨床に有用でかつ非侵襲的な診断技術の開発を目指したい．

F. 参考文献

1. Uchida H, Hirooka Y, Itoh A, Kawashima H, Hara K, Nonogaki K, Kasugai T, Ohno E, Ohmiya N, Niwa Y, Katano Y, Ishigami M, and Goto H. Feasibility of tissue elastography using transcutaneous ultrasonography for the diagnosis of pancreatic diseases. *Pancreas*. 2009; 38(1): 17-22.
2. Hirooka Y, Itoh A, Kawashima H, Ohno E, Ishikawa T, Matsubara H, Itoh Y, Nakamura M, Miyahara R, Ohmiya N, Niwa Y, Ishigami M, Katano Y, Goto H. Diagnosis of pancreatic disorders using contrast-enhanced endoscopic ultrasonography and endoscopic elastography. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7(Suppl) : S63-S67.
3. Hirooka Y, Itoh A, Kawashima H, Ohno E, Ishikawa T, Itoh Y, Nakamura Y, Hiramatsu T, Nakamura M, Miyahara R, Ohmiya N, Ishigami M, Katano Y, Goto H. Clinical oncology for pancreatic and biliary cancers: Advances and current limitations. *World J Clin Oncol* 2011; 2(5): 217-224.
4. Robert M. Haralick, K. Shanmugam, and Its'hak Dinstein. The Features for Image Classification. *IEEE Trans. on SMC*. 1973; 3: 610-621.
5. Klöppel G, Maillet B. Pseudocysts in chronic pancreatitis: a morphological analysis of 57 resection specimens and 9 autopsy pancreata. *Pancreas*. 1991; 6(3): 266-274.
6. 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.
7. Morikawa H, Fukuda K, Kobayashi S, Fujii H, Iwai S, Enomoto M, Tamori A, Sakaguchi H, Kawada N. Real-time tissue elastography as a tool for the noninvasive assessment of liver stiffness in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol*. 2011; 46(3): 350-358.
8. Shiina T, Nitta N, Ueno Ei, Jeffrey C. Real time tissue elasticity imaging using the combined autocorrelation method. *J Med Ultrasonics*. 2002; 29: 119-128.
9. Varadarajulu S, Eltoun I, Tamhane A, Eloubeidi MA. Histopathologic correlates of noncalcific chronic pancreatitis by EUS: a prospective tissue characterization study. *Gastrointest Endosc*. 2007; 66(3): 501-509.
10. Albashir S, Bronner MP, Parsi MA, Walsh RM, Stevens T. Endoscopic ultrasound, secretin endoscopic pancreatic function test, and histology: correlation in chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. 2010; 105(11): 2498-2503.
11. Wallace MB, Hawes RH, Durkalski V, Chak A, Mallery S, Catalano MF, Wiersema MJ, Bhutani MS, Ciaccia D, Kochman ML, Gress FG, Van Velse A, Hoffman BJ. The reliability of EUS for the diagnosis of chronic pancreatitis: interobserver agreement among experienced endosonographers. *Gastrointest Endosc*. 2001; 53(3): 294-299.
12. DeWitt J, McGreevy K, LeBlanc J, McHenry L, Cummings O, Sherman S. EUS-guided Trucut biopsy of suspected nonfocal chronic pancreatitis. *Gastrointest Endosc*. 2005; 62(1): 76-84.
13. Koizumi Y, Hirooka M, Kisaka Y, Konishi I, Abe M, Murakami H, Matsuura B, Hiasa Y, Onji M. Liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: noninvasive diagnosis by means of real-time tissue elastography —establishment of