

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591003

研究課題名(和文)膵幹細胞・前駆細胞 niche をターゲットにした膵疾患の二次予防法の開発

研究課題名(英文) The prevention of pancreatic diseases targeting for the pancreatic stem/progenitor cell niche

研究代表者

菊田 和宏 (Kikuta, Kazuhiro)

東北大学・医学(系)研究科(研究院)・非常勤講師

研究者番号：80420024

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：膵内外分泌機能障害に対する膵微小環境における膵星細胞の役割を明らかにするために、インテグリンシグナル伝達経路に関連するアダプター蛋白であるkindlin-2の膵星細胞における役割について検討した。膵星細胞はkindlin-2を発現しており、その発現を抑制することにより、膵星細胞の遊走能が低下した。更に疫学的にも膵内外分泌機能障害と慢性膵炎、急性膵炎の関連について検討した。慢性膵炎確診と診断されて1年未満の症例の多くが既に膵外分泌機能障害、糖尿病を有していた。急性膵炎患者における糖尿病合併頻度は高く、糖尿病合併例の致死率は特発性、高齢者において高かった。

研究成果の概要(英文)：To clarify the role of pancreatic stellate cells for the progression of pancreatic endocrine and exocrine dysfunction, the role of kindlin-2, a key regulator for integrin signaling, in pancreatic stellate cells was studied. Pancreatic stellate cells expressed kindlin-2. The decreased expression of kindlin-2 inhibited the migration of pancreatic stellate cells. Kindlin-2 may have a role in the pancreatic microenvironment. The epidemiological association between pancreatic dysfunction and pancreatitis was also studied. Sixty five point seven percent and 45.7% of chronic pancreatitis patients who were diagnosed as definite chronic pancreatitis within a year showed pancreatic exocrine and endocrine dysfunction, respectively. Acute pancreatitis patients had higher morbidity of diabetes mellitus than normal population. Idiopathic or elder acute pancreatitis patients with diabetes mellitus had a higher mortality.

研究分野：膵臓病学

キーワード：急性膵炎 慢性膵炎

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 膵外分泌機能不全、膵内分泌機能不全は、様々な膵疾患において病状進展に伴い出現する病態である。病態によりその重症度や臨床経過に多様性があると考えられるが、膵疾患に広く認められる病態である。近年、膵疾患は増加傾向にあり、今後、膵機能不全患者が増加していくことが予想される。膵機能の低下は、消化不全や耐糖能の低下をもたらす、膵疾患患者の生活の質を低下させる。以前に比べ膵疾患の早期発見が可能になってきたにもかかわらず、膵機能の低下に対しては補充療法が行われるのみで、膵機能不全の進行予防に着目した治療法は確立していない。

(2) 膵の間質には膵星細胞の存在が知られている。この細胞は様々な膵傷害によって活性化し細胞外基質やケモカインを産生するなどして膵の炎症や線維化に中心的な役割を担っている。膵星細胞は慢性膵炎の線維化のみならず、膵癌における線維化形成反応でも役割を担っていることが明らかになってきた。膵星細胞が活性化すると膵の線維化が起こるのみならず、膵星細胞と周囲の細胞の関係に変化が生じ、相互作用の変化が膵機能低下に役割を担っているかもしれない。

### 2. 研究の目的

(1) 慢性膵炎における膵外分泌機能不全、内分泌機能不全の実態を明らかにする。

(2) 膵微小環境における膵星細胞とその他の細胞の相互作用を明らかにする。

(3) 膵内分泌機能障害が膵疾患の病態に与える影響を明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1) 慢性膵炎の実態に関する全国調査で集積された慢性膵炎確定例のうち、PFD 試験を施行された 306 例、糖尿病の有無を確認し得た 1137 例、計 1143 例 (重複あり) を対象とした。膵外分泌機能低下の有無、糖尿病の有無について、年齢、病悩機関、飲酒歴、喫煙歴、疼痛、消化不良との関連について検討した。

(2) 膵微小環境における膵星細胞とその他の細胞の相互作用を明らかにするために、インテグリンシグナル伝達経路に関連するアダプター蛋白 kindlin-2 に着目した。膵星細胞における kindlin-2 発現を real time PCR、western blotting により検討した。膵星細胞に kindlin-2 siRNA を導入し、細胞機能の変化を検討した。

(3) 急性膵炎、重症急性膵炎の全国調査で集積された症例のうち、急性膵炎発症時の糖尿病の有無を確認し得た 1954 例を対象とした。急性膵炎発症時における糖尿病合併頻度、発症 72 時間以内の臓器不全、発症 48 時間以内の CT 所見、致命率について検討した。

### 4. 研究成果

(1) PFD 試験を施行されていた慢性膵炎確定例 306 例のうち 69.9% が PFD 試験で異

常低値を示した。年齢別に見ると PFD 試験で異常低値を示した患者は 30 歳未満では 3 割程度であったが、30 歳以上の患者では約 7 割が異常低値であった。慢性膵炎確定と診断されてからの期間別に見ると 1 年未満の症例の 65.7% が既に PFD 試験で異常低値を示しており、診断から 20 年以上経過すると異常低値を示す患者は 8 割以上に達した。糖尿病の有無を確認しえた慢性膵炎確定例 1137 例のうち 45.7% が糖尿病を合併していた。糖尿病合併頻度を年齢別に見ると、30 歳未満では 5%、30 歳以上 40 歳未満では 25% 程度であったが、40 歳以上になると 45% 程度に達していた。慢性膵炎確定と診断されてから 1 年未満の症例の 41.0% が糖尿病を合併していたが、20 年以上経過すると約 7 割が糖尿病を合併していた。飲酒歴がある患者、喫煙歴がある患者において糖尿病合併頻度が高かった。疼痛は慢性膵炎確定例の 59.4% に認められた。糖尿病がない患者群では、糖尿病がある患者群より疼痛を有する頻度が有意に高かった (62.5% vs 54.1%,  $p < 0.01$ )。一方、PFD 試験異常の有無による疼痛合併頻度の有意な差は認めなかった。消化不良は慢性膵炎確定例の 12.1% に認められた。糖尿病がある患者群では糖尿病がない患者群に比べ消化不良を有する頻度が有意に高かった (16.0% vs 8.2%,  $p < 0.001$ )。一方、PFD 異常低値群の消化不良合併頻度は 19.0% で、PFD 正常群 (12.9%) に比べ高頻度であったが、有意差は認められなかった ( $p = 0.33$ )。慢性膵炎確定と診断されて 1 年未満の症例の多くが既に膵外分泌機能障害、糖尿病を有していた。膵機能障害予防の観点からすれば、より早期の症例を拾い上げる必要があると考えられた。また喫煙歴のある慢性膵炎症例において糖尿病の合併が多く、既報でも慢性膵炎と喫煙の関連は報告されており、膵機能障害予防の観点からも禁煙が必要と考えられた。

(2) real time PCR および western blotting によりヒトおよびラット膵星細胞における kindlin-2 の発現が確認された。Scratch assay により、kindlin-2 siRNA を導入したヒト膵星細胞における細胞遊走能の低下が確認された。以上より膵星細胞の細胞機能に kindlin-2 は役割を担っていると考えられる。膵星細胞とその他の細胞の相互作用における kindlin-2 の役割については今後の課題である。

(3) 急性膵炎患者における糖尿病の合併頻度は 12.8% であり、一般人口における合併頻度 (10.5%) より高かった。成因による差が認められ、アルコール性の 15.6%、胆石性の 10.8%、特発性の 10.7% が糖尿病を合併していた。特に 60 歳未満の急性膵炎患者は一般人口の同世代より糖尿病合併頻度が高かった。急性膵炎発症 72 時間以内の臓器不全の出現頻度を糖尿病の有無別にみても、糖尿病合併患者において循環不全、腎不全の出現頻度が

高かった。呼吸不全の出現頻度は糖尿病の有無による有意な差を認めなかった。糖尿病を合併していない急性膵炎患者においては臓器不全出現頻度に成因による差を認めなかったが、糖尿病合併例においては成因による違いが認められ、糖尿病を合併した特発性急性膵炎では腎不全の出現頻度が高かった。

急性膵炎発症 48 時間以内の CT 所見については糖尿病の有無による差を認めなかった。

糖尿病合併急性膵炎患者の致命率は 4.0% であり、糖尿病非合併例の致命率(1.7%)より有意に高かった。特に 70 歳以上の糖尿病合併急性膵炎患者の致命率は 9.5% と高かった。致命率を成因別に検討すると、糖尿病合併特発性膵炎例の致命率は 9.7% と高かった。一方でアルコール性急性膵炎では致命率に糖尿病の有無による差を認めなかった。性別、body mass index、血清中性脂肪値は、糖尿病合併頻度と関連していたが、これらの因子は急性膵炎の致命率と有意な相関を認めなかった。ロジスティック回帰モデルを用いて多変量解析を行ったところ、年齢と糖尿病は独立した急性膵炎死亡リスクであった。糖尿病が急性膵炎死亡リスクであるかどうかについては議論があるが、今回の検討では成因や年齢によりそのリスクが異なることが明らかになった。糖尿病合併の特発性、高齢の急性膵炎患者は致命率が高いことを念頭に診療にあたる必要がある。

#### 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 24 件)

1. Kanno A, Masamune A, Hamada S, Kikuta K, Kume K, Hirota M, Shima K, Okada T, Motoi F, Fujishima F, Ishida K, Unno M, Shimosegawa T, Sudden disappearance of the blood flow in a case of pancreatic acinar cell carcinoma, Intern Med, 査読有, 53 巻, 2014 年, 2589-2593
2. Miura S, Kanno A, Masamune A, Hamada S, Takikawa T, Nakano E, Yoshida N, Hongo S, Kikuta K, Kume K, Hirota M, Yoshida H, Katayose Y, Unno M, Shimosegawa T, Bismuth classification is associated with the requirement for multiple biliary drainage in preoperative patients with malignant perihilar biliary stricture, Surg Endosc, 査読有, DOI 10.1007/s00464-014-3878-y, 2014 年
3. Hirota M, Shimosegawa T, Masamune A, Kikuta K, Kume K, Hamada S, Kanno A, Kimura K, Tsuji I, Kuriyama S; Research Committee of Intractable Pancreatic Diseases, The seventh nationwide epidemiological survey for chronic pancreatitis in Japan: clinical significance of smoking habit in Japanese patients, Pancreatol, 査読有, 14 巻, 2014 年, 490-496
4. Unno J, Kanno A, Masamune A, Kasajima A, Fujishima F, Ishida K, Hamada S, Kume K, Kikuta K, Hirota M, Motoi F, Unno M, Shimosegawa T, The usefulness of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for the diagnosis of pancreatic neuroendocrine tumors based on the World Health Organization classification, Scand J Gastroenterol, 査読有, 49 巻, 2014 年, 1367-1374
5. Hamada S, Masamune A, Kikuta K, Hirota M, Tsuji I, Shimosegawa T; Research Committee of Intractable Diseases of the pancreas, Nationwide epidemiological survey of acute pancreatitis in Japan, Pancreas, 査読有, 43 巻, 2014 年, 1244-1248
6. 菊田和宏, 正宗淳, 下瀬川徹, 慢性膵炎に伴う線維化機構、胆と膵、査読無、35 巻、2014 年、1035-1039
7. 菊田和宏, 正宗淳, 濱田晋, 下瀬川徹, 我が国の急性膵炎の予後、膵臓、査読有、29 巻、2014 年、151-156
8. 菊田和宏, 正宗淳, 下瀬川徹, 慢性膵炎の膵内外分泌機能と臨床像 - 全国調査から、胆と膵、査読無、35 巻、2014 年、343-347
9. 菊田和宏, 正宗淳, 濱田晋, 滝川哲也, 中野絵里子, 下瀬川徹, 膵星細胞と膵島細胞の相関、胆と膵、査読無、35 巻、2014 年、339-342
10. Takikawa T, Kanno A, Masamune A, Hamada S, Nakano E, Miura S, Ariga H, Unno J, Kume K, Kikuta K, Hirota M, Yoshida H, Katayose Y, Unno M, Shimosegawa T, Pancreatic duct drainage using EUS-guided rendezvous technique for stenotic pancreaticojejunostomy, World J Gastroenterol, 査読有, 19 巻, 2013 年, 5182-5186
11. Kikuta K, Masamune A, Hamada S, Takikawa T, Nakano E, Shimosegawa T, Pancreatic stellate cells reduce insulin expression and induce apoptosis in pancreatic b-cells, Biochem Biophys Res Commun, 査読有, 433 巻, 2013 年, 292-297
12. Masamune A, Hamada S, Kikuta K, Takikawa T, Miura S, Nakano E, Shimosegawa T, The angiotensin II type I receptor blocker olmesartan inhibits the growth of pancreatic cancer by targeting stellate cell activities in mice, Scand J Gastroenterol, 査読有, 48 巻, 2013 年, 602-609
13. Hamada S, Satoh K, Miura S, Hirota M, Kanno A, Masamune A, Kikuta K, Kume K,

- Unno J, Egawa S, Motoi F, Unno M, Shimosegawa T, miR-197 induces epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells by targeting p120 catenin, *J Cell Physiol*, 査読有, 228 巻, 2013 年, 1255-1263
14. Masamune A, Suzuki N, Kikuta K, Ariga H, Hayashi S, Takikawa T, Kume K, Hamada S, Hirota M, Kanno A, Egawa S, Unno M, Shikosegawa T, Connexins regulate cell functions in pancreatic stellate cells, *Pancreas*, 査読有, 2013 年, 308-316
  15. 菊田和宏, 正宗淳, 下瀬川徹, 全国調査からみた急性膵炎における耐糖能障害、消化と吸収, 査読有, 36 巻, 2013 年, 253-256
  16. Miura S, Kume K, Hamada S, Kanno A, Unno J, Kikuta K, Hirota M, Masamune A, Shimosegawa T, [Case report: Multiple gastrointestinal stromal tumors associated with neurofibromatosis type I preoperatively diagnosed by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration: report of a case and review of literature], *Nihon Naika Gakkai Zasshi*, 101 巻, 査読有, 2012 年, 3510-3512
  17. Hirota M, Shimosegawa T, Kanno A, Kikuta K, Kume K, Hamada S, Unno J, Masamune A, Distinct clinical features of two patients that progressed from the early phase of chronic pancreatitis to the advanced phase, *Tohoku J Exp Med*, 査読有, 228 巻, 2012 年, 173-180
  18. Kanno A, Ishida K, Hamada S, Fujishima F, Unno J, Kume K, Kikuta K, Hirota M, Masamune A, Satoh K, Notohara K, Shimosegawa T, Diagnosis of autoimmune pancreatitis by EUS-FNA by using a 22-gauge needle based on the International Consensus Diagnostic Criteria, *Gastrointest Endosc*, 査読有, 76 巻, 2012 年, 594-602
  19. Hirota M, Satoh K, Kikuta K, Masamune A, Kume K, Hamada S, Satoh A, Kannno A, Unno J, Ito H, Ariga H, Shimosegawa T, Early detection of low enhanced pancreatic parenchyma by contrast-enhanced computed tomography predicts poor prognosis of patients with acute pancreatitis, *Pancreas*, 査読有, 41 巻, 2012 年, 1099-1104
  20. Kanno A, Masamune A, Hirota M, Kikuta K, Shimosegawa T, Successful treatment of benign biliary stricture by a covered self-expandable metallic stent in a patients with chronic pancreatitis, *Dig Endosc*, 査読有, 24 巻 Suppl1, 2012 年, 43-48
  21. Kume K, Masamune A, Ariga H, Hayashi S, Takikawa T, Miura S, Suzuki N, Kikuta K, Hamada S, Hirota M, Kanno A, Shimosegawa T, Do genetic variants in the SPINK1 gene affect the level of serum PSTI?, *J Gastroenterol*, 査読有, 47 巻, 2012 年, 1267-1274
  22. Hamada S, Masamune A, Takikawa T, Suzuki N, Kikuta K, Hirota M, Hamada H, Kobune M, Satoh K, Shimosegawa T, Pancreatic stellate cells enhance stem cell-like phenotypes in pancreatic cancer cells, *Biochem Biophys Res Commun*, 査読有, 421 巻, 2012 年, 349-354
  23. Kanno A, Nishimori I, Masamune A, Kikuta K, Hirota M, Kuriyama S, Tsuji I, Shimosegawa T; Research Committee on Intractable Diseases of Pancreas, Nationwide epidemiological survey of autoimmune pancreatitis in Japan, *Pancreas*, 査読有, 41 巻, 2012 年, 835-839
  24. 菊田和宏, 正宗淳, 下瀬川徹, 急性膵炎の成因と疫学、消化器外科, 査読無, 35 巻, 2012 年, 1725-1730
- [学会発表](計 13 件)
1. Kazuhiro Kikuta, Atsushi Masamune, Shin Hamada, Tooru Shimosegawa, The impact of diabetes mellitus on clinical outcome of acute pancreatitis in Japan, APA/JPS 45<sup>th</sup> anniversary meeting, 2014 年 11 月 6 日, Hawaii, USA
  2. 菊田和宏, 正宗淳, 濱田晋, 廣田衛久, 下瀬川徹, 急性膵炎発症早期の造影 CT による膵壊死予測診断能, 第 56 回日本消化器病学会大会, 2014 年 10 月 24 日, 神戸、神戸国際展示場・ポートピアホテル
  3. 菊田和宏, 正宗淳, 廣田衛久, 下瀬川徹, 全国調査から見た慢性膵炎患者における栄養状態の実態, 第 45 回日本膵臓学会大会, 2014 年 7 月 11 日, 小倉, 北九州国際会議場・西日本総合展示場新館
  4. 菊田和宏, 正宗淳, 下瀬川徹, 全国調査からみた急性膵炎における生活習慣病, 第 100 回日本消化器病学会総会, 2014 年 4 月 23 日, 東京, 東京国際フォーラム
  5. 竹内智, 菊田和宏, 糸潔, 菅野敦, 中野絵里子, 有賀啓之, 濱田晋, 廣田衛久, 正宗淳, 下瀬川徹, 内視鏡下経胃的ネクロセクトミーが有効であった感染性膵壊死の 1 例, 第 111 回日本内科学会総会, 2014 年 4 月 12 日, 東京, 東京国際フォーラム
  6. 菊田和宏, 正宗淳, 下瀬川徹, 全国調査からみた急性膵炎における耐糖能障害, Digestive Disease Week 2013, 2013 年 10 月 9 日, 東京, グランドプリンスホテル新高輪・国際館パミール, グランドプリンスホテル高輪, 品川プリンスホテル
  7. 菊田和宏, 正宗淳, 下瀬川徹, 全国調査に

基づく慢性膵炎の膵内外分泌機能と臨床像の解析、第44回日本膵臓学会大会、2013年7月25日、仙台、仙台国際センター

8. Kazuhiro Kikuta, Atsushi Masamune, Tooru Shimosegawa, Prognosis of acute pancreatitis in Japan based on nationwide survey, 第44回日本膵臓学会大会、2013年7月25日、仙台、仙台国際センター
9. Kazuhiro Kikuta, Atsushi Masamune, Tooru Shimosegawa, The nutritional index 'CONUT' is useful for predicting prognosis of acute pancreatitis, 米国 Digestive Disease Week 2013, 2013年5月18日, Orlando, USA
10. 菊田和宏、正宗淳、下瀬川徹、高齢者急性膵炎の疫学的検討、第99回日本消化器病学会総会、2013年3月21日、鹿児島、城山観光ホテル、かごしま県民交流センター
11. 菊田和宏、正宗淳、桑潔、下瀬川徹、全国調査から見たアルコール性急性膵炎の疫学的特徴、第32回アルコール医学生物学研究会、2013年1月25日、東京、都市センターホテル
12. 菊田和宏、正宗淳、下瀬川徹、CONUTによる急性膵炎の栄養評価、第54回日本消化器病学会大会、2012年10月10日、神戸、神戸国際展示場・ポートピアホテル
13. 菊田和宏、正宗淳、下瀬川徹、全国調査をもとにした急性膵炎の成因と病態、予後に関する疫学的検討、第43回日本膵臓学会大会、2012年6月28日、山形、ホテルメトロポリタン山形

〔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：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊田 和宏 (KIKUTA KAZUHIRO)  
東北大学・医学系研究科・非常勤講師  
研究者番号：80420024

(2) 研究分担者

正宗 淳 (MASAMUNE ATSUSHI)  
東北大学・医学系研究科・准教授  
研究者番号：90312579

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：