

## 急性膵炎初期治療における早期壊死診断の影響

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, 塩川雅広, 上田 樹, 津田喬之, 西川義浩, 山内雄揮, 南 竜城, 栗山勝利,  
佐久間洋二郎, 大田悠司, 田辺 渉, 丸野貴久, 栗田 亮, 澤井勇悟, 宇座徳光, 千葉 勉  
(京都大学医学研究科消化器内科学講座)

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】

我々はこれまでに、Perfusion CTにより急性膵炎の局所合併症(膵壊死)を正確に予測し得ることを示してきた(参考文献1)。しかし、Perfusion CTが膵炎の全身的な合併症を予測し得るか、またこれらの局所・全身合併症の予測が膵癌発症早期の診療に有用かどうかについては不明であった。今回、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血清Angiopoietin-2値と、Perfusion CTの測定値が相関すること(参考文献2)、さらにはこのような正確な局所・全身合併症予測がICUトリアージ率に影響したことが明らかとなった。

### A. 研究目的

欧米では発症早期の壊死診断が可能であっても、実臨床における治療方針決定に影響しないとする意見が多い。そこで、発症早期に正確な膵壊死や全身合併症の予測が、集学的治療導入の判断や、予後の改善につながるかについて明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

発症3日以内にPerfusion CTを撮像した症例のうち、発症3日以内の血清が保存されていた11人のAngiopoietin-2値をELISA法にて測定し、膵Perfusion Parameter(FV, VD, Tau, R2)との相関関係を調べた。さらに、関連施設から登録されたdatabase(2009-12, n=78)(UMIN000001926)を用い、発症3日以内の重症急性膵炎症例においてPerfusion CTによる膵壊死予測を入院時に行い、ICUトリアージ率に影響したかを後ろ向きに解析した。

### C. 研究結果

Angiopoietin-2値の上昇は、Perfusion ParameterのTauの短縮と相関関係を示した

( $Rho = -0.68, p = 0.03$ )。また、臓器不全を発症早期に認めなかった53例の中で、壊死予測陽性例でICUヘトリアージされたものは4/10例(40.0%)、予測陰性例でICUヘトリアージされたものは6/43例(11.3%)であり、両者に統計的な有意差を認めた( $P < 0.05$ )。

### D. 考察

Perfusion ParameterのTau値は、腹部大動脈ならびに、膵非壊死部における実質の造影剤の動態から算出されるため、Systemicな血流異常の影響がTau値の短縮に関与している可能性があると考えられた。一方、Perfusion CTによる全身・局所合併症の評価により、救急搬送時に臓器不全を認めなくても壊死予測陽性例は高率にICUにて経過観察されていた。すなわち、発症早期の膵壊死予測はICUトリアージ率に影響を及ぼし、高額なICU医療費の適正使用にも関与した可能性が示唆された。このような発症早期の膵壊死診断全身合併症の予測が、集学的治療導入の判断や予後の改善に寄与しているかどうかについては、今後前向き介入試験で確認する必要があると思われた。

## E. 結論

Perfusion CTにより全身・局所合併症の評価が可能となり、トリアージに有用となる可能性がある。

## F. 参考文献

1. 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.
2. Watanabe T, Tsuji Y, Kodama Y, Isoda H, Yamamoto H, Chiba T. Relationship between serum angiopoietin-2 level and perfusion CT parameters in severe acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol.* 2011; 106: 1859-1861.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kishimoto M, Tsuji Y, Katabami N, Shimizu J, Lee KJ, Iwasaki T, Miyake YI, Yazumi S, Chiba T, Yamada K. Measurement of canine pancreatic perfusion using dynamic computed tomography: Influence of input-output vessels on deconvolution and maximum slope methods. *Eur J Radiol* 2011; 77: 175-181.
- 2) Watanabe T, Tsuji Y, Kodama Y, Isoda H, Yamamoto H, Chiba T. Relationship between serum angiopoietin-2 level and perfusion CT parameters in severe acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1859-1861.
- 3) 辻 喜久, 渡邊 翼, 塩川雅広, 栗田亮, 澤井勇悟, 上野憲司, 塩せいじ, 宇座徳光, 児玉裕三, 小泉幸司, 磯田裕義, 渡邊祐司, 山本 博, 千葉 勉. 重症急性膵炎発症早期における“可逆性-非可逆性膵虚血”の診断. *膵臓* 2011; 26: 59-65.
- 4) 辻 喜久, 山本 博, 能登原憲司, 児玉裕三, 千葉 勉. 重症急性膵炎と non-oc-

clusive mesenteric ischemia. *日本腹部救急医学会雑誌* 2011; 31: 1029-1037.

- 5) Tsuji Y, Takahashi N, Chiba T. Pancreatic perfusion CT in early stage of severe acute pancreatitis. *Int J Inflamm* 2012.
  - 6) Koyasu S, Isoda H, Tsuji Y, Yamamoto H, Matsueda K, Watanabe Y, Chiba T, Togashi K. Hepatic arterial perfusion increases in the early stage of severe acute pancreatitis patients: Evaluation by perfusion computed tomography. *Eur J Radiol* 2012; 81: 43-46.
  - 7) Tsuji Y, Watanabe T, Kudo M, Arai H, Strober W, Chiba T. Commensal Organisms Act through Nucleotide-Binding Oligomerization Domain 1 to Enable Cholecystokinin Receptor Agonist-Induced Pancreatitis. *Immunity* 2012; 37: 326-338.
  - 8) Watanabe T, Tsuji Y, Takahashi N, Yoshida T, Tamaoki M, Kikuchi O, Watanabe Y, Kodama Y, Isoda H, Yamamoto H, Chiba T. Relationship Between Pancreatic Perfusion Parameters and Clinical Complications of Severe Acute Pancreatitis. *Pancreas* 2012; 42: 180-182.
  - 9) Koyasu S, Isoda H, Nakase H, Kodama Y, Chiba T, Togashi K. Bifid tail of the pancreas with localized acute pancreatitis. *Magn Reson Med Sci* 2013; 12: 315-318.
  - 10) Koyasu S, Tsuji Y. Chapter 3, Technique and Clinical Utility of Hepatic Perfusion CT. Jae Hyun Park, *Computed Tomography: New Research*. NY, Nova publications, 2013. In press.
  - 11) 辻 喜久, 児玉裕三, 千葉 勉. 造影CTおよびperfusion CTによる膵壊断の現状. 2013; 34: 1099-1104.
- ### 2. 学会発表
- 1) 辻 喜久. Time Axis Imageと消化器画像診断. 膵Perfusion CT画像研究会. 東京. 2011年5月
  - 2) Watanabe T, Tsuji Y, Kodama Y, Isoda H, Yamamoto H, Chiba T. Relationship be-

tween serum angiopoietin-2 level and perfusion CT parameters in severe acute pancreatitis. IPRF 2011. Osaka. 2011. 11.

- 3) Tsuji Y, Takahashi N, Talukdar R, Chari ST, Vege SS. Isolated per-pancreatic necrosis is associated with better outcomes compared to pancreatic necrosis with or without per-pancreatic necrosis. APA. Chicago. 2012. 11.
- 4) Tsuji Y, Takahashi N, Fletcher JG. Pancreatic perfusion image; the current and future. JRS Symposium. Yokohama. 2012.
- 5) Tsuji Y, Takahashi N, Shuai L, Ramirez Giraldo JC, Chari ST, Vege SS, Fletcher JG. Perfusion CT for acute pancreatitis: evaluation of partial CT data set for prediction of pancreatic necrosis. ARRS Oral presentation. Vancouver. 2012.
- 6) Tsuji Y, Takahashi N, Fletcher JG, Hough DM, McMenomy BP, Grant K, Klotz E. Prediction of pancreatic necrosis in early stage of acute pancreatitis using subtraction color map images created from contrast-enhanced and unenhanced CT. RSNA Oral presentation. Chicago. 2012.
- 7) Tsuji Y, Takahashi N, Fletcher JG, Hough DM, McMenomy BP, Grant K, Klotz E. Prediction of pancreatic necrosis in early stage of acute pancreatitis using subtraction color map images created from contrast-enhanced and unenhanced CT. SCBTMR Poster presentation. Boston. 2012.
- 8) Tsuji Y, Pancreatic perfusion image; the current and future. APA Symposium. Miami. 2012.
- 9) Tsuji Y, Takahashi N, Kawashima A, Fletcher JG. Relative enhancement ratio of renal medulla using triple phase pancreas CT as predictor of acute renal injury in patients with acute pancreatitis. SAR Poster presentation. Hawaii. 2013.
- 10) Kimura Y, Kikuyama M, Kurokami T,

Kodama Y, Chiba T. Acute Pancreatitis as a High Risk Group for Pancreatic Cancer. Joint Meeting of the International Association of Pancreatology & the Korean Pancreatobiliary Association. Seoul, Korea. 2013. 9.

#### 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

## 重症急性膵炎に対する Plasma Dia-filtration の有効性の検討

研究報告者 古屋智規 秋田赤十字病院総合診療科 総合診療科部長

### 共同研究者

江口 豊（滋賀医科大学救急集中治療医学），中永土師明（秋田大学救急集中治療医学）  
谷口 巧（金沢大学集中治療部），吉岡豊一（西京都病院外科）  
畠山 卓，小澤雅豊（秋田赤十字病院腎臓内科）

### 【研究要旨】

重症急性膵炎(SAP)におけるPDF(plasma Dia-filtration)の有効性を検討した。PDFは、臓器不全を合併するSAPに適応し、これまで4例(予後因子8~5点, APACHE-II score 18-24点)に適応し、3例を救命した。発症早期に適応した1例は死亡したが、2例は48時間法のcontinuous PDF(CPDF)とし、病態の改善が得られ救命した。以上から、適応時期を水分循環管理の要する早期でなく、臓器不全遷延例とし、CPDFとすることなどで、効果が得られるものと思われた。今後は多施設臨床研究などで有効性を証明すべきと考える。

### A. 研究目的

重症急性膵炎(SAP)の治療成績はいまだ不良であり<sup>1,2)</sup>、更なる治療法の改善が求められる。急性腎障害を合併する症例に対し、持続的血液濾過透析は急性膵炎ガイドラインで「推奨度B」と効果が期待されるものの、明確なエビデンスはなく<sup>3)</sup>、更なる急性血液浄化療法の開発が期待される。そこで、その新たな手法として、Plasma Dia-filtration (PDF)の有効性を検討した。

### B. 研究方法

PDFは、厚生労働省重症判定例のうち、臓器不全を伴う症例に適応した。施行方法は、膜型血漿分離器であるエバキュア EC-2A®(川澄化学工業、東京)を用い、図1のごとくの回路設定にて行った。操作は血液流量60~80 ml/分、濾液流量1200 ml/h(8時間法)、800 ml/h(48時間法=continuous PDF; CPDF)、透析液流量600 ml/h(8時間法)、400 ml/h(CPDF)、置換液流量150 ml/h(8時間法)、120 ml/h(CPDF)で行い、透析液と補液はHF-ソリタ血液ろ過用補充液・BWキット®(エイワイファーマ株式会社、東京)、置換液は新鮮凍結血漿を使用し、20%アルブミンを50 ml/日で補

充した。抗凝固剤はnafamostat mesilateを25~35 mg/hで使用した。

全例、集中治療室における全身モニタリング、大量輸液療法、人工呼吸管理を含めた全身管理を行った。他の特殊療法は、膵壊死を伴うものに動注療法、急性腎障害を含む臓器不全を伴うものにポリメチルメタクリレート膜による持続的血液濾過透析(PMMA-CHDF)を、また、栄養管理を含めた腸管対策として早期経腸栄養を全例に行った。

なお、本研究は、PDF多施設臨床研究の一参加施設として行われ、院内倫理委員会の承認を得て、研究対象者に対しインフォームドコンセントを取得したうえで行った。

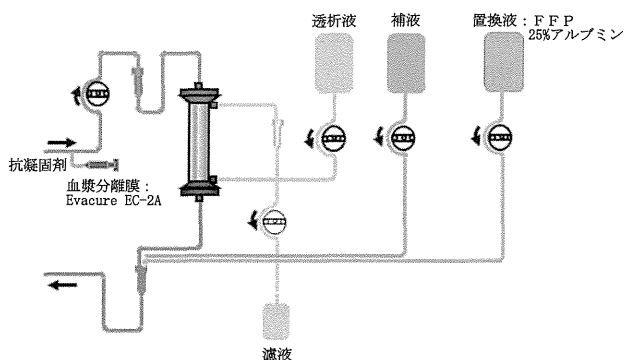


図1 PDF回路図の模式図

表 1 重症急性膵炎, PDF 施行例の内訳

症例	年齢/ 性	予後因子/ CT グレード	APACHE- II	施行日(病日) /施行法	転帰
1	76/女	8/3	24	2, 27/PDF	死亡
2	50/女	7/2	22	4, 8/PDF	生存
3	58/男	5/2	18	8, 11/CPDF	生存
4	60/男	5/2	21	6, 10/CPDF	生存

### C. 研究結果

表 1 に PDF の治療成績を示す。これまで、4 例に本法を適応した。各々の予後因子は 8～5(中央値 6, 以下同様)点, CT グレードは 3～2(2)点で, APACHE-II スコアは 24～18(21.5)点であった。人工呼吸器管理となったのは, 症例 1～3 の 3 例で, 特殊治療は症例 1 に動注療法が施行され, また全例で, PMMA-CHDF, 早期経腸栄養が施行された。発症早期に適応した症例 1 は死亡したが, 残りの 3 例を救命した。救命例のうち, 2 例は 48 時間施行の CPDF であり, 早期の血液浄化法は CHDF を行ったのち, 遷延する臓器障害ないし高度炎症持続に対して本法を適応した。

### D. 考察

重症急性膵炎の治療成績は, いまだ良好とはいいがたく, 本研究班における全国調査でも致命率は旧判定基準で 8.0%<sup>1)</sup>, より基準を厳しくし, 臓器障害率が高くなった現判定基準では 19.5%である<sup>2)</sup>。よって, とくに臓器障害を合併するような症例のさらなる治療法改善が求められる。本疾患に合併する臓器障害は, 急性循環不全, 急性腎障害, 呼吸不全, 血管内凝固症候群, 肝不全など多彩であるが, 基本は集中治療室における全身モニタリングを行い, 輸液, 循環管理を中心に全身管理を行うことである。しかし, 臓器障害の進行に伴って, 単なる輸液や薬剤のみでは管理困難になることが多く, 急性血液浄化法が効果的であることが多い<sup>4)</sup>。ただし, これをランダム化比較試験で有効と証明することは, もはや呼吸不全に対する人工呼吸器管理の有効性を証明するのと同様に困難な時代であり, むしろ, 「どういった血液浄化法を, どのようなタイミングで行ったら良いか」を見

出すべき時と考える。

PDF は, ポアサイズの小さな血漿交換用の濾過膜(アルブミン篩係数 0.3)を用いて, その中空糸の外側に透析液を流すことで血漿交換と血液透析を, 1 本のカラムで簡便に, かつ効果的に施行し得る新しい血液浄化法であり, 急性肝不全に対する有効性が報告されている<sup>5)</sup>。中分子量物質を含めた, より多くの病因物質を除去でき, また, アルブミン(結合物質)や凝固因子など, 欠落因子の補充が効果的に可能である。これまでに, 重症急性膵炎に対する試みもなされ, 効果が期待されている<sup>6,7)</sup>。

今回, 臓器不全を合併する重症急性膵炎 4 例に適応し, 3 例を救命し得た。発症早期に適応した 1 例は失ったが, その原因の一つとして, 本法の濾過法では, 除水効果が限られるため, 水分循環管理を要する早期の適応に問題があったものと思われる。一方, むしろ遷延する炎症反応あるいは抗炎症性サイトカインによる代償性抗炎症反応症候群(compensated anti-inflammatory syndrome; CARS), さらに両者の合併(mixed antagonistic response syndrome; MARS)などに対して有効な可能性がある。また, 2 例は 48 時間の CPDF を行い, これを契機に病態が好転してその後, 良好な経過を得たことから, あくまで, 経験論ではあるが, 適応時期は水分循環管理を要する早期でなく遷延する臓器不全例, たとえば新 Atlanta 分類による severe, multiple organ failure の確定後<sup>8)</sup>などとし, 施行方法は CPDF とするのが良いと思われる。

今後, 有効性を証明するためには, 多施設間ランダム化比較試験を行うことが最も有効である。そのためには, 有効性を証明し得るマーカーや, エンドポイントの設定等に更なる検討を要するものと考えられる。

### E. 結論

重症急性膵炎における PDF は, 適応時期を水分循環管理の要する早期でなく, 臓器不全遷延例とし, CPDF とするなど, 手技と適応決定を適格に行えば, 極めて有効な治療手段となり得る。

## F. 参考文献

1. 下瀬川徹, 佐藤賢一, 正宗 淳, 木原康之, 佐藤晃彦, 木村賢治, 辻 一郎, 栗山進一, 濱田晋. 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研究事業難治性膵疾患に関する調査研究, 平成22年度総合研究報告書2011: 37-43.
2. 武田和憲, 大槻 眞, 木原康之, 須賀俊博, 小泉 勝, 佐田尚宏, 白鳥敬子, 峯 徹哉, 元雄良治, 乾 和郎, 大原弘隆, 北川元二, 片岡慶正, 竹山宜典, 伊藤鉄英, 広田昌彦. 急性膵炎重症度判定基準最終改訂案の検証. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業難治性膵疾患に関する調査研究, 平成17年度~平成19年度総括・分担研究報告書2008; 43-47.
3. 急性膵炎診療ガイドライン2010(第3版). 急性膵炎の診療ガイドライン作成委員会編. 東京. 金原出版. 2009; 114-115.
4. 下瀬川徹, 伊藤鉄英, 明石隆吉, 五十嵐久人, 伊佐地秀司, 乾 和郎, 岡崎和一, 片岡慶正, 神澤輝実, 川茂幸, 北川元二, 木原康之, 清水京子, 白鳥敬子, 武田和憲, 竹山宜典, 成瀬達, 西森 功, 廣田昌彦, 廣田衛久, 古屋智規, 正宗 淳, 真弓俊彦, 峯 徹哉(急性膵炎における初期診療のコンセンサス改訂委員)(厚生労働省難治性膵疾患調査班). ガイドライン急性膵炎における初期診療のコンセンサス 改訂第3版. 膵臓 2011; 26: 651-668.
5. Nakae H, Eguchi Y, Saotome T, Yoshioka T, Yoshimura N, Kishi Y, Naka T, Furuya T. Multicenter study of plasma diafiltration in patients with acute liver failure. Ther Apher Dial 2010; 14: 444-50.
6. 五月女隆男, 江口 豊. 重症急性膵炎に対する新しい血液浄化法 plasma dia-filtration の有用性. 胆と膵2006; 27: 45-50.
7. 古屋智規, 土佐慎也, 衛藤 武, 小松田智, 石井 透, 八木澤仁, 澤田俊哉, 吉川雅輝, 最上希一郎, 岩崎 渉, 吉楽拓哉, 大内慎一郎, 小棚木均, 武藤 理, 畠山 卓, 山岸 剛, 藤田康雄, 江口 豊, 五月女隆男, 吉岡豊一, 中永士師明, 谷口久美子. 特集 急性膵炎の診断と治療: 最新の動向 急性血液浄化法の適応と治

療法の実際. 消化器外科 2012; 35: 1771-1781.

8. Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsiotos GG, Vege SS; Acute Pancreatitis Classification Working Group. Classification of acute pancreatitis-2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. Gut 2013; 62: 102-11.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 古屋智規, 小棚木均, 大内慎一郎, 吉川雅輝, 澤田俊哉, 岩崎 渉, 里吉梨香, 吉楽拓哉, 小棚木圭, 佐藤公彦, 武藤理, 円山啓司, 添野武彦. 病態栄養に基づいた膵疾患の栄養管理を考える 急性膵炎における Synbiotics 早期経腸栄養. 胆と膵 2011; 32: 483-486.
- 2) 古屋智規. 急性膵炎 fine needle aspiration 膵感染症における重要な治療戦略. Intensivist 2011; 3: 704-710.
- 3) 古屋智規. 急性膵炎 急性膵炎における鎮痛薬の基礎知識 使用法と注意点. Intensivist 2012; 1: 170-174.
- 4) 古屋智規. 病棟での重症患者管理 エキスパートの観察力と対応力を学び, 急変させずに切り抜ける! 急性膵炎患者のマネジメント. レジデントノート2012; 14: 2332-2339.
- 5) Mayumi T, Inui K, Maetani I, Yokoe M, Sakamoto T, Yoshida M, Ko S, Hirata K, Takada T. Urinary Trypsinogen-2 Dipstick for Acute Pancreatitis Study Group of Japanese Society of Abdominal Emergency Medicine (UtrAP Study Group). Validity of the urinary trypsinogen-2 test in the diagnosis of acute pancreatitis. Pancreas 2012; 41: 869-875.
- 6) 古屋智規, 小棚木均, 大内慎一郎, 吉川雅輝, 澤田俊哉, 最上希一郎, 岩崎 渉, 吉楽拓哉, 佐藤公彦, 小棚木圭. 重症膵炎100例の治療成績. Thrombosis Medicine 2012; 2: 411.

- 7) 古屋智規, 土佐慎也, 衛藤 武, 小松田智, 石井 透, 八木澤仁, 澤田俊哉, 吉川雅輝, 最上希一郎, 岩崎 渉, 吉楽拓哉, 大内慎一郎, 小棚木均, 武藤 理, 畠山 卓, 山岸 剛, 藤田康雄, 江口豊, 五月女隆男, 吉岡豊一, 中永士師明, 谷口久美子. 特集 急性膵炎の診断と治療: 最新の動向 急性血液浄化法の適応と治療法の実際. 消化器外科 2012; 35: 1771-1781.
- 8) 古屋智規, 岩崎 渉, 佐藤公彦, 小棚木圭, 大内慎一郎. 小棚木均. 特集: 腹部救急治療における NST の役割 腹部救急疾患における NST の有効性と対策. 日腹部救急医誌 2013; 33: 705-709.
2. 学会発表
- 1) 古屋智規, 小棚木均, 大内慎一郎, 吉川雅輝, 澤田俊哉, 岩崎 渉, 酒井梨香, 吉楽拓哉. 肝胆膵手術における Synbiotics 超早期経腸栄養/NST 総合プログラム ~ 多施設共同研究に向けた展望. 第66回日本消化器外科学会総会. 名古屋. 2011年7月
- 2) 真弓俊彦, 吉田雅博, 乾 和郎, 前谷容, 横江正道, 坂本照夫, 古屋智規, 洪繁, 平田公一, 高田忠敬. 急性膵炎診断における尿中 trypsinogen-2 の有用性の多施設共同研究. 第42回日本膵臓学会大会. 弘前. 2011年7月
- 3) 真弓俊彦, 吉田雅博, 乾 和郎, 前谷容, 横江正道, 坂本照夫, 古屋智規, 洪繁, 平田公一, 高田忠敬. 急性膵炎診断での尿中 trypsinogen-2 の有用性の多施設共同研究. 第47回腹部救急医学会総会. 福岡. 2011年8月
- 4) Furuya T, Kotanagi H, Ouchi M, Kikkawa M, Sawada T, Iwasaki W, Skai T, Kichiraku T. Synbiotics early enteral nutrition: nutrition support team program in hepatobiliary pancreas surgery. Yokohama. 2011. 9.
- 5) 古屋智規, 小棚木均, 大内慎一郎, 吉川雅輝, 澤田俊哉, 岩崎 渉, 酒井梨香, 吉楽拓哉. 肝胆膵手術における Synbiotics 超早期経腸栄養/NST 総合プログラム ~ 多施設共同研究に向けた展望. 第66回日本消化器外科学会総会. 名古屋. 2011年7月
- 6) 古屋智規, 大内慎一郎, 小棚木均, 吉川雅輝, 澤田俊哉, 岩崎 渉, 里吉梨香, 吉楽拓哉, 藤田康雄, 鈴木裕子, 中畑潤一, 土佐慎也, 熊谷 誠, 小林久益, 大沢元和, 柳原 悠, 児玉健太, 嵯峨夏来, 大久保範子. 膵頭十二指腸切除術後の呼吸窮迫に対して PMMA 膜による持続的血液濾過透析を適応した一例. 第32回日本アフェレシス学会学術大会. 東京. 2011年10月
- 7) 中永士師明, 江口 豊, 五月女隆男, 吉岡豊一, 磯野元秀, 吉村規子, 來住優輝, 青野多聞, 古屋智規. 急性肝不全・急性膵炎に対するアフェレーシス. 第32回日本アフェレシス学会学術大会. 東京. 2011年10月
- 8) 真弓俊彦, 乾 和郎, 前谷 容, 横江正道, 坂本照夫, 古屋智規, 洪 繁, 吉田雅博, 平田公一, 高田忠敬. 重症急性膵炎の診断と治療 急性膵炎の診断, 重症度判定における尿中 trypsinogen-2 の有用性の検討. 第48回腹部救急医学会総会. 金沢. 2012年3月
- 9) 古屋智規, 大内慎一郎, 吉川雅輝, 澤田俊哉, 最上希一郎, 岩崎 渉, 吉楽拓哉, 佐藤公彦, 小棚木圭, 小棚木均. 重症急性膵炎における続発性膵感染症の診断と治療. 第48回腹部救急医学会総会. 金沢. 2012年3月
- 10) 古屋智規, 大内慎一郎, 吉川雅輝, 澤田俊哉, 最上希一郎, 岩崎 渉, 吉楽拓哉, 佐藤公彦, 小棚木圭, 小棚木均, 土佐慎也, 中畑潤一, 鈴木裕子. 腹部救急疾患における NST の有効性と対策. 第48回腹部救急医学会総会. 金沢. 2012年3月
- 11) 古屋智規. 重症急性膵炎における血液浄化療法の検討. 第48回腹部救急医学会総

会. 金沢. 2012年 3月

- 12) 古屋智規, 小棚木均, 大内慎一郎, 吉川雅輝, 澤田俊哉, 最上希一郎, 岩崎渉, 吉楽拓哉, 佐藤公彦, 小棚木圭, 武藤理. 膵全摘後, NST 外来支援の有効性. 第24回日本肝胆膵外科学会. 大阪.

2012年 5月

- 13) 上田純二, 田中雅夫, 大塚隆生, 下瀬川徹, 徳永正二, 江川新一, 神澤輝実, 木原康之, 伊藤鉄英, 入澤篤志, 久津見弘, 川茂 幸, 中村光男, 植村正人, 安藤 朗, 佐田尚宏, 峯 徹哉, 羽鳥隆, 片岡慶正, 岡崎和一, 古屋智規, 伊佐地秀司, 山口武人. 慢性膵炎は膵癌発症の危険因子であり, 慢性膵炎手術によって膵癌発症率は減少する. 第43回日本膵臓学会大会. 山形. 2012年 6月

- 14) 古屋智規, 小棚木均, 大内慎一郎, 吉川雅輝, 澤田俊哉, 最上希一郎, 岩崎渉, 吉楽拓哉, 佐藤公彦, 小棚木圭. 「重症急性膵炎」100例の治療成績. 第67回日本消化器外科学会総会. 富山. 2012年 7月

- 15) 古屋智規, 衛藤 武, 石井 透, 江口豊, 吉岡豊一, 中永土師明, 澤田俊哉, 吉川雅輝, 最上希一郎, 岩崎 渉, 吉楽拓哉, 大内慎一郎, 佐藤公彦, 小棚木圭, 小棚木均. 重症急性膵炎におけるPDF (Plasma Dia-filtration) の検討. 第49回腹部救急医学会総会. 福岡. 2013年 3月

- 16) 真弓俊彦, 下瀬川徹, 伊佐地秀司. 伊藤鉄英, 片岡慶正, 桐山勢生, 武田和憲, 竹山宜典, 古屋智規, 安田英人. 急性膵炎重症度評価におけるプロカルシトニン, HMGB1 などの有用性の多施設研究. 第40回日本集中治療医学会. 松本. 2013年 2月

- 17) 古屋智規. 重症急性膵炎の治療戦略 血液浄化法による病因物質除去と欠落因子補充の観点から. 第44回日本膵臓学会大会. 仙台. 2013年 7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



## メタボロミクスを用いた膵炎治療薬の探索

研究報告者 増田充弘 神戸大学大学院医学研究科消化器内科学分野 助教

### 共同研究者

坂井 文, 吉田 優, 西海 信, 塩見英之, 有阪好史, 久津見弘, 早雲孝信, 東 健  
(神戸大学大学院医学研究科消化器内科学分野)

### 【研究要旨】

急性膵炎は一旦重症化すると致死率の高い疾患であるため、新たな治療薬の探索が必要であると考えられている。本研究では2種類の膵炎モデル(セルレイン誘発性膵炎, アルギニン誘発性膵炎)を用いて、急性膵炎における低分子代謝物の変動をガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)を用いたメタボロミクスにより網羅的に解析した。そして、膵炎に特徴的な変動を示す低分子代謝物を見出し、急性膵炎の治療へつなげる知見が得られるかどうかを検討した。まず、膵炎モデルマウスの血清・膵組織を採取し膵炎が発症していることを確認した上で低分子代謝物の変動をGC/MSで解析したところ、陰性対照群と比較して有意に変動する代謝物が数種類同定できた。2種類の膵炎モデルで共通した変動を示す低分子代謝物が数種類見られ、その中でも膵組織で有意に減少したグルタミン酸・O-ホスホエタノールアミンに注目し、セルレイン処理したマウスに投与した結果、共に膵炎を改善させることが確認できた。以上より、GC/MSを用いたメタボロミクスは膵炎に特徴的な変動を示す低分子代謝物を同定でき、膵炎治療薬の探索に有用であると考えられた。

### A. 研究目的

急性膵炎は年々増加傾向にある疾患であり、細胞内酵素の活性による膵組織の自己消化と言われているが、正確な病態は未だ明らかにされていない。一旦重症化すると全身性炎症反応症候群に発展し死亡することもあり、重症急性膵炎は難治性膵疾患の一つとされ、新たな治療薬の探索が必要であると考えられている<sup>1~3)</sup>。メタボロミクスは、様々な条件下における低分子代謝物の特徴や相互作用を、包括的、かつ、網羅的に探索する研究手法である<sup>4~6)</sup>。そこで、急性膵炎で生じる低分子代謝物の変動を評価するため、2つの膵炎モデルマウス、すなわち、セルレイン誘発性膵炎モデルとアルギニン誘発性膵炎モデル、における血清、ならびに、膵組織中の代謝物をガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)により分析し、その変動代謝物が急性膵炎の重症度に影響するか否かについて検討した。

### B. 研究方法

セルレイン膵炎モデル作成のため、C57BL/6J マウス(9-10週齢, オス)に50  $\mu\text{g}/\text{kgBW}$  セルレインを1時間毎に6回腹腔内投与し、初回投与から8時間後に血清、ならびに、膵組織を採取した<sup>7)</sup>(図1A)。また、アルギニン膵炎モデル作成のため、C57BL/6J マウス(9-10週齢, オス)に4.7  $\text{g}/\text{kgBW}$  L-アルギニン塩酸塩を1時間毎に2回腹腔内投与し、初回投与

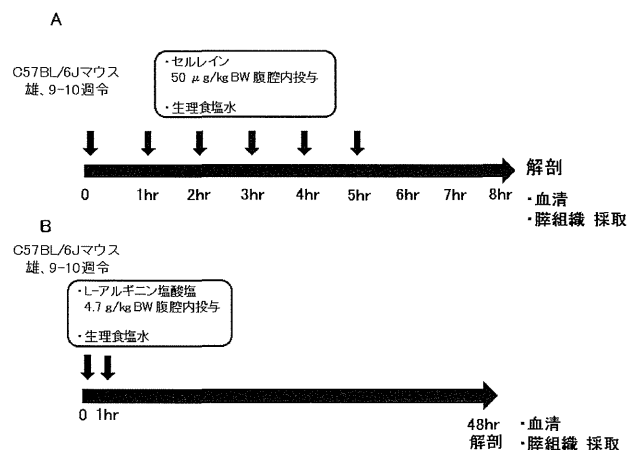


図 1

から48時間後に血清と脾組織とを採取した<sup>8)</sup>(図1B)。両モデルにおいて、血清中の脾アミラーゼ活性を測定し、また、脾組織はホルマリン固定後組織切片を作成してHE染色を行うことで組織学的評価を実施した<sup>9)</sup>。上記方法により脾炎モデルが作成されていることを確認した。このセルレイン脾炎モデルマウスと陰性対照群、アルギニン脾炎モデルマウスと陰性対照群の血清と脾組織を用いてメタボローム解析を実施し、代謝物プロファイルと比較検討した。各検体から水溶性代謝物を抽出し、GCMS測定のため誘導体化処理を行った後、ガスクロマトグラフ質量分析計(GCMS-QP2010 Ultra)を用いて代謝物の網羅的解析を実施した<sup>10)</sup>。

また、グルタミン酸とO-ホスホエタノールアミンをセルレイン脾炎モデルマウスに投与する実験を実施した。50 mg/kgBW or 100 mg/kgBW Glu, あるいは、200 mg/kgBW or 400 mg/kgBW PEA をセルレイン初回投与から1時間後より1時間毎に5回腹腔内投与し、8時間後に血清と脾組織を採取した(図3)。血清中の脾アミラーゼ活性と脾組織中のミエロペルオキシダーゼ(MPO)活性の測定、脾組織のHE染色を行い、生化学的、および、組織学的に脾炎の変化を評価した。

#### (倫理面への配慮)

本実験ではマウスモデルを用いて急性脾炎の病態・新規治療法を検討する。マウスはヒトと同じ哺乳類で高い遺伝子相同性を持つだけでなく、免疫学において動物実験としての長い歴史と様々な知見が集積されている。また、実験の再現性を保障する遺伝的に均一な「近交系」が確率されているため、急性脾炎に対する効果を生体内で検討することが可能であると考えられる。本実験では急性脾炎による病態生理を個体レベルで検討することが必須であるため、動物を使用しない他の実験法は採用できず、上記理由より使用する動物としてマウスが最適と考えられた。

実験により動物が被る苦痛に関して、セルレイン・アルギニンを腹腔内投与した際、薬物代謝によって生じる軽度の全身倦怠感・脾炎によ

る腹痛・腹部不快感・軽度～中等度の発熱が考えられる。動物の行動(摂食・歩行状態)より大きな苦痛は感じていないと判断できるが、腹痛・全身衰弱による摂食困難・歩行困難などの耐え難い苦痛が観察される場合には速やかに安楽死させている。マウスより血清・脾組織を採取する際の安楽死の方法として、フェノキシエタノール麻酔下(23 Gの注射針を用いて腹腔内投与)で頸椎脱臼を行いマウスの苦痛軽減を図っている。動物実験計画書 承認番号 P101010。

#### C. 研究結果

1) セルレイン脾炎, アルギニン脾炎におけるメタボローム解析

マウスの血清と脾組織を用いて代謝物の解析を行ったところ、セルレイン脾炎の血清で同定可能な低分子代謝物を93物質見出した。その中で陰性対照群と比較して有意に増加した代謝物は3物質、減少した代謝物は16物質であった。また脾組織では129物質が同定可能であり、有意に増加した代謝物は32物質、減少した代謝物は10物質であった。一方、アルギニン脾炎の血清で同定可能な低分子代謝物は120物質であり、陰性対照群と比較して有意に増加した代謝物は7物質、減少した代謝物は33物質であった。また脾組織では133物質が同定可能であり、有意に増加した代謝物は19物質、減少した代謝物は18物質であった。よって脾炎の発症によって代謝物プロファイルが変動することが判明した。その中でもエネルギー産生に関与するTCA回路の中間代謝物の変動が顕著であった。また、脾炎特異的に変動する代謝物として、セルレイン脾炎とアルギニン脾炎に共通して有意な変動を示す代謝物質を数種見出した。その中でも、脾組織中で有意に減少する代謝物としてグルタミン酸とO-ホスホエタノールアミンに注目した(図2)。

2) グルタミン酸添加によるセルレイン脾炎への影響

グルタミン酸は両脾炎モデルにおいて脾組織中での存在量が有意に減少していたことより(図2A, C), セルレイン脾炎モデルマウスにグ

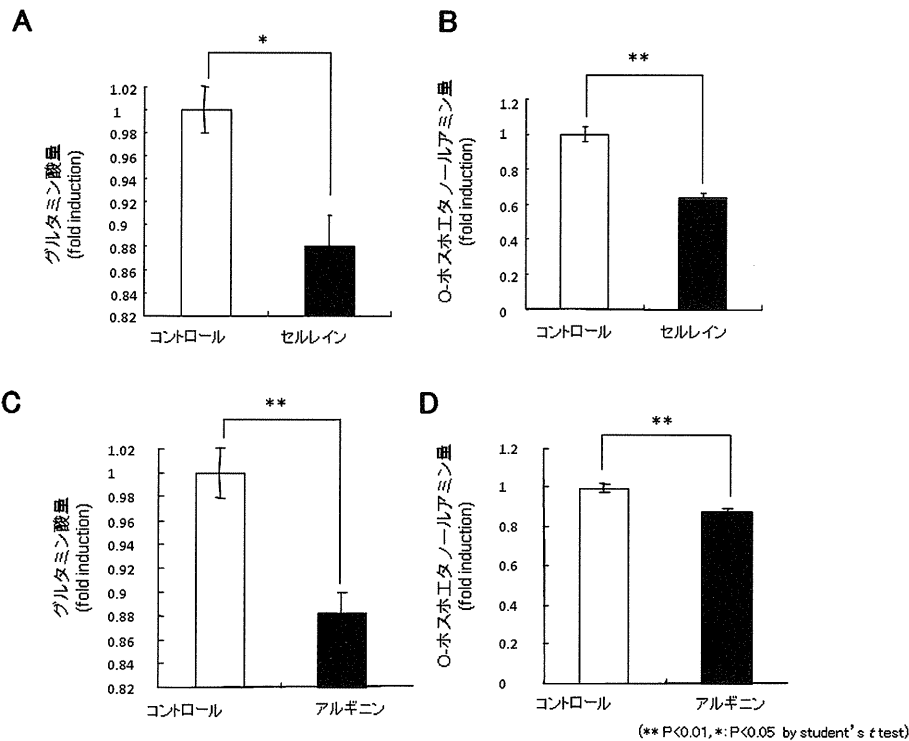


図 2

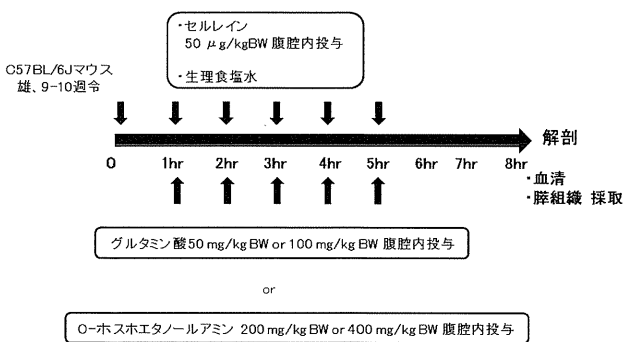


図 3

ルタミン酸を投与する実験を実施した。この結果、グルタミン酸投与により膵炎で上昇していた血清アミラーゼ値、膵組織の MPO 活性が低下し、病理組織学的にも膵炎の改善が確認できた(図 4)。よって、グルタミン酸投与により膵炎の改善効果が得られることが明らかになった。

### 3) O-ホスホエタノールアミン(PEA)添加によるセルレイン膵炎への影響

PEA も膵炎モデルにおいて膵組織中で存在量が有意に減少していたことから(図 2B, D)、セルレイン膵炎モデルマウスに PEA を投与する実験を実施した。この結果、グルタミン酸と同様に、PEA 投与により膵炎で上昇していた血清アミラーゼ値、膵組織の MPO 活性が低下し、病理組織学的にも膵炎の改善が確認で

きた(図 5)。よって、PEA 投与により膵炎の改善効果が得られることが明らかになった。

### D. 考察

メタボロミクスとは、内因性・外因性要因(酵素因子・病理学的因子・環境因子・生活スタイル)などを含めた、ある条件下での低分子代謝物の特徴や相互的關係を包括的、かつ、網羅的に探究する研究手法である。すなわち、メタボローム解析を実施することで細胞や組織の代謝過程について様々な情報を得ることができると考えられる。今回の研究結果では、急性膵炎が生じることによって代謝物プロファイルが変動することが明らかとなった。特に、エネルギー産生に関与する TCA 回路の中間代謝物は血清と膵組織とで変動パターンが異なり、急性膵炎におけるエネルギー代謝の変化を全身レベル、ならびに、細胞レベルで評価できた。したがって、メタボローム解析の手法を採用することで急性膵炎における代謝過程の全体的な展望をみることができると考える。

また、今回の研究では 2 つの膵炎モデルにおいて共通して変動する代謝物が観察され、膵炎特異的に変動する代謝物と考えられた。その中でも、膵組織中で有意に減少する代謝物とし

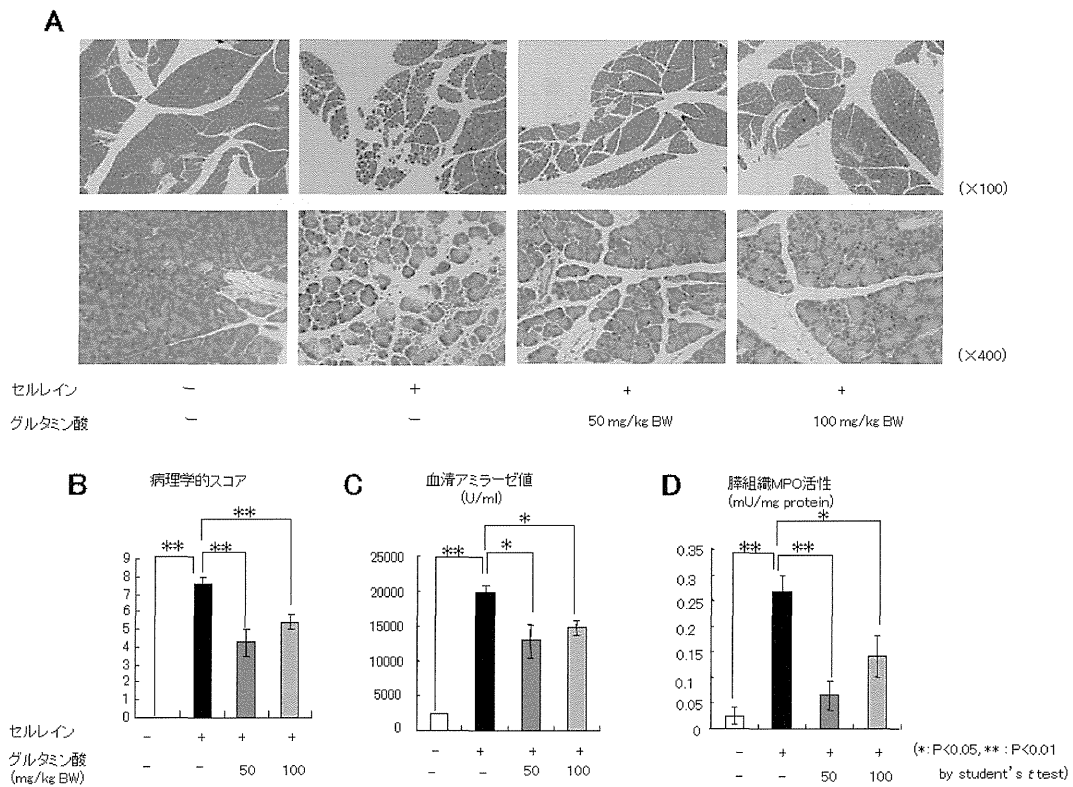


図 4

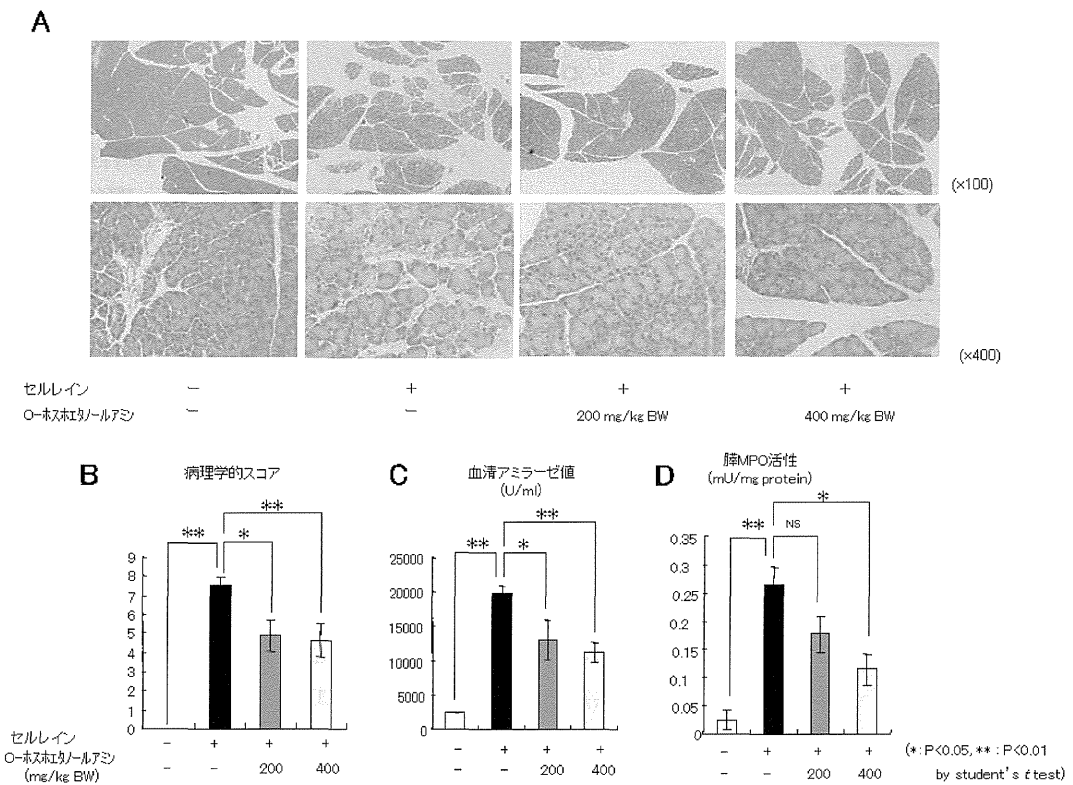


図 5

でグルタミン酸とO-ホスホエタノールアミン(PEA)が見出された。グルタミン酸はエネルギー産生過程における器質の一つである<sup>11)</sup>。急性膵炎では全身のエネルギー需要が増加す

る<sup>12,13)</sup>。また、膵腺房細胞内ではATP量が減少し、膵炎の経過中に生じる他の障害を受けやすくなると言われている<sup>14,15)</sup>。グルタミン酸を添加した実験では、グルタミン酸投与により膵

炎改善効果が得られることが示された。この効果はエネルギー産生が増加したことで、膵液中に分泌されるグルタミン酸も増加し、小腸での栄養吸収に効果的に作用したためと考えられる<sup>16)</sup>。

PEA は生体膜磷脂質の主な構成成分であるホスファチジルエタノールアミンの前駆体であり、PEA 存在下で細胞増殖する場合には、PEA を効果的に細胞内、続いて、リン脂質内に取り入れる<sup>17,18)</sup>。また、膵炎では膵腺房細胞膜の流動性が上昇し、細胞障害や脆弱性に関係していると言われている<sup>19)</sup>。今回、PEA を添加した実験では、PEA 投与により膵炎改善効果が得られた。この効果は、生体膜のリン脂質を合成する際の器質である PEA の増加によって細胞膜に効果的に影響を与えた可能性が考えられる。

## E. 結論

急性膵炎モデルマウスの血清と膵組織を用いてメタボローム解析を実施した結果、メタボロミクスは膵炎における代謝物の変動を反映できるということ、さらには、メタボロミクスにより急性膵炎に対して治療効果のある物質を探索できることが証明できた。これらの結果は、メタボロミクスを通じてこれまで明らかにされていない様々な病態やその治療に導くことができる可能性が示唆された。

## F. 参考文献

1. Frossard JL, Steer ML, Pascor CM. Acute pancreatitis, *Lancet*. 2008; 371: 143–152.
2. Bhatia M, Brady M, Shokuhi S, Christmas S, Neoptolemos JP, Slavin J. Inflammatory mediators in acute pancreatitis, *J Pathol*. 2000; 190: 117–125.
3. Hayashi T, Ishida Y, Kimura A, Iwakura Y, Mukaida N, Kondo T. IFN-gamma protects cerulein-induced acute pancreatitis by repressing NF-kappa B activation, *J Immunol*. 2007; 178: 7385–7394.
4. Oliver SG, Winson MK, Kell DB, Baganz F. Systematic functional analysis of the yeast ge-

nome, *Trends Biotechnol*. 1998; 16: 373–8.

5. Nambiar PR, Gupta RR, Misra V. An “Omics” based survey of human colon cancer, *Mutat Res*. 2010; 693: 3–18.
6. Yoshida M, Hatano N, Nishiumi S, Irino Y, Izumi Y, Takenawa T, Azuma T. Diagnosis of gastroenterological diseases by metabolome analysis using gas chromatography-mass spectrometry, *J Gastroenterol*. 2011; doi: 10.1007/s00535-011-0493-8.
7. Chinzei R, Masuda A, Nishiumi S, Nishida M, Onoyama M, Sanuki T, Fujita T, Moritoh S, Itoh T, Kutsumi H, Mizuno S, Azuma T, Yoshida M. Vitamin K3 attenuates cerulein-induced acute pancreatitis through inhibition of the autophagic pathway, *Pancreas*. 2011; 40: 84–94.
8. Dawra R, Sharif R, Phillips P, Dudeja V, Dhaukhandi D, Saluja AK. Development of a new mouse model of acute pancreatitis induced by administration of L-arginine, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007; 292: G1009–18.
9. Eşrefoğlu M, Gül M, Ates B, Batçioğlu K, Selimoğlu MA. Antioxidative effect of melatonin, ascorbic acid and N-acetylcysteine on caerulein-induced pancreatitis and associated liver injury in rats, *World J Gastroenterol*. 2006; 12: 259–264.
10. Tsugawa H, Bamba T, Shinohara M, Nishiumi S, Yoshida M, Fukusaki E. Practical non-targeted gas chromatography/mass spectrometry-based metabolomics platform for metabolic phenotype analysis, *J Biosci Bioeng*. 2011; 112: 292–298.
11. Plaitakis A, Zaganas I. Regulation of human glutamate dehydrogenases: implications for glutamate, ammonia and energy metabolism in brain, *J Neurosci Res*. 2001; 66: 899–908.
12. Dickerson RN, Vehe KL, Mullen JL, Feurer ID. Resting energy expenditure in patients with pancreatitis, *Crit Care Med*. 1991; 19: 484–490.
13. Ioannidis O, Lavrentieva A, Botsios D. Nutrition support in acute pancreatitis, *JOP*. 2008; 9:

375-390.

年 3 月 21-23 日

14. Halangk W, Matthias R, Schild L, Meyer F, Schulz HU, Lippert H. Effect of supramaximal cerulein stimulation on mitochondrial energy metabolism in rat pancreas. *Pancreas*. 1998; 16: 88-95.
15. Lüthen RE, Niederau C, Ferrell LD, Grendell JH. Energy metabolism in mouse pancreas in response to different dosages of a CCK analogue, *Pancreas*. 11 (1995) 141-146.
16. Newsholme P, Procopio J, Lima MM, Pithon-Curi TC, Curi R. Glutamine and glutamate — their central role in cell metabolism and function, *Cell Biochem Funct*. 2003; 21: 1-9.
17. Kano-Sueoka T, Errick JE. Effects of phosphoethanolamine and ethanolamine on growth of mammary carcinoma cells in culture, *Exp Cell Res*. 1981; 136: 137-145.
18. Durand S, Estival A, Vieu C, Clemente F, Douste-Blazy L. Lipid content of human and rat pancreas, *Pancreas*. 1987; 2: 326-332.
19. Wang ZH, Ohshio G, Okada N, Imamura T, Tanaka T, Kohmoto M, Yoshida M, Tanaka J, Arii S, Sasaoki T, Funaki N, Imamura M. Effects of cholecystokinin and carbachol on membrane fluidity in pancreatic acini, *Dig Dis Sci*. 1996; 41: 1511-1517.

#### 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

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Sakai A, Nishiumi S, Shiomi Y, Kobayashi T, Izumi Y, Kutsumi H, Hayakumo T, Azuma T, Yoshida M. Metabolomic analysis to discover candidate therapeutic agents against acute pancreatitis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2012; 522: 107-120.

##### 2. 学会発表

- 1) 坂井 文, 吉田 優, 小林 隆, 西海信, 増田充弘, 塩見英之, 有坂好史, 久津見弘, 早雲孝信, 東 健. メタボロミクスを用いた膵炎治療薬の探索. 第99回日本消化器病学会総会. 鹿児島. 2013

## 膵管内乳頭粘液性腫瘍(IPMN)に関する膵炎について

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

手塚康二, 渡邊利広, 菅原秀一郎, 平井一郎  
(山形大学医学部外科学第一講座)

### 【研究要旨】

膵管内乳頭粘液性腫瘍(Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm: IPMN)には、腫瘍により産生される粘液、膵管内で増殖した腫瘍による膵管閉塞により急性膵炎を合併することがある。IPMN 外科切除例における急性膵炎は、18% (15/84)に認められ、重症度判定では、85% (17/20)が軽症の急性膵炎であった。急性膵炎の合併の有無で、IPMN 悪性例の割合に統計学的有意差は認められなかった(47% vs. 38% ;  $p=0.518$ )。急性膵炎の有無と IPMN 良悪性により4群に分けた検討から、急性膵炎(+)IPMN 良性群と急性膵炎(+)IPMN 悪性群を比較した検討では主膵管径 $\geq 6$  mm の症例の割合は、急性膵炎(+)悪性群で有意に多かった(100% vs. 25% ;  $P=0.007$ )。IPMN の外科切除例における急性膵炎合併例では、急性膵炎非合併例と比べて非浸潤癌の割合が多く、浸潤癌の割合が少なかった。

### A. 研究目的

膵管内乳頭粘液性腫瘍(Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm: IPMN)には、腫瘍により産生される粘液、膵管内で増殖した膵管の閉塞により種々の程度の(急性、慢性)膵炎を合併することが知られている<sup>1-5)</sup>。今回、IPMN に合併する急性膵炎の臨床病理学的特徴を明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

1998年10月から2010年5月までに山形大学医学部附属病院で外科切除が施行された90症例のIPMNのうち、術前のCT, MRI どちらの画像も得られなかった6症例を除いた84症例を今回の検討対象とした。

急性膵炎の診断は、厚生労働省難治性膵疾患調査研究班の作成した急性膵炎の診断基準に従い1. 上腹部に急性腹痛発作と圧痛がある。2. 血中、尿中、腹水中などに膵酵素の上昇がある。3. 超音波、CT またはMRI で膵に急性膵炎に伴う異常所見がある。診療録上で、以上の3項目中2項目以上を満たし、他の膵疾患および急性腹症を除外したものを急性膵炎と診断し

た<sup>6)</sup>。重症度判定も同様に厚生労働省重症度判定基準に従って行った<sup>6)</sup>。膵癌取り扱い規約(第6版)に従い、非浸潤癌とIPMN 由来浸潤癌を悪性と定義した<sup>7)</sup>。

(検討項目)

1. IPMN 外科切除例における急性膵炎を合併する頻度と重症度
2. IPMN 急性膵炎合併群とIPMN 急性膵炎非合併群の悪性例の頻度の比較
3. IPMN 急性膵炎合併群とIPMN 急性膵炎非合併群における下記の項目の比較
  - 1) 年齢、性別、部位、肉眼型、主膵管径(mm)、拡張分枝径(mm)の比較
  - 2) 拡張分枝径を30 mm 以上と30 mm 未満に、主膵管径を6 mm 以上と6 mm 未満に、壁在結節の有無に分けて検討する。
  - 3) 腺腫、非浸潤癌、IPMN 由来浸潤癌に分けて、それぞれを両群間で比較する。
4. 急性膵炎(-)IPMN 良性群(n=44)、急性膵炎(-)IPMN 悪性群(n=26)、急性膵炎(+)IPMN 良性群(n=8)、急性膵炎(+)IPMN 悪性群(n=7)の4群間の比較検討。

- 1) 年齢, 性別, 部位, 肉眼型, 主膵管径 (mm), 拡張分枝径 (mm) の比較
- 2) 拡張分枝径を 30 mm 以上と 30 mm 未満に, 主膵管径を 6 mm 以上と 6 mm 未満に, 壁在結節の有無に分けて検討する.

(倫理面への配慮)

本研究は, 山形大学倫理委員会で承認されている。(承認番号:平成22年度127号).

### C. 研究結果

1. IPMN 外科切除例における急性膵炎の合併頻度は, 18% (15/85)であった. 急性膵炎の診断基準を満たしていることが確認できた15症例, 22回の急性膵炎のうち重症度判定が可能であったのは14症例, 20回分の急性膵炎であった. その内, 軽症は85% (17/20), 重症は15% (3/20)であった.
2. 急性膵炎を合併したIPMNの47% (7/15)に, 急性膵炎を合併しなかったIPMNの38% (26/69)に悪性例が認められた. 急性膵炎合併の有無でIPMNの悪性例の頻度に統計学的有意差は認められなかった ( $P = 0.518$ ) (表1).
3. IPMN急性膵炎合併群とIPMN急性膵炎非合併群の間の比較  
年齢, 性別, 部位, 肉眼型(分枝型, 主膵管型), 主膵管径 (mm), 拡張分枝径 (mm) に関して急性膵炎の合併の有無で有意差を認めた因子は存在しなかった (表 1). 拡張分枝径  $\geq 30$  mm, 主膵管径  $\geq 6$  mm, 壁在

結節を有する症例の割合に関しても, 有意差は認められなかった (表 2).

IPMN 急性膵炎合併例では, 腺腫が54% ( $n = 8$ ), 非浸潤癌が33% ( $n = 5$ ), 浸潤癌が13% ( $n = 2$ )で, IPMN 急性膵炎非合併例の腺腫62% ( $n = 43$ ), 非浸潤癌13% ( $n = 9$ ), 浸潤癌25% ( $n = 17$ )と比べて, 有意差はないものの非浸潤癌の割合が少なく, 浸潤癌の割合が多い傾向を認めた ( $p = 0.142$ ) (表 2). また, 急性膵炎合併群は非合併群と比べて若年傾向であった ( $63.5 \pm 11.9$  vs.  $67.7 \pm 9.1$ ;  $P = 0.266$ ) (表 1).

4. 急性膵炎(-)IPMN 良性群, 急性膵炎(-)IPMN 悪性群, 急性膵炎(+ )IPMN 良性群, 急性膵炎(+ )IPMN 悪性群の 4 群に分けた検討より (表 3)
  - 1) 嚢胞径  $\geq 30$  mm (89% vs. 61%;  $P = 0.017$ ), 壁在結節の存在 (62% vs. 14%;  $P < 0.001$ ) に関して, 急性膵炎(-)悪性群と急性膵炎(-)良性群では有意に悪性群が多かったが, 急性膵炎(+ )悪性群と急性

表 2 IPMN に合併する急性膵炎の臨床病理学的特徴

	急性膵炎有り (n=15)	急性膵炎無し (n=69)	P value
拡張分枝径 $\geq 30$ (mm)	10 (67%)	47 (68%)	0.913
主膵管径 $\geq 6$ (mm)	9 (60%)	36 (52%)	0.582
壁在結節	5 (33%)	22 (32%)	0.913
悪性	7 (47%)	26 (38%)	0.518
腺腫	8 (54%)	43 (62%)	0.142
非浸潤癌	5 (33%)	9 (13%)	
IPMN 由来浸潤癌	2 (13%)	17 (25%)	

表 1 IPMN に合併する急性膵炎の臨床的特徴

	急性膵炎有り (n=15)	急性膵炎無し (n=69)	P value
年齢	63.5 $\pm$ 11.9	67.7 $\pm$ 9.1	0.266
性別: 男性/女性	12/3 (83%/17%)	51/18 (74%/26%)	0.622
部位: 頭部/体部/尾部/全体	7/5/2/1 (47%/33%/13%/7%)	41/18/7/3 (59%/26%/10%/5%)	0.839
肉眼型: 主膵管型/分枝型	5/10 (33%/67%)	14/55 (20%/80%)	0.274
主膵管径 (mm)	8.0 $\pm$ 6.0	8.0 $\pm$ 8.2	0.902
拡張分枝径 (mm)	33.4 $\pm$ 13.6	37.0 $\pm$ 14.6	0.420
悪性	7 (47%)	26 (38%)	0.518



表3 IPMN 良悪性，急性膵炎の有無により分けた4群の臨床病理学的特徴

	急性膵炎(+)IPMN		急性膵炎(-)IPMN		P value
	悪性 (n=7)	良性 (n=8)	悪性 (n=26)	良性 (n=43)	
年齢	58.9±14.5	67.6±7.9	68.6±12.3	67.1±6.4	0.191
性別					
男性	5(71%)	7(88%)	21(81%)	30(70%)	0.614
女性	2(29%)	1(12%)	5(19%)	13(30%)	
部位					0.706
頭部	4(57%)	3(38%)	14(54%)	27(63%)	
体部	2(29%)	3(38%)	7(27%)	11(25%)	
尾部	1(14%)	1(12%)	2(8%)	5(12%)	
膵全体	0	1(12%)	3(11%)	0	
肉眼型					0.403
分枝型	4(57%)	6(75%)	19(73%)	36(84%)	
主膵管型	3(43%)	2(25%)	7(27%)	7(16%)	
拡張分枝径≥30 mm	5(71%)	5(63%)	23(89%)	25(61%)	0.067
主膵管径≥6 mm	7(100%)	2(25%)	21(73%)	17(40%)	<0.001
壁在結節	2(29%)	3(38%)	16(62%)	6(14%)	<0.001

膵炎(+)良性群の間で差は認められなかった(表3)。

- 2) 主膵管径≥6 mm の症例は，IPMN 急性膵炎(+)悪性群と IPMN 急性膵炎(+)良性群の間の比較において，IPMN 急性膵炎(+)悪性群で有意に多かった(100% vs. 25% ; P=0.007)(表3)。

#### D. 考察

今回の検討で IPMN と急性膵炎の合併率は18%で，諸家の報告における IPMN と急性膵炎の合併率13~35%<sup>1~5)</sup> とほぼ同様の結果であった。

急性膵炎の合併の有無と IPMN 悪性例の頻度に関して，急性膵炎合併群で悪性例が多いとする報告<sup>5)</sup>がある一方，急性膵炎の合併の有無で IPMN 悪性例の頻度に差が認められなかったという報告<sup>2)</sup>がある。今回の検討でも急性膵炎の合併の有無で悪性例の頻度に差は認められなかった。今後，さらに症例を集積し，このことに関して検討していく必要があると考えられた。急性膵炎(+)悪性群は急性膵炎(-)悪性群と比べ若年傾向であった。これは急性膵炎という症状を契機に IPMN が発見され手術が行われているため，症状を呈さず，隆起の出現など

ガイドラインにおける手術適応の基準<sup>8)</sup>を満たしてから手術が行われる症例よりも，より早い時期に手術が行われている可能性がある。この点に関して今後のさらなる検討が必要である。分枝型 IPMN が急性膵炎合併例で有意に多かったという報告があるが<sup>3)</sup> 今回の検討では，肉眼型で，急性膵炎合併群と非合併群の間に統計学的な有意差は認められなかった。肉眼型に関して，IPMN/MCN 国際診療ガイドライン2012年版<sup>9)</sup>に準じた肉眼分類で，再度検討を行う必要がある。

急性膵炎を合併した IPMN の良性群，悪性群の比較では，拡張分枝径≥30 mm，壁在結節の有無では両群間に明らかな差を認めなかったが，主膵管径≥6 mm の症例の割合は，悪性群で有意に多く(100% vs. 25% ; P=0.007)，急性膵炎を合併した IPMN の良悪性の鑑別には，主膵管径≥6 mm が有用である可能性が示唆される。

急性膵炎の合併の有無で，IPMN 悪性例の頻度に統計学的有意差は，認められなかった(47% vs. 38% , p=0.518)。また，急性膵炎合併群で，有意差は無いもの非浸潤癌の割合が多く，浸潤癌の割合が少なかった。このような結果は，当施設で手術を施行した急性膵炎症例は，

IPMN の自然史の中でも比較的早い段階で手術を施行されているか、非浸潤癌の割合が多い腸型<sup>10)</sup>などが急性膵炎合併例で多く含まれている可能性も考えられる。Tsutsumi ら<sup>5)</sup>は、急性膵炎を合併する IPMN では、有意に腸型が多かったと報告している。今後、これらの事項に関してさらなる検討が必要だろう。

近年、CT volumetry を活用して臓器体積や腫瘍体積を評価した報告が数多くなされている<sup>11~13)</sup>。今後は、IPMN の膵管内 volume と急性膵炎の関係について検討していく予定である。

## E. 結論

IPMN 外科切除例における急性膵炎を合併する頻度は18% (15/85) で、軽症例が多かった。急性膵炎合併の有無により IPMN の悪性例の頻度に有意差は認められなかった。急性膵炎合併群で、有意差は無いものの非浸潤癌の割合が多く、浸潤癌の割合が少なかった ( $p = 0.142$ )。急性膵炎を合併した IPMN の良性群、悪性群の比較では、主膵管径  $\geq 6$  mm の症例の割合は、悪性群で有意に多く (100% vs. 25%;  $P = 0.007$ )、急性膵炎を合併した IPMN の良悪性の鑑別には、主膵管径  $\geq 6$  mm が有用である可能性が示唆された。

(今後の検討課題)

IPMN の膵管内 volume と急性膵炎の関係など

## F. 参考文献

1. Kimura W, Sasahira N, Yoshikawa T, Muto T, Makuuchi M. Duct-ectatic type of mucin producing tumor of the pancreas—New concept of pancreatic neoplasia—. *Hepatogastroenterology* 1996. 43: 692–709.
2. Pelletier AL, Hammel P, Rebours V, Couvelard A, Vullierme MP, Maire F, Hentic O, Aubert A, Sauvanet A, Lévy P, Ruszniewski P. Acute pancreatitis in patients operated on for intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: frequency, severity, and clinicopathologic correlations. *Pancreas* 2010. 39 (5): 658–666.

3. Ringold DA, Shroff P, Sikka SK, Ylagan L, Jonnalagadda S, Early DS, Edmundowicz SA, Azar R. Pancreatitis is frequent among patients with side-branch intraductal papillary mucinous neoplasia diagnosed by EUS. *Gastrointest Endosc* 2009. 70: 488–494.
4. Salvia R, Crippa S, Partelli S, Armatura G, Malleo G, Painsi M, Pea A, Bassi C. Differences between main-duct and branch-duct intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *World J Gastrointest Surg* 2010; 27: 342–346.
5. Tsutsumi K, Ohtsuka T, Oda Y, Sadakari Y, Mori Y, Aishima S, Takahata S, Nakamura M, Mizumoto K, Tanaka M. A history of acute pancreatitis in intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas is a potential predictive factor for malignant papillary subtype. *Pancreatology* 2010; 10: 707–712.
6. 武田和憲, 大槻 眞, 北川元二, 他. 急性膵炎の診断基準・重症度判定基準最終改訂案. 厚生労働科学研究補助金難治性疾患克服研究事業難治性膵疾患に関する調査研究, 平成17年度総括・分担研究報告書 2006; 27–34.
7. 日本膵臓学会(編): 膵癌取り扱い規約, 第6版, 金原出版, 東京, 2009.
8. Tanaka M, Chari S, Adsay V, Fernandez-del Castillo C, Falconi M, Shimizu M, Yamaguchi K, Yamao K, Matsuno S; International Association of Pancreatology. International consensus guidelines for management of intraductal papillary mucinous neoplasms and mucinous cystic neoplasms of the pancreas. *Pancreatology* 2006; 6: 17–32.
9. Tanaka M, Fernández-del Castillo C, Adsay V, Chari S, Falconi M, Jang JY, Kimura W, Levy P, Pitman MB, Schmidt CM, Shimizu M, Wolfgang CL, Yamaguchi K, Yamao K; International Association of Pancreatology. International consensus guidelines 2012 for the management of IPMN and MCN of the pancreas. *Pancreatology* 2012; 12: 183–197.
10. Furukawa T, Hatori T, Fujita I, Yamamoto M, Kobayashi M, Ohike N, Morohoshi T, Egawa S,

Unno M, Takao S, Osako M, Yonezawa S, Mino-Kenudson M, Lauwers GY, Yamaguchi H, Ban S, Shimizu M. Prognostic relevance of morphological types of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Gut* 2011; 60: 509–516.

11. Henderson JM, Heymsfield SB, Horowitz J, Kutner MH. Measurement of liver and spleen volume by computed tomography. Assessment of reproducibility and changes found following a selective distal splenorenal shunt. *Radiology* 1981; 141: 525–527.
12. Kaneko J, Sugawara Y, Matsui Y, Ohkubo T, Makuuchi M: Normal splenic volume in adults by computed tomography. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 1726–1727.
13. Murayama S, Kimura W, Hirai I, Takasu N, Takeshita A, Moriya T. Volumetric and morphological analysis of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas using computed tomography and magnetic resonance imaging. *Pancreas* 2011; 40: 876–882.

## G. 研究発表

1. 論文発表 投稿予定
2. 学会発表
  - 1) 手塚康二, 木村 理, 平井一郎, 渡邊利広, 菅原秀一郎, 尾形貴史, 外田 慎.  
Intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN)に合併した急性膵炎に関する検討. 第44回 日本膵臓学会大会. 仙台.  
2013年7月25–26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

## 謝辞

膵管内乳頭粘液性腫瘍(IPMN)に関する膵炎についての調査研究に御協力を頂きました患者様ならびに先生方に深謝申し上げます。

## 急性膵炎発症と重症化の分子機序の解明

研究報告者 大村谷昌樹 熊本大学生命資源研究・支援センター技術開発分野 准教授

### 【研究要旨】

我々が樹立した膵分泌性トリプシンインヒビター(pancreatic secretory trypsin inhibitor; PSTI, 別名 Spink3)欠損マウスの膵腺房細胞で誘導されるオートファジー(自食作用)の役割を解析し、腺房細胞内トリプシン活性化、つまり、膵炎発症機構にオートファジーが重要な役割を担っていることを報告した。本研究課題では、オートファジーと急性膵炎発症との関連をさらに追求するため、カテプシンD及びp62欠損マウスの解析を行った。

### A. 研究目的

トリプシノーゲンの異所性(膵内)活性化(トリプシン生成)にひきつづいて生じる連鎖的な諸プロテアーゼの活性化によって、膵の構成細胞が自己消化されるに至るという機構が、急性膵炎の主要な発症機構と考えられている。しかしその発症機構や重症化機構についてはまだ不明な点が多く、より有効な治療を行うという観点から、これらの解明が求められている。筆者らは腺房細胞内におけるトリプシノーゲンの活性化にオートファジー(自食作用)が関与していることを報告してきた。オートファジー(autophagy)とは、リソソームを介して細胞が自己成分を食べる(分解する)システムである。オートファジーでは、まず隔離膜が細胞質中のタンパク質や細胞内小器官を囲い込み、オートファゴソームを形成する。その後、オートファゴソームはリソソームと融合し、カテプシンなどのリソソーム酵素によって、その内容物が分解される。つまり、急性膵炎の発症、重症化には、オートファジーの制御が重要である。

以前から腺房細胞内におけるトリプシノーゲンの活性化にリソソーム酵素であるカテプシンBがかかっているとされており<sup>1,2)</sup>、また近年、カテプシンLがトリプシノーゲンとトリプシン(活性型)の両者を不活化することが明らかになっている<sup>3,4)</sup>。

本研究課題では、カテプシンB及びL以外の主要なリソソーム酵素であるカテプシンDの急性膵炎の発症、重症化における役割を明らかにする。

また、p62, 別名 sequestosome 1 (SQSTM1)とはオートファジーの選択的基質であるが、p62によるオートファジーの制御については、ほとんど未解明である。そのため、本研究課題では、オートファジーの制御にp62がいかに関与しているのか、また急性膵炎惹起刺激を行った場合の重症度の違いを明らかにする。

### B. 研究方法

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては、熊本大学の規則にのっとり、動物実験計画書と遺伝子組換え生物等第二種使用等計画書を提出し、承認を得た後に行った。

平成23年度熊本大学動物実験計画の承認番号：C 23-261

課題名：Serine protease inhibitor Kazal type 3 (Spink3, 別名 Pancreatic secretory trypsin inhibitor: PSTI)の機能解析

平成24年度熊本大学動物実験計画の承認番号：C 24-265

課題名：Serine protease inhibitor Kazal type 3 (Spink3, 別名 Pancreatic secretory trypsin inhibitor: PSTI)の機能解析

平成25・26年度熊本大学動物実験計画の承認番号：B 25-146

課題名：Serine protease inhibitor Kazal type 3 (Spink3, 別名 Pancreatic secretory trypsin inhibitor: PSTI)の機能解析、

遺伝子組換え生物等第二種使用等計画の承認番号：20-053