

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592020

研究課題名(和文)ドレーン排液中サイトカイン網羅的解析による膵切除後重症膵液瘻早期診断モデルの確立

研究課題名(英文) Model for early detection of clinically relevant pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy by analysis of cytokine in drainage fluid

研究代表者

川井 学 (Kawai, Manabu)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：40398459

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：【目的】重症化膵液瘻の指標となりうるドレーン中サイトカインの探索。【方法】膵頭十二指腸切除術42症例において術後1,3,4日目ドレーン中のサイトカイン(IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10、IL-12、IL-13、IFN-、TNF-)を測定。【結果】重症化した膵液瘻は4例であり、ドレーン中IL-9において術後3日目、4日目の値はそれぞれ臨床的膵液瘻有り群：113±71pg/ml、75.7±34.1 pg/ml、臨床的膵液瘻無し群：22.4±22.9 pg/ml、31.6±28.9pg/mlとなり、臨床的膵液瘻有り群で有意に高値であった。

研究成果の概要(英文)：The aim is to evaluate cytokine predicting clinically relevant pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. IL-1beta, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IFN-gamma, and TNF-alpha as cytokine were measured on postoperative day (POD) 1, 3, and 4 in patients with pancreaticoduodenectomy. Clinically relevant pancreatic fistula was defined based on ISGPF classification. Clinically relevant pancreatic fistula occurred in 4 of 42(9.5%) patients. IL-9 in drainage fluid in patients with clinically relevant pancreatic fistula was 113+/-71pg/ml on POD 3 and 75.7+/-34.1pg/ml on POD4. On the other hand, IL-9 in drainage fluid in patients without clinically relevant pancreatic fistula was 22.4+/-22.9pg/ml on POD3 and 31.6+/-28.9pg/ml on POD 4. There were significant differences between patients with and without clinically relevant pancreatic fistula concerning to IL-9 in drainage fluid on POD 3 and 4.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：膵液瘻 ドレーン排液 サイトカイン 網羅的解析

1. 研究開始当初の背景

膵頭十二指腸切除術 (pancreaticoduodenectomy:PD) は膵頭部領域の腫瘍に対して施行される術式であり、腹部手術の中で最も難易度が高い手術のひとつである。手術手技および周術期管理の発達により手術関連死亡は 5%未滿となってきたが、術後合併症の発生率は 30~65%といまだ高率であり、術後合併症率の改善は急務である。特に問題になるのが膵液瘻である。PD 術後の膵液瘻の発生率は 5~30%と報告されており、膵液瘻は膵液が組織融解をきたし腹腔内膿瘍や血管破綻による腹腔内出血を併発し敗血症や多臓器不全をおこし手術関連死亡につながる危険性が高い。そのため膵液瘻予防・早期診断による早期治療が PD の術後合併症・手術関連死亡の減少に最も有用であるといっても過言ではない。膵液瘻の国際的な定義として 2005 年に International study group of postoperative pancreatic fistula (ISGPF) から『ドレーン排液量にかかわらず血清アミラーゼ値の 3 倍以上の排液アミラーゼ値が術後 3 日以上持続する』と提唱された (Bassi C, et al. Surgery2005;138:8-13)。さらに、臨床症状によって膵液瘻を grade A (臨床症状なし)、grade B (感染徴候はあるが保存的加療が可能)、grade C (腹腔内出血や敗血症を併発するなど重篤な膵液瘻であり ICU 管理や再手術を要する) の 3 つのカテゴリーに分類した。その後、膵液瘻の国際的定義・分類については、ISGPF が広く用いられるようになったが、術後 3 日目の排液アミラーゼ値が血清正常値の 3 倍以上という定義は PD 術後の大部分の症例が該当し、臨床的に有用でなく、臨床的に問題になる grade B/C は膵液瘻の結果に基づく分類であり、そこに至る重症化予測因子は明らかになっていない。そのために ISGPF grade A ; 膵液瘻に対する治療必要なし、であるのに対して ISGPF grade B/C ; 早急な治療必要ありという観点から膵液瘻の中において ISGPF grade A と grade B/C の鑑別は重要である。全体的な膵液瘻危険因子 膵液瘻 gradeB/C 危険因子ということを考えるならば、現在まで報告されている膵液瘻の術前・術中危険因子としての年齢、糖尿病の合併、術前黄疸、soft pancreas、膵管径、手術時間、術中出血量、輸血の有無などは、これらはすべて全体的な膵液瘻危険因子であって膵液瘻 gradeB/C 危険因子ではない。このため grade B/C に対する早期診断方法の確立は膵液瘻の治療方針のアルゴリズムのために非常に重要である。ISGPF 分類による膵液瘻分類では、特に治療を要する重症膵液瘻の予測危険因子を明らかにする重要性である。そこで我々は 2003 年-2008 年までの膵頭十二指腸切除術 244 例について検討した結果、膵液瘻発生の独立した危険因子は soft pancreas($P=0.0053$)であり、膵液瘻が grade A から grade B+C へ重篤化する独立した予測

危険因子は術後 4 日目の血清アルブミン値 3.0g/dL かつ白血球数 $>9,800/\text{mm}^3$ の症例であることを報告した (World J Surg. 2009;33:2670-2678)。ここで重要なことは、全体的な膵液瘻危険因子 膵液瘻 gradeB/C 危険因子であったことである。しかし、この重症膵液瘻の予測危険因子は術後 4 日目の白血球とアルブミン値という全身の因子であり、呼吸器合併症などの他の部位の炎症を合併した場合は膵液瘻の重症化を正確に反映しているとは言えない。このため、膵液瘻の重症化を指標化できる局所因子を検討することが次の課題となった。

2. 研究の目的

現在は膵液瘻の指標として一般的にドレーン排液中のアミラーゼを測定しているが重症化の指標としては議論がまだまだ多い。膵液瘻の指標となるドレーン排液中のアミラーゼ以外のバイオマーカーの探索を行うことを本研究の目的としている。このために、重症化膵液瘻の予測因子としてドレーン排液内サイトカインの網羅的探索により膵液瘻重症化の指標となるサイトカインを決定する。

3. 研究の方法

対象は膵頭部領域の腫瘍に対して施行された膵頭十二指腸切除術 42 症例。術後 1,3,4 日目の血清およびドレーン排液中のサイトカインを膵液瘻の有無によって比較検討した。ドレーン排液中サイトカインは Bio-Plex サスペンションアレイシステムによって網羅的解析が行われ、測定したサイトカインは IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10、IL-12、IL-13、IFN-、TNF- であった。膵液瘻の定義は国際基準である International study group of postoperative pancreatic fistula (ISGPF) に基づいた。ドレーン中アミラーゼ値およびサイトカインは平均 \pm 標準偏差にて表した。2 群間の解析は T 検定あるいは Mann-Whitney U test にて行った。統計学的有意差は $P < 0.05$ とした。統計解析は SPSS software, version 20 (SPSS, Chicago, IL) を使用した。

4. 研究成果

(結果)

(1) 対象症例の平均年齢は 70 歳 (47-82 歳)、男女比 25:17 であった。病理組織学的診断は膵管癌 20 例、胆管癌 7 例であった (表 1)。

表 1 : 病理組織学的診断

| | |
|------------|--------------|
| 膵管癌 | 20 例 (47.6%) |
| 胆管癌 | 7 例 (16.7%) |
| 膵管内乳頭粘液腫瘍 | 10 例 (23.9%) |
| Vater 乳頭部癌 | 2 例 (4.8%) |
| 十二指腸癌 | 1 例 (2.4%) |
| 膵粘液嚢胞性腫瘍 | 1 例 (2.4%) |
| 腫瘤形成性膵炎 | 1 例 (2.4%) |

(2) 術後膵液瘻発生率は 11/42(26.2%)であり、gradeA 7 例、gradeB 4 例、gradeC 0 例であった(表 2)。

表 2 : 術後合併症

| | |
|-----------|--------------|
| morbidity | 16 例 (38.1%) |
| 膵液瘻 | 11 例 (26.2%) |
| Grade A | 7 例 (16.7%) |
| Grade B | 4 例 (9.5%) |
| Grade C | 0 例 (0%) |
| 腹腔内膿瘍 | 5 例 (11.9%) |
| 腹腔内出血 | 0 例 (0%) |
| 胆汁漏 | 2 例 (4.9%) |
| イレウス | 1 例 (2.4%) |

(3) 膵液瘻とドレーン中アミラーゼの関連
ドレーン排液中アミラーゼ値と膵液瘻を比較検討した。まず膵液瘻の有無においてドレーン排液中アミラーゼ値を比較したが両群に有意差は認めなかった(表 3)。次に膵液瘻無し+grade A vs. grade B+C においてドレーン排液中アミラーゼ値を比較した。術後 1,3,4 日のドレーン中アミラーゼにおいて両群に有意差は認めなかった(表 4)。今回の研究において、ドレーン中アミラーゼは臨床的膵液瘻の指標となり得なかった。

表 3 : 膵液瘻とドレーン中アミラーゼ (IU/L)

| | 膵液瘻 (+) (n=11) | 膵液瘻 (-) (n=31) | P |
|---------|-------------------|-------------------|-------|
| 術後 1 日目 | 1,026 ± 2,227 | 4,256 ± 4,518 | 0.043 |
| 術後 3 日目 | 577 ± 2,445 | 1,401 ± 1,291 | 0.173 |
| 術後 4 日目 | 768 ± 3,866 | 493 ± 433 | 0.704 |

表 4 : 臨床的膵液瘻とドレーン中アミラーゼ (IU/L)

| | 臨床的膵液瘻 (+) (n=4) | 臨床的膵液瘻 (-) (n=37) | P |
|---------|---------------------|----------------------|-------|
| 術後 1 日目 | 1,777 ± 3,386 | 2,961 ± 2,164 | 0.377 |
| 術後 3 日目 | 834 ± 2,321 | 467 ± 555 | 0.446 |
| 術後 4 日目 | 749 ± 3,475 | 190 ± 108 | 0.337 |

(4) 膵液瘻とドレーン中サイトカインの関連性

膵液瘻有り群 11 例と無し群 31 例のドレーン排液および血清中の 11 種類のサイトカイン値の間には有意差は認めなかった(表 5)。

表 5 : ドレーン中サイトカイン

5 - 1 : 術後 1 日目ドレーンサイトカイン (pg/ml)

| | 膵液瘻 (+) (n=11) | 膵液瘻 (-) (n=31) | P |
|-------|-------------------|-------------------|-------|
| IL-1 | 323 ± 378 | 195 ± 419 | 0.384 |
| IL-2 | 8.8 ± 10.8 | 11.6 ± 13.0 | 0.493 |
| IL-4 | 2.4 ± 1.8 | 3.5 ± 1.9 | 0.117 |
| IL-5 | 32.6 ± 55.9 | 41.4 ± 58.1 | 0.661 |
| IL-6 | 6,541 ± 4,558 | 9,083 ± 4,690 | 0.132 |
| IL-9 | 34.6 ± 54.4 | 25.6 ± 19.2 | 0.603 |
| IL-10 | 91.4 ± 115.4 | 91.6 ± 77.7 | 0.996 |
| IL-12 | 31.5 ± 45.3 | 30.1 ± 25.8 | 0.924 |
| IL-13 | 149 ± 233 | 108 ± 193 | 0.609 |
| IFN- | 170 ± 150 | 211 ± 140 | 0.430 |
| TNF- | 240 ± 633 | 123 ± 179 | 0.560 |

5 - 2 : 術後 3 日目ドレーン中サイトカイン (pg/ml)

| | 膵液瘻 (+) (n=11) | 膵液瘻 (-) (n=31) | P |
|-------|-------------------|-------------------|-------|
| IL-1 | 639 ± 1,030 | 461 ± 931 | 0.670 |
| IL-2 | 7.5 ± 8.8 | 272 ± 358 | 0.915 |
| IL-4 | 3.3 ± 2.8 | 2.9 ± 1.6 | 0.703 |
| IL-5 | 14.4 ± 25.4 | 13.5 ± 13.5 | 0.927 |
| IL-6 | 8,352 ± 4,956 | 6,536 ± 4,121 | 0.368 |
| IL-9 | 40.0 ± 54.5 | 24.1 ± 24.3 | 0.452 |
| IL-10 | 60.8 ± 110 | 52.9 ± 55.7 | 0.849 |
| IL-12 | 41.8 ± 42.8 | 36.3 ± 44.1 | 0.761 |
| IL-13 | 18.2 ± 11.8 | 20.1 ± 12.5 | 0.704 |
| IFN- | 191 ± 138 | 181 ± 116 | 0.849 |
| TNF- | 296 ± 654 | 191 ± 318 | 0.674 |

5 - 3 : 術後 4 日目ドレーン中サイトカイン (pg/ml)

| | 膵液瘻 (+) (n=11) | 膵液瘻 (-) (n=31) | P |
|-------|-------------------|-------------------|-------|
| IL-1 | 1,154 ± 1,292 | 700 ± 1,871 | 0.386 |
| IL-2 | 10.4 ± 14.5 | 9.2 ± 9.8 | 0.802 |
| IL-4 | 3.9 ± 3.0 | 3.2 ± 2.1 | 0.541 |
| IL-5 | 12.2 ± 12.3 | 18.0 ± 358 | 0.307 |
| IL-6 | 6,863 ± 2,553 | 7,356 ± 5,657 | 0.701 |
| IL-9 | 44.5 ± 33.5 | 32.4 ± 31.2 | 0.313 |
| IL-10 | 157 ± 288 | 72.9 ± 81.4 | 0.359 |
| IL-12 | 56.8 ± 53.3 | 39.7 ± 60.4 | 0.389 |
| IL-13 | 170 ± 150 | 211 ± 140 | 0.408 |
| IFN- | 253 ± 189 | 197 ± 136 | 0.381 |
| TNF- | 718 ± 1,382 | 714 ± 1,193 | 0.993 |

(4) 臨床的膵液瘻とドレーン中サイトカインの関連性

次に臨床的膵液瘻(gradeB+C)の有無とドレーン排液中および血清中サイトカインの相

関性を検討した。ドレーン排液中 IL-9 において術後 3 日目、4 日目の値はそれぞれ臨床的腭液瘻(gradeB+C)有り群：113±71pg/ml、75.7±34.1 pg/ml、臨床的腭液瘻(gradeB+C)無し群：22.4±22.9 pg/ml、31.6±28.9pg/ml となり、臨床的腭液瘻(gradeB+C)有り群で有意に高値となった。しかし、血清中 IL-9 に関して臨床的腭液瘻(gradeB+C)の有無では術後 3 日目、4 日目の値に有意差は認めなかった(表 6)。

表 6：ドレーン中サイトカイン
6-1:術後 1 日目ドレーン中サイトカイン

| | 臨床的腭液瘻 (+) (n=4) | 臨床的腭液瘻 (-) (n=38) | P |
|-------|------------------------|-------------------------|-------|
| IL-1 | 451±666 | 273±358 | 0.605 |
| IL-2 | 5.8±7.7 | 11.4±12.7 | 0.307 |
| IL-4 | 2.5±1.7 | 3.3±2.0 | 0.725 |
| IL-5 | 64.5±89.1 | 36.4±53.6 | 0.725 |
| IL-6 | 5,408±4,176 | 8,734±4,730 | 0.199 |
| IL-9 | 66.0±85.8 | 24.0±18.7 | 0.327 |
| IL-10 | 148±180 | 85.7±74.1 | 0.605 |
| IL-12 | 52.4±65.0 | 28.2±26.2 | 0.788 |
| IL-13 | 268±321 | 103±185 | 0.268 |
| IFN- | 124±86 | 209±145 | 0.371 |
| TNF- | 574±1,046 | 110±166 | 0.852 |

6-2:術後 3 日目ドレーン中サイトカイン

| | 臨床的腭液瘻 (+) (n=4) | 臨床的腭液瘻 (-) (n=38) | P |
|-------|------------------------|-------------------------|-------|
| IL-1 | 761±1,053 | 487±951 | 0.970 |
| IL-2 | 14.2±17.4 | 7.4±8.1 | 0.602 |
| IL-4 | 5.6±5.2 | 2.9±1.6 | 0.513 |
| IL-5 | 41.3±49.1 | 12.0±12.8 | 0.289 |
| IL-6 | 10,556±3,911 | 6,739±4,303 | 0.257 |
| IL-9 | 113±71 | 22.4±22.9 | 0.007 |
| IL-10 | 174±209 | 47.3±53.3 | 0.289 |
| IL-12 | 67.3±78.7 | 35.8±41.6 | 0.556 |
| IL-13 | 18.7±3.4 | 19.7±12.5 | 0.970 |
| IFN- | 264±244 | 178±113 | 0.602 |
| TNF- | 971±1,319 | 168±292 | 0.392 |

6-3:術後 4 日目ドレーン中サイトカイン

| | 臨床的腭液瘻 (+) (n=4) | 臨床的腭液瘻 (-) (n=38) | P |
|-------|------------------------|-------------------------|-------|
| IL-1 | 1,958±1,358 | 699±1,741 | 0.157 |
| IL-2 | 12.5±22.3 | 9.2±9.7 | 0.605 |
| IL-4 | 4.8±4.7 | 3.3±2.0 | 0.513 |
| IL-5 | 21.0±15.8 | 16.0±21.6 | 0.232 |
| IL-6 | 5,971±3,649 | 7,359±5,148 | 0.852 |
| IL-9 | 75.7±34.1 | 31.6±28.9 | 0.006 |
| IL-10 | 336±440 | 70.0±82.4 | 0.307 |
| IL-12 | 84.8±80.9 | 40.0±55.4 | 0.307 |
| IL-13 | 231±243 | 75.3±138 | 0.100 |
| IFN- | 290±291 | 204±134 | 0.788 |
| TNF- | 1,576±2,165 | 625±1,097 | 0.208 |

(5) 今後の検討課題

重症化腭液瘻の予測因子としてドレーン排液中サイトカインの網羅的探索により腭液瘻重症化の指標となるサイトカインとして IL-9 が抽出された。今後は IL-9 の腭液瘻における臨床的意義を前向きに検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等(計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川井 学 (Kawai Manabu)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：40398459

(2) 研究分担者

山上 裕機 (Yamaue Hiroki)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：20191190

谷 眞至 (Tani Masaji)
和歌山県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号：60236677

廣野 誠子 (Hirono Seiko)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：60468288

宮澤 基樹 (Miyazawa Motoki)
和歌山県立医科大学・医学部・学内助教
研究者番号：90549734

(3)連携研究者
(計0人)
研究者番号：