

論文内容要旨

研究目的

重症急性膵炎における多臓器不全発症の機序はいまなお完全には解明されていないが、以前より腹水の存在が重症化に関連するという報告がみられていた。急性膵炎が遠隔臓器障害に進展する際の血管内皮と白血球の関与の *in vitro* における検討により膵炎の重症化因子が腹水中に存在することが示唆されている。そこで腹水移入モデルを用い、*in vivo* においても肺障害を中心とした多臓器不全形成を惹起する膵炎の重症化因子が腹水中に存在することを明らかにし、更に膵炎腹水中の重症化因子の分離、同定に迫ることを目的とする。

研究方法

まず *in vivo* においてラットに出血性壊死性膵炎を誘導後、腹水を採取し、可逆性の軽症膵炎モデルであるセルレイン膵炎を誘導したラットと正常ラットの腹腔内に腹水を注入することで、腹水的作用を生存率、組織所見、サイトカイン発現、転写因子 NF- κ B の活性化の有無、Myeloperoxidase assay, Evans blue assay にて検討した。次に、様々な遺伝子発現に中心的役割を果たす NF- κ B 活性化の阻害による治療的効果の有無を肺組織所見と生存率にて検討した。最後に急性膵炎における重症化因子を分離、同定する目的で、膵炎腹水を遠心濾過とゲル濾過による分子量毎の粗分画、ハイドロキシアパタイト・クロマトグラフィー、固相抽出等の方法を用いて分離、抽出を試み、*in vitro* において単球系細胞である THP-1 細胞に対する IL-8 産生誘導能を指標に重症化因子の候補の絞りこみを行った。

研究結果

膵炎腹水の腹腔内投与は用量依存的にラットの生存率を低下させ、腹水注入6時間後より組織学的に腹水注入群の肺において肺胞壁の肥厚、微小血管の破綻、出血、炎症性細胞の浸潤が出現した。腹水注入12時間後に肺組織所見は最も顕著となり、腹水注入群の12時間後の肺において NF- κ B の活性化と TNF- α , IL-1 β mRNA の発現増強が認められた。腹水注入群の12, 24時間後の肺における Myeloperoxidase 活性値, Permeability Index は生食注入群に比較して有意に高値を示した。また NF- κ B 活性化の阻害により肺組織所見と生存率の改善を認め、重症急性膵炎における肺障害の進展の機序において NF- κ B の活性化を介した膵炎腹水中因子の作用の重要性が示唆された。重症化因子の分離、同定の試みでは、現在のところ膵炎の重症化因子の確定には至っていないが、分子量毎の粗分画による検討では、IL-8 産生誘導能の点で分子量

50～100kDa の物質が有力な候補と考えられ、脂質や疎水性ペプチドの関与の可能性は低いと考えられた。更に生存率の検討において6時間後腹水注入群の生存率が18時間後腹水注入群の生存率より緩徐に低下し、肺組織障害も18時間後腹水注入群に比べ6時間後腹水注入群では軽度であったことより遠隔臓器障害を誘導し生存率を左右する重症化因子は単一のものでなく、いくつかの因子が相互に関連しあって、生存率を低下させる可能性が考えられた。

結 論

ラット重症急性膵炎モデルの腹水を用いて、膵炎腹水が重症急性膵炎における肺障害を中心とした多臓器不全への進展の機序に少なくとも部分的にはNF- κ Bの活性化を介して重要な役割を果たすことがin vitro及びin vivoの両方において示された。更にNF- κ B阻害剤の重症急性膵炎における多臓器不全に対する治療的効果が示された。

研究の意義・独創的な点

急性膵炎には高率に致死経過をたどる呼吸不全や肝不全、腎不全などの重篤な合併症を続発する重症急性膵炎が存在するが、急性膵炎における多臓器不全発症の機序はいまなお完全には解明されていない。本研究により膵炎腹水が重症急性膵炎における肺障害を中心とした多臓器不全への進展の機序に、NF- κ Bの活性化を介して重要な役割を果たすことがin vivoにおいて示された。更にNF- κ B活性化の抑制により重症急性膵炎における肺障害を軽減させ、生存率を改善させる可能性が考えられた。本研究で用いた膵炎腹水の移入モデルは比較的非侵襲的で再現しやすいモデルであり、重症急性膵炎における肺障害を初めとした多臓器不全の機序解明に有用であると考えられた。本移入モデルを用いることにより重症急性膵炎における多臓器不全誘導因子の同定が容易となり、急性膵炎の重症化機序の全容解明に繋がる可能性があると考えられる。

審査結果の要旨

重症急性膵炎における多臓器不全発症の機序はいままお完全には解明されていないが、本研究により少なくとも膵炎の重症化因子が腹水中に存在することが示され、急性膵炎の重症化機序解明に繋がる結果であると考えられた。本研究は腹水移入モデルを用いた *in vivo* における検討で、多臓器不全形成を惹起する膵炎の重症化因子が腹水中に存在することを明らかにするとともに膵炎腹水中の重症化因子の同定にも迫っている。生存率の検討において6時間後腹水注入群の生存率が18時間後腹水注入群の生存率より緩徐に低下し、肺組織障害も18時間後腹水注入群に比べ6時間後腹水注入群では軽度であったことより遠隔臓器障害を誘導し生存率を左右する重症化因子は単一のものでなく、いくつかの因子が相互に関連しあって、生存率を低下させる可能性があるというのは非常に興味深い結果である。更に腹水注入群の肺において様々な遺伝子発現に中心的役割を果たす転写因子 NF- κ B の活性化とその阻害により肺組織所見と生存率の改善を認め、重症急性膵炎における肺障害の進展の機序において NF- κ B の活性化を介した膵炎腹水中因子の重要性が示されている。これは急性膵炎の重症化機序に NF- κ B が中心的役割を果たすとする初めての報告である。膵炎腹水を数種類の方法を用いた分離、抽出物質による *in vitro* における IL-8 産生誘導能を指標にした重症化因子の同定の検討も現在まで同様のアプローチによる検討はほとんどなく、非常に興味深い。現在のところ膵炎の重症化因子の同定には至っていないようだが、分子量毎の粗分画による検討で、IL-8 産生誘導能の点で分子量 50~100kDa の物質が有力な候補であるというのは因子の同定へのアプローチの中で大きな第一歩であり、今後の検討に大きな試金石となると考えられた。本研究により膵炎腹水が重症急性膵炎における肺障害を中心とした多臓器不全への進展の機序に少なくとも部分的には NF- κ B の活性化を介して重要な役割を果たすことが *in vitro* 及び *in vivo* の両方において示されたことになる。更に NF- κ B 阻害剤の重症急性膵炎における多臓器不全に対する治療的効果が示されており、機序解明の点だけでなく直接臨床応用に繋がる可能性が高く、意義深い研究である。今後の臨床応用が強く望まれる。本研究で用いた膵炎腹水の移入モデルは比較的非侵襲的で再現しやすいモデルであり、重症急性膵炎における多臓器不全の機序解明に有用である点も評価できる。本移入モデルを用いることにより重症急性膵炎における多臓器不全誘導因子の同定が容易となり、急性膵炎の重症化機序の全容解明に繋がる可能性がある。以上、本研究は急性膵炎腹水の重症化、病態の変化における青玉、赤玉説に決着を迫るインパクトの高い研究であり、膨大なデータを整然とまとめた力作であり、学位に値すると考えられた。