

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 山下 俊

本研究は、膵液中のプロテアーゼ活性 (キモトリプシンおよび γ グルタミルトランスペプチダーゼ[GGT]) に着目し、新たなプロテアーゼプローブを開発することで、迅速かつ高感度な膵液可視化の実現を目的としたものである。これらのプローブを利用することで、膵切除後に高頻度に発生し重篤化することが多い膵液漏をより適切に評価しようと試み、下記の結果を得ている。

1. 自然光において無色透明である膵液を特異的に蛍光標識するために、グルタリルフェニルアラニンヒドロキシメチルローダミングリーン(gPhe-HMRG)と γ グルタミルヒドロキシメチルローダミングリーン(gGlu-HMRG)を利用した。後者は既知のプローブであったが、前者は今回新規に開発したプローブであり、膵液中のキモトリプシン活性の定量評価が十分な線形性を持って可能であることが本論文中で示されている。
2. 両プローブを用いて、膵切除術で得られる体外サンプル(膵管チューブ廃液・腹腔ドレーン廃液・腸瘻チューブ廃液)のプロテアーゼ活性が評価された。gPhe-HMRG プローブは、膵液の酵素活性をより特異的に標識することが可能であると考えられた。gGlu-HMRG プローブも膵液を迅速に同定できたものの、GGT が小腸液中にも存在するため腸瘻チューブ廃液でも高値を示し、特異度の面で gPhe-HMRG プローブに劣ることが示された。
3. 2の結果を踏まえて、膵離断面における膵液漏出部位を同定する実験では gPhe-HMRG プローブのみが用いられた。膵頭十二指腸切除術で得られた切除検体の膵離断面が転写された濾紙に gPhe-HMRG プローブを噴霧し、1 分後の蛍光パターンを調べ、各症例の術後膵液漏の有無・程度などと比較検討したところ、膵離断面の蛍光パターンは3種類に分類され(duct type, diffuse type, negative type)、主膵管部蛍光陽性となった群でのみ国際的研究グループの提唱する Grade B 以上の術後膵液漏を認めた。従って、膵空腸吻合を行った後の膵液漏発生を膵離断面の蛍光の有無・程度で予測できる可能性が示された。
4. 一方、膵頭十二指腸切除術で得られた検体において、gPhe-HMRG プローブによる主膵管断端部の蛍光強度と、各症例で術後 1 日目早朝に得られる膵管チューブ廃液中のアミラーゼ濃度との関係は必ずしも相関せず、ヒト膵液中のアミラーゼ産生とプロテアーゼ産生が完全にはパラレルではないことが確認された。従来、膵液漏の存在診断にはドレーン廃液中のアミラーゼ値を用いてきたが、組織障害性の観点から言えば、プロテアーゼ活性を測定・管理することがより適切であると考えられた。実際に相対的に低いアミ

ラーゼ値を示しながら極めて高いキモトリプシン活性を示した症例では、**grade C** の術後腭液漏を呈し重篤な経過をたどった。

以上、本論文により、腭液中のプロテアーゼ活性を迅速的・特異的に蛍光可視化できる新規プローブを利用すると、従来法に比し適切に腭液漏の程度を評価できるということが明らかになった。この新規診断技術は、より安全な手術の実施・術式の選択・術後管理などに活用される可能性を有し、合併症発生率の低減を初めとする腭切除術の今後の発展に大きく寄与するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。