



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	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37819">https://hdl.handle.net/11094/37819</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていない ため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利 用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka- u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文につい て</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名 ・ (本籍)	やま 山	もと 本	かず 和	こ 子
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	第	9 8 5 4		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 <sub>2</sub> 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 A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) 酵素活性が上昇することが報告されており、PLA<sub>2</sub>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PLA<sub>2</sub>、すなわちⅠ群（膵型）PLA<sub>2</sub>とⅡ群（マムシおよびクサリヘビ科ヘビ毒型）PLA<sub>2</sub>が存在することが知られており、また膵炎以外でも、ARDSや重症敗血症などの炎症性非膵疾患においても血清PLA<sub>2</sub>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PLA<sub>2</sub>酵素活性は、Ⅰ群あるいはⅡ群のいずれの型のPLA<sub>2</sub>であるのかは明らかにされていない。膵PLA<sub>2</sub>は他の膵酵素同様、zymogen (pro-phospholipase A<sub>2</sub>) 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PLA<sub>2</sub>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PLA<sub>2</sub>免疫活性(IP-PLA<sub>2</sub>)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-PLA<sub>2</sub>を測定し、さらに逆相HPLCを用いて血清IP-PLA<sub>2</sub>中に占める活性型膵PLA<sub>2</sub>の割合を検討した。

## 〔方 法〕

健常者 6 名（男性 4 名，女性 2 名， $31 \pm 5$  歳），ERP 施行例 8 名（男性 5 名，女性 3 名， $51 \pm 16$  歳）及び急性膵炎 15 名（男性 10 名，女性 5 名， $54 \pm 17$  歳）を対象に血清 IP-PLA<sub>2</sub> を測定し，さらに逆相 HPLC を用いて血清 IP-PLA<sub>2</sub> 中に占める活性型膵 PLA<sub>2</sub> の割合を検討した。IP-PLA<sub>2</sub> はヒト活性型膵 PLA<sub>2</sub> 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-Pak C<sub>18</sub> にて抽出後，逆相 HPLC により分離した。カラムは Shim-pack CLC-ODS（6×150 mm）を用い，0.1% トリフルオロ酢酸を初期溶出液として流速 1 ml/min で 15～35% アセトニトリルによる直線勾配にて PLA<sub>2</sub> を分離した。HPLC により得られた免疫活性ピークについて，PLA<sub>2</sub> 酵素活性を測定した。PLA<sub>2</sub> 酵素活性は PLA<sub>2</sub> 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。PLA<sub>2</sub> 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 5C8-300，2.1×100 mm）にて分析した。

## 〔成 績〕

### 1. 血清 IP-PLA<sub>2</sub> 値の測定

血清中 IP-PLA<sub>2</sub> 値は ERP 施行前において  $0.23 \pm 0.01$  pmol/ml であり，造影剤注入後 15 分では  $3.3 \pm 0.5$  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  $10.0 \pm 5.9$  pmol/ml，5 日以後の症例では  $2.5 \pm 1.0$  pmol/ml であり，健常群（ $0.17 \pm 0.03$  pmol/ml）に比べ高値であった。

### 2. 血清 IP-PLA<sub>2</sub> の HPLC による分析

血清中 IP-PLA<sub>2</sub> 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 PLA<sub>2</sub> と同じ位置に認められ，PLA<sub>2</sub> 酵素活性を有していたが，おくれて溶出された疎水性のより強い成分には PLA<sub>2</sub> 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 PLA<sub>2</sub> 酵素活性測定により分析したところ，精製ヒト活性型膵 PLA<sub>2</sub> と同じ位置に溶出され，PLA<sub>2</sub> 酵素活性が出現した。以上より，ヒト血清中に膵 PLA<sub>2</sub> の活性型と proenzyme が存在することを明らかにした。

### 3. 血清 IP-PLA<sub>2</sub> 中に占める活性型膵 PLA<sub>2</sub> の割合

ERP 後における血清中活性型膵 PLA<sub>2</sub> は血清 IP-PLA<sub>2</sub> 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 PLA<sub>2</sub> は，発症 4 日以内の症例では血清 IP-PLA<sub>2</sub> 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-PLA<sub>2</sub> 中に占める活性型膵 PLA<sub>2</sub> の割合と血清総 IP-PLA<sub>2</sub> 値の間に相関はみられなかった。

## 〔総 括〕

1. ヒト血清中に膵 PLA<sub>2</sub> 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 PLA<sub>2</sub> は健常者と同じく殆どが phospholipase A<sub>2</sub> であることを示

した。ERP後には膵PLA<sub>2</sub>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-PLA<sub>2</sub>中に占める活性型膵PLA<sub>2</sub>の割合が増加していることを明らかにした。活性型膵PLA<sub>2</sub>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 A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) を分画し、各分画の PLA<sub>2</sub> 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 PLA<sub>2</sub> 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 PLA<sub>2</sub> は健常人と同じく殆どが phospholipase A<sub>2</sub> 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 PLA<sub>2</sub> 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 A<sub>2</sub> 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。