

Title	急性膵炎及び内視鏡的逆行性膵管造影後における膵 Phospholipase A2 の血中存在様式に関する研究
Author(s)	山本, 和子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/37819
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	山	本	和	子
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9854		号
学位授与の日付	平成3年6月29日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文名	急性膵炎及び内視鏡的逆行性膵管造影後における膵 Phospholipase A ₂ の血中存在様式に関する研究			
論文審査委員	(主査) 大手前病院顧問	垂井清一郎		
	(副査) 教授	鎌田 武信	教授	岡本 光弘

論文内容の要旨

〔目的〕

壊死性膵炎において血清中の phospholipase A₂ (PLA₂) 酵素活性が上昇することが報告されており、PLA₂ が急性膵炎の病因に関与していることが従来より想定されている。哺乳動物においては少なくとも2種類のPLA₂、すなわちI群(膵型)PLA₂とII群(マムシおよびクサリヘビ科ヘビ毒型)PLA₂が存在することが知られており、また膵炎以外にも、ARDSや重症敗血症などの炎症性非膵疾患においても血清PLA₂酵素活性が上昇することが報告されている。壊死性膵炎において上昇する血清中PLA₂酵素活性は、I群あるいはII群のいずれの型のPLA₂であるのかは明らかにされていない。膵PLA₂は他の膵酵素同様、zymogen (pro-phospholipase A₂) として産生される。急性膵炎では、何らかの原因で膵内で活性化されたトリプシンが他の膵酵素を活性化して膵の浮腫、出血、膵実質壊死を引き起こし、続いて膵管内圧の上昇により膵酵素が血中へ逸脱すると考えられている。近年膵PLA₂のラジオイムノアッセイ法が確立され、急性膵炎患者では血清中膵PLA₂免疫活性(IP-PLA₂)が著明に増加していることが明らかとなった。しかしながら、急性膵炎の血中において活性型膵の上昇はまだ確認されていない。一方、内視鏡的逆行性膵管造影(ERP)は膵管内圧の上昇により膵酵素が血中へ逸脱する典型的な状態を提供する。本研究では、ERP施行例と急性膵炎症例について血清IP-PLA₂を測定し、さらに逆相HPLCを用いて血清IP-PLA₂中に占める活性型膵PLA₂の割合を検討した。

〔方法〕

健常者6名（男性4名，女性2名， 31 ± 5 歳），ERP施行例8名（男性5名，女性3名， 51 ± 16 歳）及び急性膵炎15名（男性10名，女性5名， 54 ± 17 歳）を対象に血清IP-PLA₂を測定し，さらに逆相HPLCを用いて血清IP-PLA₂中に占める活性型膵PLA₂の割合を検討した。IP-PLA₂はヒト活性型膵PLA₂に対するモノクローナル抗体を用いたラジオイムノアッセイにて測定した。血清検体をSep-PakC₁₈にて抽出後，逆相HPLCにより分離した。カラムはShim-pack CLC-ODS（6×150mm）を用い，0.1%トリフルオロ酢酸を初期溶出液として流速1ml/minで15~35%アセトニトリルによる直線勾配にてPLA₂を分離した。HPLCにより得られた免疫活性ピークについて，PLA₂酵素活性を測定した。PLA₂酵素活性はPLA₂により遊離された脂肪酸をADAM試薬で誘導化しHPLCにて測定した。PLA₂酵素活性の認められなかった成分を37℃，2時間トリプシンで処理した後，再度逆相HPLC（Cosmosil 5C8-300，2.1×100mm）にて分析した。

〔成績〕

1. 血清IP-PLA₂値の測定

血清中IP-PLA₂値はERP施行前において 0.23 ± 0.01 pmol/mlであり，造影剤注入後15分では 3.3 ± 0.5 pmol/mlに上昇していた。急性膵炎では，発症4日以内の症例では 10.0 ± 5.9 pmol/ml，5日以後の症例では 2.5 ± 1.0 pmol/mlであり，健常群（ 0.17 ± 0.03 pmol/ml）に比べ高値であった。

2. 血清IP-PLA₂のHPLCによる分析

血清中IP-PLA₂は逆相HPLCにて2成分に分離された。先に溶出された成分は精製ヒト活性型膵PLA₂と同じ位置に認められ，PLA₂酵素活性を有していたが，おぐれて溶出された疎水性のより強い成分にはPLA₂酵素活性は認められなかった。この後方の成分をトリプシン処理した後，再度逆相HPLC及びPLA₂酵素活性測定により分析したところ，精製ヒト活性型膵PLA₂と同じ位置に溶出され，PLA₂酵素活性が出現した。以上より，ヒト血清中に膵PLA₂の活性型とproenzymeが存在することを明らかにした。

3. 血清IP-PLA₂中に占める活性型膵PLA₂の割合

ERP後における血清中活性型膵PLA₂は血清IP-PLA₂の $13.9 \pm 0.5\%$ であり，健常者空腹時血清におけるそれ（ $8.0 \pm 1.1\%$ ）との間に有意差は認められなかった。一方，急性膵炎では，血清中活性型膵PLA₂は，発症4日以内の症例では血清IP-PLA₂の17.6~64.9%（平均 $34.9 \pm 5.9\%$ ）と健常群に比し有意の上昇を示し，発症5日目以降では $10.0 \pm 1.1\%$ にとどまった。血清IP-PLA₂中に占める活性型膵PLA₂の割合と血清総IP-PLA₂値の間に相関はみられなかった。

〔総括〕

1. ヒト血清中に膵PLA₂の活性型とproenzymeが存在することを明らかにした。
2. ERP後血清中に上昇する膵PLA₂は健常者と同じく殆どがprophospholipase A₂であることを示

した。ERP後には膵PLA₂の活性化は殆ど起こらないものと考えられた。

3. 急性膵炎の初期において血清IP-PLA₂中に占める活性型膵PLA₂の割合が増加していることを明らかにした。活性型膵PLA₂の測定は急性膵炎の早期診断及び臨床経過の把握に有用であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、健常人、内視鏡的逆行性膵管造影（ERP）施行例、及び急性膵炎症例について、逆相高速液体クロマトグラフィーとRIAを用いて血中膵 phospholipase A₂ (PLA₂) を分画し、各分画の PLA₂ 活性を測定して対比検討したものである。その結果、ヒト血清中に膵 PLA₂ の活性型と proenzyme が存在することを明らかにした。また、ERP後血清中に上昇する膵 PLA₂ は健常人と同じく殆どが pro phospholipase A₂ であるのに対し、急性膵炎の病初期においては血清中の活性型膵 PLA₂ の割合が増加していることを明らかにした。本研究は、膵 phospholipase A₂ の血中存在様式に関する重要な知見を提供した点で有意義であり、学位に値すると考えられる。