

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	
oaire:version	
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

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 <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-PakC<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（6×150mm）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 5C8-300，2.1×100mm）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，おぐ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prophospholipase 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 pro 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。