

ラット急性膵炎モデルにおける血清サイトカイン及び膵でのサイトカイン mRNA の発現

— FR167653による抑制効果の検討 —

林 次郎

ラット重症急性膵炎モデルを作成し、IL-1及びTNF合成阻害剤 (FR167653) の投与による血清中のサイトカインの変化と膵臓でのmRNAの発現を検討した。Wister系ラットを使用し次の3群を作成。1) sham群, 2) CDL (closed duodenal loop) 群: 十二指腸内にポリ塩化ビニルチューブを結紮固定して作製した急性膵炎群, 3) CDL + FR群: 急性膵炎群作製後よりFR167653 1.5 mg/kgを生理食塩水 0.2 mlに溶解させ15分毎に4回皮下投与した群。1群6匹とし, 2, 4, 6時間後にそれぞれ犠牲死させ血液, 膵を採取し, IL-1 β , IL-6, IL-10の血清濃度と膵臓でのIL-1 β mRNA, IL-10 mRNAの発現を検討した。1) 血清アミラーゼ及びリパーゼ濃度はCDL + FR群でCDL群に比し2, 4hでやや低値を示した。しかし, その効果は6hで消失した。2) 血清IL-1 β 濃度はCDL群で上昇を認めた。CDL + FR群では上昇が抑制された。3) 血清IL-6濃度はCDL群, CDL + FR群共に上昇を認めたが, CDL + FR群ではCDL群に比し有意に低値を示した。4) 血清IL-10濃度はCDL群, CDL + FR群共に上昇を認めた。CDL + FR群ではやや低値を示した。5) 膵臓でのIL-1 β mRNAの発現はCDL群, CDL + FR群共に上昇を認めた。時間経過と共に低下傾向を示したがCDL + FR群がより著明であった。6) 膵臓でのIL-10 mRNAの発現はCDL群, CDL + FR群共に上昇を認めた。2h値はCDL + FR群が高く, 両群とも時間経過と共に低下傾向を示したがCDL + FR群がより著明であった。7) 組織学的にはCDL + FR群で膵障害が軽度であった。

FR167653の投与により膵でのIL-1 β mRNAは抑制される傾向にあり, 血中IL-1 β の産生が抑制された。IL-10はmRNAの抑制が血清濃度を低下させることに直結しなかった。しかしながら, FR167653の投与による炎症性サイトカインの抑制により膵組織障害は軽減され, 膵炎治療に応用できる可能性が示唆された。 (平成16年10月12日受理)

Control of Serum Cytokines and IL-1 β , IL-10 mRNA in the Pancreas with an Acute Pancreatitis Model in Rats. — Effect of FR167653 —

Jiro HAYASHI

Acute pancreatitis is characterized by cytokine storms, which cause systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and multiple organ failure (MOF) clinically. The effectiveness of

FR167653 (FR), an inhibitor of IL-1 and TNF, for the control of cytokine storms was investigated in an acute pancreatitis model in rats.

Acute pancreatitis was induced in rats with a closed duodenal loop model (CDL). Serum amylase and lipase concentrations, serum IL-1 β , IL-6 and IL-10 concentrations, and IL-1 β , IL-10 mRNA expression in the pancreatic tissue were evaluated in a CDL group (n = 6), an FR treatment (CDL + FR) group (n = 6) and a sham group (n = 6). To determine the outcome regarding the control of cytokine storms, histological findings at 2, 4 and 6h after induction of acute pancreatitis were investigated. 1) The CDL + FR group showed lower serum amylase and lipase concentrations 2 and 4h after the induction of acute pancreatitis. 2) The CDL + FR group showed a lower serum IL-1 β concentration 6h after the induction of acute pancreatitis. 3) The CDL + FR group showed a lower serum IL-6 concentration 2 and 4h after the induction of acute pancreatitis. 4) A rise in serum IL-10 concentrations was observed in the CDL group and the CDL + FR group, but it was a little lower than in the CDL + FR group. 5) There was also a rise in the expression of IL-1 β mRNA in the pancreas in both the CDL group and the CDL + FR group. This decreased faster in the CDL + FR group as time passed. 6) The expression of IL-10 mRNA in the pancreas rose in both the CDL group and the CDL + FR group, but it was higher in the CDL + FR group 2h after the induction of acute pancreatitis. Expression in the CDL + FR group decreased faster as time passed. 7) Less histological damage (vacuolization and necrosis) was observed in the pancreas in the CDL + FR group. These results suggested that FR167653 reduces the production of inflammatory cytokines and inhibits the development of a severe cytokine storm and pancreatitis.

(Accepted on October 12, 2004) *Kawasaki Igakkaishi* 30(2): 99-109, 2004

Key Words ① Acute pancreatitis in rats ② Closed duodenal loop
③ Cytokine ④ mRNA ⑤ FR167653

はじめに

膵炎には軽症例から、サイトカイン反応の結果全身に炎症反応が広がり重要臓器障害に至る重症急性膵炎まで様々な段階がみられる。最初に産生される Interleukin-1 (IL-1) と tumor necrosis factor- α (TNF- α) 等の炎症性サイトカインの過剰産生がマクロファージや好中球の遊走、活性化に関与し、重症化への重要な因子とされている。また、IL-6は TNF- α , IL-1に続いて上昇し、炎症優位状態を表すと考えられる。

一方で、抗炎症性サイトカイン・IL-10はマクロファージでの IL-1, TNF- α 等の炎症性サイトカインの産生を抑制する。

IL-1及びTNF合成阻害剤である、FR167653は炎症刺激で活性化する p38 MAP kinaseを阻害し、IL-1及びTNFの産生を抑制することが報告されており¹⁾、いわゆるサイトカインストームを抑制することが期待されている。しかし、膵炎モデルにおいて、FR167653が膵での炎症性サイトカイン mRNAの発現を抑制し、その結果サイトカインストームを阻止し、膵炎の重症化を抑制しうるか否かを観察した報告はない。

本実験では、ラットの重症急性膵炎モデルを作製し急性膵炎時のサイトカインの変動と膵障害について観察し、FR167653投与による膵組織での IL-1 β 及び IL-10の mRNAの発現及び末梢血での炎症性サイトカイン (IL-1 β , IL-6)の抑制効果を観察し、急性膵炎における

FR167653 の治療効果について検討した。

材料と方法

本実験は川崎医科大学動物実験研究委員会の承認を受け (No.03-099, 2003年), 川崎医科大学動物実験指針に基づいて行われた。

1. 使用動物

体重 230~250 g の雄性 Wister 系ラットを 18 時間の絶食後に使用した。

2. 実験群

54匹を Nenbutal (30 mg/kg) の腹腔内投与により全身麻酔を行い, 以下の 3 群に分け実験を行った (1 群 6 匹)。

① Sham 群: 開腹操作のみを行った群。

② CDL (closed duodenal loop) 群: 上腹部正中切開にて開腹し, 胃に小切開を加え, 十二指腸ループ内に長さ 2.5 cm 内径 3 mm の塩化ビニルチューブを挿入し, 十二指腸を総胆管の上下で結紮固定した後, 胃小切開部を縫合閉鎖し閉腹した群 (Fig. 1)。

③ CDL + FR 群: CDL 群と同様の処置後, 閉腹と同時に FR167653 (1.5 mg/kg) を 15 分毎に 4 回皮下注射した群。

それぞれの群を 2, 4, 6 時間後に犠牲死させ, 再開腹し, 下大静脈より採血し 3000 g 回転/5 分間遠心分離処理し血清を採取した。速やかに膵組織を直ちに採取しホルマリン固定切片と, 一部を凍結 (-80°C) 切片として保存した。

FR167653 (Fujisawa Pharm. Co., Ltd., Osaka, Japan) は低分子 pyrazolotriazine 誘導体 ($C_{24}H_{18}FN_5O_2 - H_2SO_4 - H_2O$) で構造式を

Figure 2 に示し, 分子量は 543 であった。

3. 生化学的検査

① 血清アミラーゼ, リパーゼ濃度: 酵素法にて測定した。

② 血清 IL-1 β , IL-6, IL-10: ELISA kit (ENDOGEN, Mas, USA) を用いて測定した。

4. 膵における IL-1 β , IL-10 mRNA の発現 (RT-PCR 法): 凍結組織を粉碎し ISOGEN 液 (Nippongene, Tokyo, Japan) を加えホモジネートし, Tomita ら²⁾ の変法を用いて mRNA を抽出。分光光度計を用い濃度調整後 Advantage RT-for PCR Kit (Clontech, CA, USA) を用いて total cDNA を作成した。これより IL-1 β ,

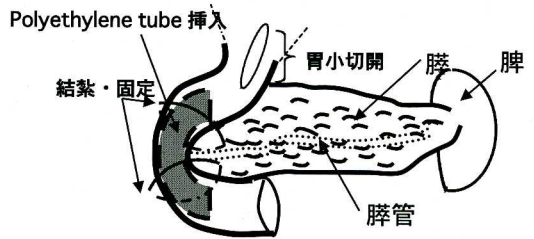


Fig. 1. closed duodenal loop (CDL) モデル作成法

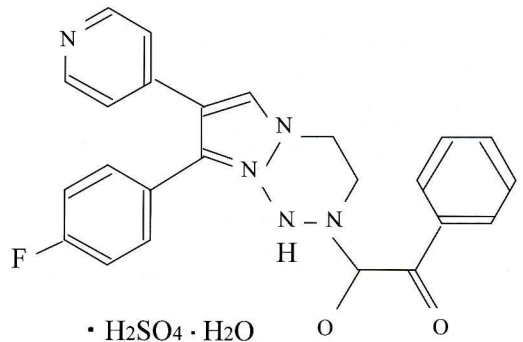


Fig. 2. FR167653 の構造式

Table 1. PCR 用プライマー (IL-1 β , IL-10 mRNA 及び GAPDH,)

	Sense primer	Antisense primer
IL-1 β	5'-GAC AGG CAA CCA CTT ACC-3'	5'-CCC ATA CAC ACG GAC AAC-3'
IL-10	5'-CGA AAG CTG TAG CCA GTT-3'	5'-AAT ACG CCA TTC CCA AGA-3'
GAPDH	5'-AGG ACC AGG TTG TCT CCT-3'	5'-AGG GAG ATG CTC AGT GTT-3'

IL-10, 及び GAPDH の mRNA を得るため, プライマー (Table 1) を用いて PCR を行った. 最終産物は 2% アガロースゲル上で電気泳動後, エチジウムブロマイドにて染色した. その発現量は Luminous Imager Ver.2.0 デジタルイメージ解析ソフト (アイシンコスモス社, 愛知県, 日本) を用いて測定した. IL-1 β , IL-10 mRNA の発現を内因性コントロールである GAPDH mRNA の発現との比をだすこにより半定量を行った.

5. 膵組織像

手術後 2, 4, 6 時間で犠牲死させた後, 直ちに開腹し膵組織を採取し, ホルマリン固定後にパラフィン包埋切片を作成した. ヘマトキシリン・エオジン染色を行い光学顕微鏡にて観察し, Niederau らの変法³⁾ で edema, vacuolization 及び necrosis の変化の度合いを 0: no change ~ 4: maximal change の 5 段階に評価しスコア化した.

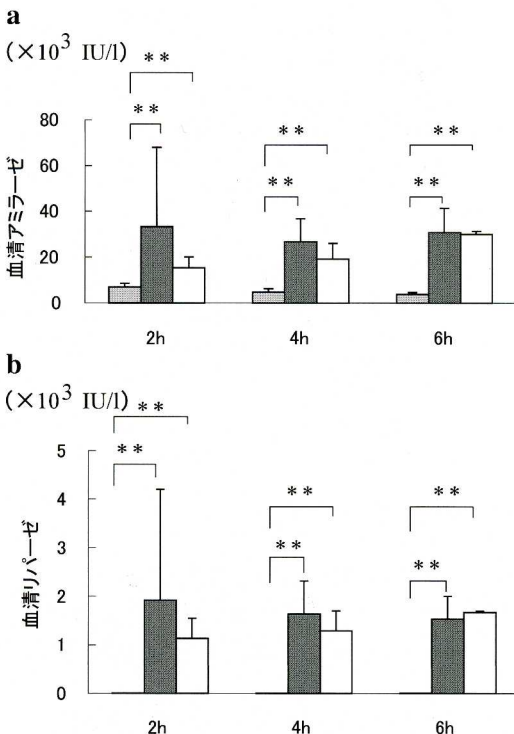


Fig. 3. 血清アミラーゼ (a) 及びリパーゼ濃度 (b)
 ■ sham 群, ■ CDL 群, □ CDL + FR 群
 h : hours, ** : p < 0.01

6. 統計処理

各群間の比較は Mann-Whitney U test で行い, p 値 0.05 以下で有意差ありとした.

結 果

1. 血清アミラーゼ及びリパーゼ濃度はいずれ

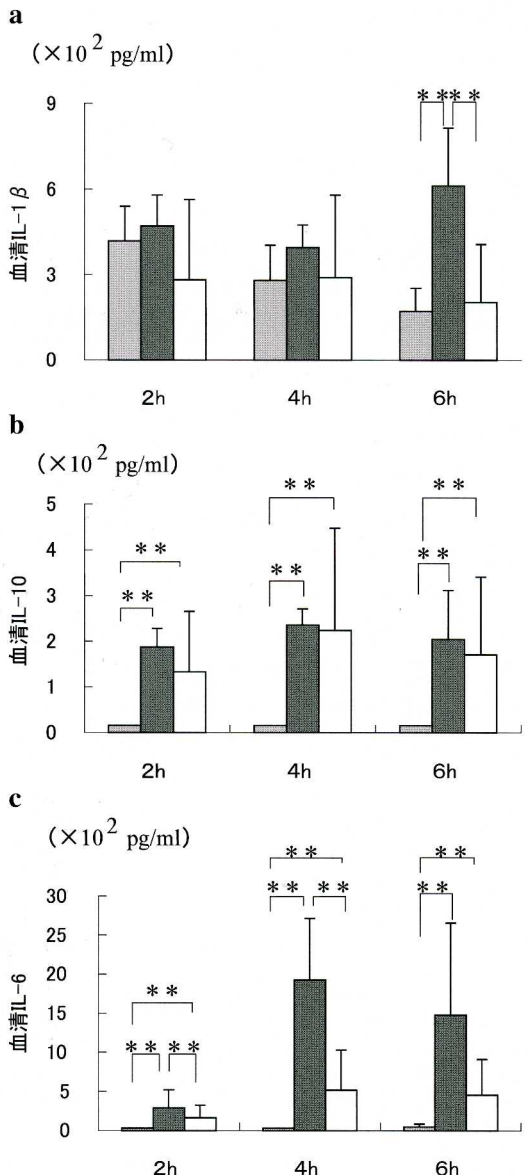


Fig. 4. 血清 IL-1 β (a), IL-10 (b) 及び IL-6 (c) 濃度.
 ■ sham 群, ■ CDL 群, □ CDL + FR 群
 h : hours, ** : p < 0.01

も sham 群に比し CDL 群及び CDL + FR 群で有意に高かった。CDL + FR 群は CDL 群に比し 2, 4 h で有意差はないものの低値を示した。しかし、その効果は 6 h で消失した (アミラーゼ, sham 群: 2 h 6893.33 ± 1652.11 IU/l, 4 h 4721.67 ± 1458.60 IU/l, 6 h 3755.00 ± 841.82 IU/l, CDL 群: 2 h 33262.00 ± 34651.33 IU/l, 4 h 26714.00 ± 10115.92 IU/l, 6 h 30705.00 ± 10781.03 IU/l, CDL + FR 群: 2 h 132.5 ± 64.38 IU/l, 4 h 224.00 ± 79.30 IU/l, 6 h 170.75 ± 56.10 IU/l, リパーゼ, sham 群: 2 h 6.67 ± 0.47 IU/l, 4 h 6.67 ± 1.70 IU/l, 6 h 7.17 ± 1.07 IU/l, CDL 群: 2 h 187.56 ± 40.00 IU/l, 4 h 235 ± 21.00 IU/l, 6 h 204.25 ± 107.75 IU/l, CDL + FR 群: 2 h 132.5 ± 64.38 IU/l, 4 h 224.00 ± 79.30 IU/l, 6 h 170.75 ± 56.10 IU/l) (Fig. 3a, b).

2. 血清 IL-1 β 濃度は 3 群とも 2 h から上昇した。CDL 群は 6 h で sham 群, CDL + FR 群に比して有意に高かった。CDL + FR 群は CDL 群に比しいずれも低値を示し 6 h では有意差を示した (6 h : sham 群 172.88 ± 79.36 pg/ml, CDL 群 612.42 ± 202.36 pg/ml, CDL + FR 群 203.48 ± 89.25 pg/ml) (Fig. 4a).

3. 血清 IL-10 濃度は 2 h から sham 群に比し CDL, CDL + FR 群で有意に高い値を示した。CDL + FR 群は CDL 群に比し 2 h, 6 h でわずかに低い値を示した (sham 群: 2 h, 4 h, 6 h < 16 pg/ml, CDL 群: 2 h 187.56 ± 40.30 pg/ml, 4 h 235 ± 21 pg/ml, 6 h 204.25 ± 107.75 pg/ml, CDL + FR 群: 2 h 15367.40 ± 4644.04 pg/ml, 4 h 19252.40 ± 6859.78 pg/ml, 6 h 30087.40

± 1298.61 pg/ml) (Fig. 4b).

4. 血清 IL-6 濃度は, CDL 群で 2 h, 4 h, 6 h に有意に上昇し, FR167653 はこれを抑制し, 特に 2 h, 4 h では有意差を示した (sham 群: 2 h 4 h < 31.2 pg/ml, 6 h 47.24 ± 36.31 pg/ml, CDL 群: 2 h 290.39 ± 231.60 pg/ml, 4 h 1923.72 ± 790.39 pg/ml, 6 h 1477.59 ± 1178.98 pg/ml, CDL + FR 群: 2 h 162.56 ± 146.25 pg/ml, 4 h 515.99 ± 89.41 pg/ml, 6 h 454.69 ± 280.36 pg/ml) (Fig. 4c).

5. 膵での 4 h の IL-1 β mRNA の発現を Figure 5a に示した。上段に IL-1 β mRNA を, 下段に内因性コントロールである GAPDH を示した。また, 2, 4, 6 h の IL-1 β mRNA の発現量を Figure 5b に示した。CDL 群, CDL + FR 群が 2 h で sham 群に比し有意に高い値を示した (2 h : sham 群 64.01 ± 26.42 g/ml, CDL 群 109.65 ± 26.56 pg/ml, CDL + FR

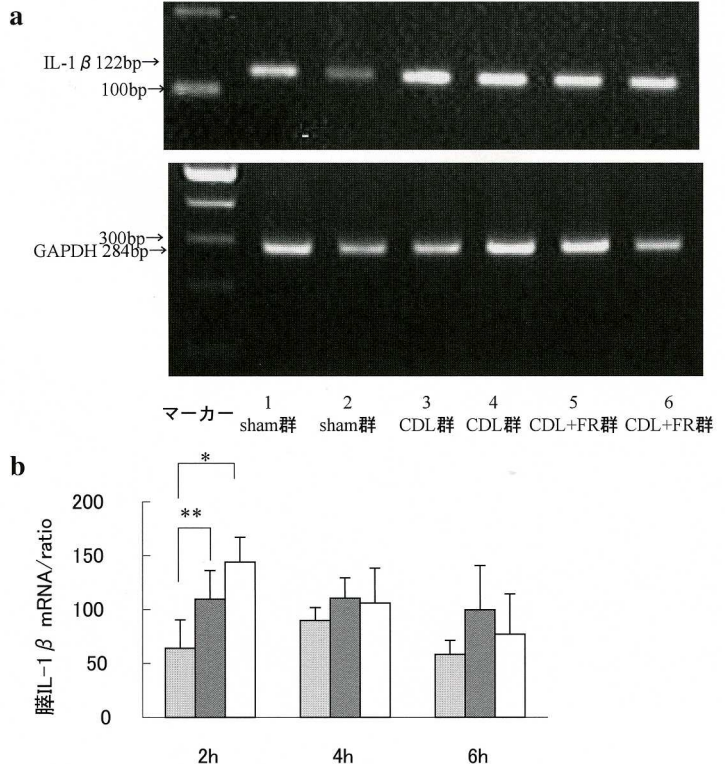


Fig. 5. RT-PCR による IL-1 β mRNA の発現 (a) と半定量結果 (b)
 □ sham 群, ■ CDL 群, ▨ CDL + FR 群
 h : hours, * : p < 0.05, ** : p < 0.01

群 143.84 ± 23.28 pg/ml). 時間経過と共にいずれも低下傾向を示したが, CDL + FR群の低下傾向がより顕著であった.

6. 脾での 4h の IL-10 mRNA の発現を **Figure 6a** に示した. 上段に IL-10 mRNA を, 下段に内因性コントロールである GAPDH を

示した. また, 2, 4, 6 h の IL-10 mRNA の発現量を **Figure 6b** に示した. 2 h で sham 群に比し CDL 群及び CDL + FR 群で有意に高く, CDL + FR 群は CDL 群に比し有意に高い値を示した (2 h : sham 群 10.00 ± 1.12 , CDL 群 25.58 ± 3.70 , CDL + FR 群 37.54 ± 2.15).

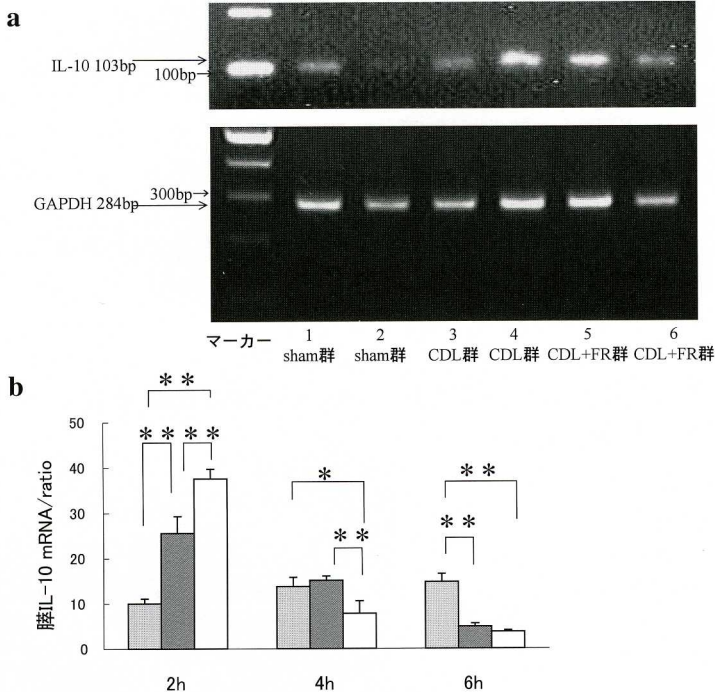
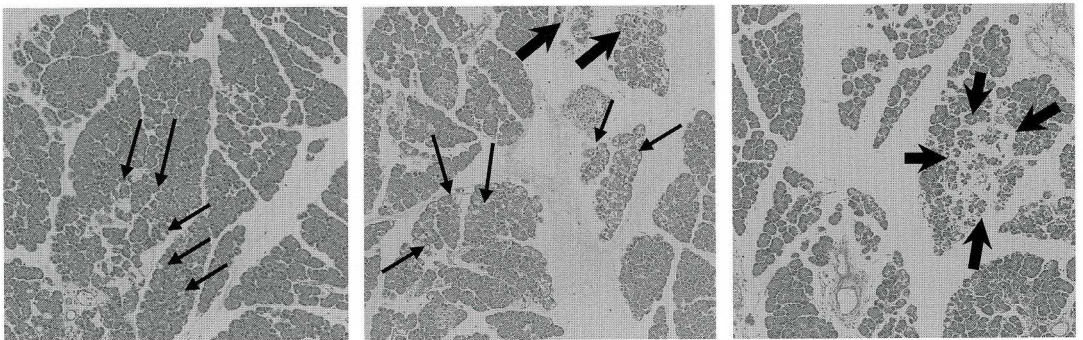


Fig. 6. RT-PCR による IL-10 mRNA の発現 (a) と半定量結果 (b)
□ sham 群, ■ CDL 群, □ CDL + FR 群
h : hours, * : p<0.05, ** : p<0.01



A **B** **C**

Fig. 7. CDL 群の組織変化
CDL 作成後 A.2h B.4h C.6h (H-E 染色, ×100.) : ↑ 空胞化変性, ↑ 壊死
h : hours

4 h, 6 hではCDL群, CDL + FR群ともに著明に減少し, 特に4 hではCDL + FR群はCDL群に比し有意に低値であった(4 h: sham群 13.74 ± 2.06 , CDL群 15.09 ± 0.94 , CDL + FR群 7.80 ± 2.76 , 6 h: sham群 14.79 ± 1.72 , CDL群 4.58 ± 0.66 , CDL + FR群 3.76 ± 0.28)。7. **Figure 7**にCDL群, **Figure 8**にCDL + FR群のヘマトキシリンエオジン染色標本を示し, **Table 2**にNiederauらの方法に準じたスコアを示した。CDL + FR群はCDL群に比し細胞間浮腫は同程度認めるものの, 腺房細胞の空包化変性は4 hで, 壊死は2, 4 hでそれぞれ有意に軽度であった。

考 察

急性膵炎では膵炎局所に浸潤した好中球, マクロファージがpro-inflammatory cytokine (TNF, IL-1)を産生しさらにIL-6, IL-8を誘導し高サイトカイン血症となる。この状態がsystemic inflammatory response syndrome (SIRS)である。SIRSにより遠隔臓器で好中球の集積が起こる。特に, IL-6はTNF- α , IL-1に続いて上昇し, 急性膵炎において重症度や予後と関連するとされている。^{4)~8)}

一方で, 生体防御機構が働き, 抗炎症性サイトカイン(IL-10, IL-4, IL-13)等が働きSIRSの

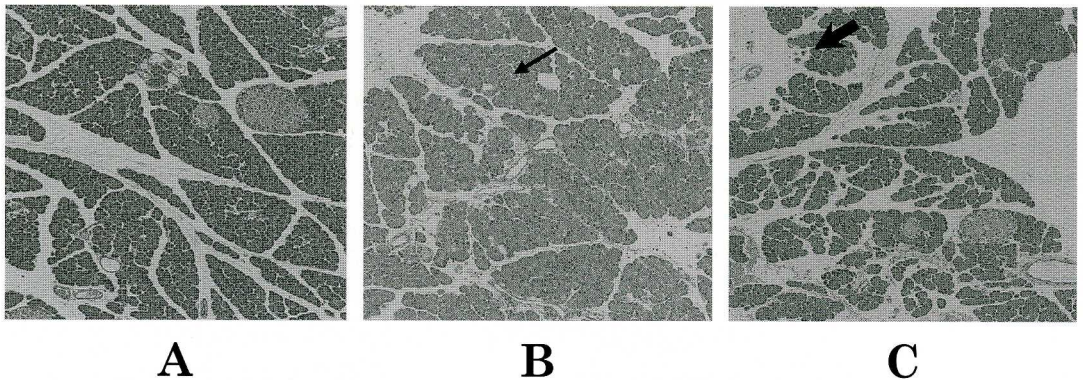


Fig. 8. CDL + FR群の組織変化

CDL作成後 A.2h B.4h C.6h (H-E染色, $\times 100.$) : \uparrow 空胞化変性, \blacktriangleright 壊死
h: hours

Table 2. 膵組織学的変化の検討

group	time	edema	vacuolization	necrosis
sham	2h	0	0	0
	4h	0	0	0
	6h	0	0	0
CDL	2h	$2.00 \pm 0.82 *$	$1.83 \pm 0.90 *$	$1.00 \pm 0.82 *$
	4h	$2.30 \pm 0.92 *$	$2.33 \pm 0.94 *$	$1.33 \pm 0.47 *$
	6h	$2.50 \pm 0.96 *$	$2.17 \pm 0.90 *$	$1.33 \pm 0.47 *$
CDL+FR	2h	$1.67 \pm 0.47 *$	0.67 ± 1.11	$0.33 \pm 0.75 * * *$
	4h	$1.50 \pm 0.50 *$	$0.5 \pm 0.76 * *$	$0.17 \pm 0.32 * * *$
	6h	$2.17 \pm 0.37 *$	$1.17 \pm 0.90 *$	0.33 ± 0.75

* $p < 0.01$ vs sham

** $p < 0.05$ vs CDL

*** $p < 0.01$ vs CDL

状態を抑制する。この状態を compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) と称している⁹⁾。CARS に対し感染や炎症状態の持続 (second attack) が起こると遠隔臓器で活性化した好中球よりスーパーオキシドや中性プロテアーゼが放出され臓器内皮細胞が破壊され multiple organ failure (MOF) へと進展すると推測される¹⁰⁾。

急性膵炎モデルとしてはセルレイン筋注によるもの¹¹⁾、タウロコール酸膵管内注入によるもの¹²⁾、closed duodenal loop 膵炎¹³⁾など種々の方法が用いられている。浮腫性膵炎の実験モデルとしてはセルレイン筋注による rat caerulein model があるが重症化せず、浮腫性変化のみにとどまる。デオキシタウロコール酸等の膵管内注入による壊死性膵炎 model は麻酔下に開腹したラットで、総胆管の肝臓側を結紮後、胆膵管内にタウロコール酸を一定速度、圧力により注入することにより重症膵炎を起こす。一方、closed duodenal loop 膵炎 model は膵管内圧の上昇、膵十二指腸液及び胆汁の逆流により早期に壊死性膵炎を起こし、ヒト膵炎と近似した組織所見を呈する重症膵炎モデルとして頻用される。

著者は膵炎と全身のサイトカイン変動の検討のため、簡便に膵炎が重症化する closed duodenal loop 膵炎 model を用いた。本実験においてアミラーゼ、リパーゼ、IL-1、IL-6とも sham 群に比し有意に上昇が認められ、組織学的にも早期より膵に組織間浮腫、空包化変性、壊死が認められた。したがって重症化膵炎が惹起され SIRS から MOF への進展過程がモデル化できたと思われた。

FR167653 は1996年に Yamamoto ら¹⁴⁾によって TNF- α ・IL-1 β 産生抑制剤として開発された。炎症刺激で活性化する p38 MAP kinase を阻害し細胞内の転写因子活性を抑制することにより IL-1 β の産生を抑制することが Takahashi ら¹⁾により解明されている。

FR167653 はサイトカイン産生阻害剤として各種動物モデルにおける再灌流障害の軽減(肝、

肺)、エンドトキシン血症における腎、肺障害の改善等に用いられている^{15)~17)}。

膵臓に対しては犬の膵再灌流障害で末梢血の IL-1 β mRNA 発現の抑制効果¹⁸⁾やラット急性膵炎モデルにおける血清サイトカイン濃度、膵酵素や組織変化を観察した報告^{19), 20)}はあるものの、膵臓でのサイトカイン mRNA の発現とその経過を観察した報告はない。FR167653 の投与量と経路は各実験モデルで様々であるが、急性膵炎に対しては平野ら¹⁹⁾が本実験と同様に皮下投与 1.5 mg/kg、4 回投与にて膵保護効果を報告しており、それを参考にした。

本実験では膵臓での IL-1 β mRNA の発現は CDL 群では早期より認められ持続するが、CDL + FR 群では時間と共にやや低下する傾向であった。血清 IL-1 β 濃度は CDL 群で時間と共に上昇するが、FR167653 投与によりこれを抑制することができた。また、血清 IL-6 も抑制され、重症化を防げると考えられた。

IL-10 は大きな侵襲に伴い誘導された過剰な炎症性サイトカインの産生抑制に働くと考えられている。血清 IL-10 濃度は炎症性サイトカインの上昇に伴って早期から上昇した。FR167653 の投与により IL-10 mRNA の発現は特に 4 h で有意に低下するものの、血清 IL-10 濃度の抑制効果は軽度であり、ただ単純に IL-10 mRNA の発現を抑制することが血清 IL-10 濃度を低下させることに直結しておらずサイトカインネットワークの複雑さを思わせた。

しかし、いずれにせよ、FR167653 投与により膵での IL-1 β mRNA の発現の抑制と同時に IL-10 mRNA の発現は阻止されサイトカインストームの抑制が膵組織で行われており、このことが血清サイトカインを抑制し同時に急性膵炎の進展をも抑制することが確認された。このことはおそらく、膵炎時の SIRS 及び second attack を介した MOF への進展を阻止する可能性があると考えられた。

多臓器不全に進行するのを防ぐため、ステロイド²¹⁾、リドカイン²²⁾、グルカゴン²³⁾など様々な物質が実験に用いられてきた。その作用機序

は臓器血流増加, 好中球エラスターゼ阻害, プロテアーゼの抑制, シグナル伝達抑制 (抗サイトカイン療法, COX-2 阻害, NF- κ B 活性抑制等) など多岐にわたる^{21)~23)}。また, その投与のタイミングは実験的には侵襲前投与などサイトカインストームが動き出す前の治療が効果的だとの報告がある。ラット膵炎モデルに対するステロイドの膵炎作製前投与における膵保護作用²¹⁾やマウス手術侵襲モデルに対する少量ステロイドの侵襲1時間前投与による血清IL-1, IL-6の抑制効果²⁴⁾, ラジカルスカベンジャーの手術侵襲前投与による細胞障害及びstress oncotaxis 予防^{25), 26)}等がよく知られている。しかし, 手術侵襲と異なり膵炎は発生を予測することはできず, サイトカイン抑制物質を投与するにしても発症早期からということが考えられる。本実験はより臨床的な投与として前投与は行わず膵炎作製直後に治療を開始した。しかし, すでにサイトカインストームは発生しており, 完全には膵炎を抑えることができず炎症性サイトカインの上昇が見られた。このことより, FR167653等の抗サイトカイン物質はより早期に投与することが望ましいと思われた。

結 語

1. 重症急性膵炎モデルとしてラットCDLモデルを作製した。
2. 血清アミラーゼ, リパーゼ濃度は同モデルにおいて上昇し, FR167653投与により上昇が抑制された。

3. 膵炎モデルにおいて血清IL-1濃度の上昇が認められ, FR167653投与により抑制された。
4. FR167653投与では血清IL-10濃度は有意ではないものの炎症性サイトカインの減少に伴って低下傾向を示した。
5. FR167653投与によりIL-1 mRNAは発現が抑制された。
6. 組織学的にもFR167653投与により一過性に膵障害が軽減されることが示された。
7. FR167653は急性膵炎時のサイトカインストームを抑制し, 多臓器不全への重症化を予防する可能性があることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり, 終始ご指導, 御高閲を賜りました恩師川崎医科大学外科学 (消化器) 教室 角田 司教授に深甚な謝意を表します。また, 本研究に当たり終始ご協力ご助言を頂いた, 浦上 淳講師, 平井敏弘助教授, 川崎医科大学医用中毒学 富田正文助教授, 生化学教室 伏谷建造助教授, 各教室員及び技術員各位に深く感謝いたします。さらに, 実験をサポートしてくださった, 医用生物センター及び医用実験センターの方々に感謝いたします。

本論文の一部は第103回日本外科学会定期学術集会 (2003年6月北海道), 第58回日本消化器外科学会総会 (2003年7月東京) において発表した。

本研究の一部は川崎医科大学プロジェクト研究費 (平成13年度13-202, 平成15年度15-203A) の援助によって行われたことを付記し, 感謝の意を表します。

文 献

- 1) Takahashi S, Keto Y, Fujita T, Uchiyama T, Yamamoto A : FR167653, a p38mitogen-activated protein kinase inhibitor, prevents Helicobacter pylori-induced gastritis in mongolian gerbils. J Pharmacol Exp Ther 296 : 48-56, 2001
- 2) Tomita M, Okuyama T, Hidaka K : Changes in mRNAs of inducible nitric oxide synthase and interleukin-1 β in the liver, kidney and lung tissue of rats acutely exposed to paraquat. Legal Medicine 1 : 127-134, 1999
- 3) Niederau C, Ferrell LD, Grandell JH : Caerulein-induced acute necrotizing pancreatitis in mice : protective effects of proglumide, benzotript, and secretin. Gastroenterology 88 : 1192-1204, 1985

- 4) Leser HG, Gross V, Scheibenbogen C, Heinisch A, Salm R, Lausen M, Ruchauer K, Andreesen R, Farthmann EH, Scholmerich J : Elevation of serum interleukin-6 concentration precedes acute-phase response and reflects severity in acute pancreatitis. *Gastroenterology* 101 : 782-785, 1991
- 5) Heath D I, Cruickshank A, Gudgeon M, Jehanli A, Shenkin A, Imrie CW : Role of interleukin-6 in mediating the acute phase protein response and potential as an early means of severity assessment in acute pancreatitis. *Pancreas* 34 : 41-45, 1993
- 6) Pezzilli R, Billi P, Miniero R, Fiocchi M, Cappelletti O, Morselli-Labate AM, Barakat B, Sprovieri G, Miglioli M : Serum interleukin-6, interleukin-8, and β 2-microglobulin in early assessment of severity of acute pancreatitis. Comparison with serum c-reactive protein. *Dig Dis Scie* 40 : 2341-2348, 1995
- 7) Riche FC, Cholley BP, Laisne M-JC, Vicaut E, Panis YH, Lajeunie EJ, Boudiaf M, Valleur PD : Inflammatory cytokines, C reactive protein, and procalcitonin as early predictors of necrosis infection in acute necrotizing pancreatitis. *Surgery* 133 : 257-262, 2003
- 8) 大元謙治, 吉岡奈穂子, 都築昌之, 柴田憲邦, 國枝武美, 武居道彦, 島原将精, 吉田浩司, 久保木真, 山本晋一郎 : 急性膵炎患者の血中サイトカインの変動. *医薬の門* 43 : 705-711, 2004
- 9) Bone RC : Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 24 : 71125-71128, 1996
- 10) Ogawa M : Mechanisms of development of organ failure following surgical insult : the "second attack" theory. *Clin Intensive Care* 7 : 34-38, 1996
- 11) Lampel M, Kern HF : Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive dose of a pancreatic secretagogue. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 373 : 97-117, 1997
- 12) 須田耕一, 小川道雄 : 急性膵炎動物実験モデルの病理組織学的比較検討. 厚生労働省特定疾患対策研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究班 平成12年度報告書 : 33-38, 2002
- 13) Brakett KA, Croket A, Joffe SN. Ultrastructure of early development acute pancreatitis in the rat. *Dig Dis Sci* 28 : 74-83, 1983
- 14) Yamamoto N, Sakai F, Yamazaki H, Nakahara K, Okuhara M : Effect of FR167653, a cytokine suppressive agent, on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation. *Eur J Pharmacol* 314 : 137-142, 1996
- 15) Hato S, Urakami A, Yamano T, Uemura T, Ota T, Hirai R, Simizu N : Attenuation of liver and lung injury after hepatic ischemia and reperfusion by a cytokine-suppressive agent, FR167653. *Eur Surg Res* 33 : 202-209, 2001
- 16) Kamoshita N, Takeyoshi I, Ohwada S, Iino Y, Morishita Y : The effect of FR167653 on pulmonary ischemia-reperfusion injury in dogs : *J Heart Lung Transp* 16 : 1062-1072, 1997
- 17) Kitada H, Sugitani A, Yamamoto H, Otomo N, Okabe Y, Inoue S, Nishiyama K, Morisaki T, Tanaka M : Attenuation of renal ischemia-reperfusion injury by FR-167653 in dogs. *Surgery* 131 : 655-662, 2002
- 18) Yamamoto H, Sugitani A, Kitada, Arima T, Nishiyama K, Yamamoto K, Shiiba M, Kawano R, Morisaki T, Nakafusa Y, Tanaka M : Effect of FR167653 on pancreatic ischemia-reperfusion injury in dogs. *Surgery* 129 : 309-317, 2001
- 19) Hirano T : Cytokine suppressive agent improves survival rate in rats with acute pancreatitis of closed duodenal loop. *J Surg Res* 81 : 224-229, 1999
- 20) 平野鉄也 : ラットセルレイン膵炎での膵ライソゾーム酵素動態に対するサイトカイン抑制物質の効果. *医学と生物学* 138 : 47-49, 1999
- 21) Takaoka K, Kataoka K, Sakagami J : The effect of steroid pulse therapy on the development of acute pancreatitis induced by closed duodenal loop in rat. *J Gastroenterology* 37 : 537-542, 2002
- 22) 平野鉄也 : ラット重症膵炎 model における lidocaine の膵保護効果. *医学と生物学* 141 : 19-21, 2000
- 23) 平野鉄也 : ラットでの closed duodenal loop 急性膵炎 model での glucagon の膵保護効果. *医学と生物学* 136 : 35-37, 1998
- 24) 植田治昌, 平川 久, 標葉隆三郎, 佐山淳造, 西平哲郎, 森 昌造 : マウス手術侵襲モデルにおけるサイトカインの変動と methylprednisolone 前投与の効果. *日外会誌* 27(9) : 2191, 1994

- 25) Hirai T, Yoshimoto A, Iwata T, Yamashita Y, Kuwahara M, Toge T : Enhancing effect of thoraco-laparotomy on liver metastasis and the role played by active oxygens, its mechanism. *Surgery Today*, 27 : 1040 - 1045, 1997
- 26) 平井敏弘, 桧原 淳, 井上秀樹, 峠哲哉, 井上 優, 坂上享宏 : 手術侵襲による生体反応に対するラジカルスカベンジャー EPC-K1 および Methylprednisolone の効果. *日外会誌* 34 : 323 - 328, 2001