

Title	膵管胆道合流異常における膵炎の発生に関する実験的研究 : 膵 Phospholipase A2 の活性化を中心に
Author(s)	中村, 哲郎
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/38706
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	なかむらてつろう 中村哲郎
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11175 号
学位授与年月日	平成6年3月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	膵管胆道合流異常における膵炎の発生に関する実験的研究 — 膵 Phospholipase A ₂ の活性化を中心に —
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 正 (副査) 教授 岡本 光弘 教授 森 武貞

論文内容の要旨

【目的】

先天性胆道拡張症は小児の代表的な外科的胆道疾患の一つである。本症が膵管胆道合流異常を高率に合併しこれが胆道癌をはじめとする各種胆道・膵疾患を続発することは広く知られている。中でも本症が膵炎をしばしば合併する事については古くよりその存在は認められて来たもののその発生機序については不明な点が多い。本症においては合流異常を介しての膵液の胆道系への逆流と胆管内での膵酵素の活性化が重要と考えられ、活性化した膵酵素が膵管へ逆流することで膵障害が惹起されることが推測される。そこで本研究では膵炎の発生に深く関与していると考えられる膵液中 PLA₂ について合流異常モデルを用いてその活性化の有無についての検討を行い、更に膵障害との関係、及び膵組織中での PLA₂ の分布を明らかにせんとした。

【方法】

ラットにおいて総胆管に数本の膵管が流入する解剖学的特徴を利用しての実験モデルを作成し検討した。実験動物は体重250g前後の雄性ウイスターラット208匹を用い、以下の3群に分類した。Group1 (胆汁膵液混合群・合流異常群;64匹) 総胆管内で胆汁と膵液が混合し且つ内圧上昇をきたすべく、総胆管末端部を結紮した群。Group 2 (膵液単独群;64匹): 膵管内圧上昇のみによる影響をみるべく、肝門部胆管と総胆管末端部の2カ所を結紮した群。Group 3 (単開腹群;64匹)。各群ラットを術後6時間から7日目まで総胆管内液を採取後脱血屠殺した。術前値の測定には別に16匹を供した。PLA₂ 活性の測定はHPLC法にて行い、また活性型およびPro-PLA₂ の検索は抗ラット膵PLA₂ 血清を用いImmunoblot法(Westernblot)にて行った。組織学的検索はHematoxylin-Eosin染色法にて行い、抗ラット膵PLA₂ 血清を用いたABC染色法にて膵組織内のPLA₂ の分布を検索した。なおモデル実験に先だって、PLA₂ 活性値の測定条件とImmunoblot法での活性型PLA₂ とPro-PLA₂ の分離条件の検討を行った。

【成績】

PLA₂ 活性値の測定においては基質として1-palmitoyl-2-oleoylsn-glycero-3-phosphocholine (POPC) を用い5mM CaCl₂, 1mM POPC₃, 6mM sodium cholate, 0.1M Tris-HCl (pH8.5), 0.1M NaCl の条件下で試料と反応させ、生じた脂肪酸のADAM誘導体を88% (V/V) acetonitrileを溶出剤としたRainin Microsorb C8カラムを用いた逆相HPLCにて測定することで他の酵素の影響をほとんど無視でき活性値が正確に測定できることがわかった。Immunoblot法では18%Gel濃度のSDS-poly-acrylamide Gelを用いた非還元条件下の電気泳動法で展開することで

活性型 PLA₂ と Pro-PLA₂ が明瞭に分離できた。

合流異常実験モデルにおいて総胆管内 PLA₂ の活性値は Group 1 では術後 6 時間目より上昇し 2 日目に最大値をとり以後漸減した。Group 2 では術後全経過において術前値より低値を示した。Immunoblot では Group 1 で術後 6 時間目からほぼ全経過において総胆管胆汁中に活性型 PLA₂ が検出されたが、Group 2 では術後全経過を通じて活性型 PLA₂ は検出されなかった。組織学的には Group 2 では間質性膵炎の経過をとったが、Group 1 では術後 18 時間目から 2 日目にかけて膵腺房細胞の壊死像が認められ、PLA₂ 染色においては Group 1 で見られた膵腺房細胞の還死組織周辺部に PLA₂ の濃い染色部が認められた。

【総括】

膵管胆道合流異常における胆汁中での膵酵素の活性化と膵障害との関係を明かにする目的で実験モデルを作成し、総胆管内の膵 PLA₂ の活性値の測定および活性型 PLA₂ ・ Pro-PLA₂ の検出を経時的に行い、またこれに伴う膵障害の程度を組織学的に検索した。更に膵組織中での膵 PLA₂ の分布を免疫組織学的に検索し、以下の結果を得た。

1. PLA₂ 活性値の測定では他の酵素の影響をほとんど無視できる条件が設定でき、Immunoblot 法では活性型 PLA₂ と Pro-PLA₂ が明瞭に分離できる条件が決定できた。
2. 胆汁と膵液が混合された群でのみ膵液中 PLA₂ の活性化がみられた事より、活性化の機序として胆汁との混合が考えられた。
3. 活性化された PLA₂ の膵管内への逆流が膵腺房細胞の壊死をもたらすことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は膵管胆道合流異常における膵炎の発生機序について実験モデルを作成し検討したものである。胆汁と膵液が混合されることで膵酵素が活性化されることを胆汁中の膵 Phospholipase A₂ (PLA₂) の活性値を測定し、Westernblot にて活性型 PLA₂ を直接検出することで証明し得た。さらに胆汁中における PLA₂ の活性化が壊死性膵炎を招来するものであることを証明した。また急性膵炎における膵組織での PLA₂ の分布を経時的に検索し得た初めての研究である。本研究は学位の授与に値するものとする。