

本研究は末梢静脈栄養法に対して代謝学的な詳しい理論上の根拠を与える学問的にも臨床的にも意義の高い仕事である。

氏 名	やま きき みつ お 山 崎 満 夫
学位の種類	博 士 (医学)
学位記番号	医 第 8 7 6 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Pancreatic and Bile Duct Obstruction Exacerbates Rat Caerulein-Induced Pancreatitis: A New Experimental Model of Acute Hemorrhagic Pancreatitis (胆膵管閉塞によるラット・セルレイン膵炎の重症化—新しい出血性膵炎モデルの作成—)
論文審査委員 (主 査)	教 授 大 柳 治 正
(副主査)	教 授 工 藤 正 俊
(副主査)	教 授 坂 田 育 弘

論 文 内 容 の 要 旨

【はじめに】

胆石性膵炎は、しばしば出血性膵炎に進展する。しかし、膵管閉塞単独では浮腫性膵炎が誘導されるのみで、その重症化機構は解明されていない。一方、セルレインによる過剰刺激により浮腫性膵炎が誘導され、セルレイン膵炎として知られているが、膵管閉塞と組み合わせて膵炎が重症化するかを解析した報告はない。

【目的と方法】

短期間の膵管閉塞がセルレイン膵炎をどのように修飾するのかを明らかにする目的で、Wistar 系雄性ラットを用いて以下の検討を行った。

まず、麻酔下に胆膵管を十二指腸流入部に結紮した。セルレイン膵炎は、セルレインを 5_g/kg/時間 で 5 ないし 6 時間持続静脈内投与し作成した。単開腹 1 時間後に生理食塩水投与を開始した群 (Sham-S)、単開腹または BPDL の 1 時間後にセルレイン投与を開始した群 (Sham-Cn、BPDL-Cn)、BPDL の 1 時間後に生理食塩水投与を開始した群 (BPDL-S)、セルレイン投与開始 1 時間後に BPDL を開始した群 (Cn-BPDL) の 5 群を作成し、モデル作成開始 6 時間後に犠牲死した。末梢血と膵を採取し、血清アミラーゼ、膵含水量、膵内 trypsin activating polypeptide (TAP) を測定するとともに、膵組織像を解析した。また、BPDL-Cn 群に蛋白質分解酵素阻害剤である nafamostat mesylate (100mg/kg) を同時投与し、その効果を解析した。

さらに、単開腹ラットと 3 時間 BPDL を行ったラットから単離膵腺房を調整し、無刺激、CCK8 による最大刺激 (1×10^{-10} M)、および過剰刺激 (1×10^{-8} M) における 20 分間のアミラーゼ分泌、細胞内トリプシン活性化、LDH 分泌を測定した。

【結果】

BPDL-Cn は出血性膵炎となっていたが、Sham-Cn、BPDL-S、Cn-BPDL は浮腫性膵炎にとどまり、Sham-S は正常膵であった。血清アミラーゼ値、膵含水量、膵内 TAP はセルレイン投与で上昇したが BPDL-Cn で最も高値であった。また、nafamostat mesylate 投与により BPDL-Cn 群の膵出血の程度が軽減し、血清アミラーゼ値も低下した。

一方、BPDL を行ったラットから調整した単離膵腺房では、分泌反応が低下しており、CCK 8 過剰刺激により膵内の trypsin 活性が著明に亢進し、細胞外に漏出する LDH 量も増加していた。

【考察】

BPDL は、セルレイン膵炎に先行した場合に、浮腫性膵炎を出血性膵炎に増悪させた。BPDL による分泌障害がセルレイン過剰刺激による分泌障害に先行して重複した場合に、膵内トリプシン活性化が増幅され、細胞障害が増悪して重症化したものと考えられた。

【結論】

胆膵管閉塞が膵外分泌過剰刺激に先行した場合、膵炎を重症化させる。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2006 年 4 月 日 公表予定	出版物名 Journal of Gastroenterology Vol. 41 No. 4
	公 表 内 容	2006 年 4 月 日 発行予定
	全 文	

論文審査結果の要旨

胆石性膵炎はしばしば出血性膵炎に進展し重症化するが、その機序は明らかにされていない。その重症化機構を解明することは、初期治療方針の理論的根拠の確立につながり、本疾患の治療成績向上に貢献するものと考えられる。申請者は、この胆石性膵炎の重症化機構を解明する目的で、新しい急性膵炎の実験モデルを作成し、*in vivo* と *in vitro* の実験的解析から、従来にはなかった重症化機構を提唱した。

胆石性膵炎の発症機序としては、1)胆汁の膵管内逆流、2)膵管閉塞、3)膵外分泌 negative feedback機構の障害による膵への過剰分泌刺激、が想定されている。しかし、胆汁の膵管内逆流はその存在が疑問視されている。一方、2)の膵管閉塞単独では腺房細胞からの膵酵素分泌が障害され、腺房細胞内に酵素原顆粒が蓄積し、浮腫性膵炎が誘導されることがすでに明らかにされている。また、3)の分泌過剰刺激は、コレシストキニンのアナログであるセルレインの過剰投与により、実験的に再現される。このモデルでは、腺房細胞内における酵素原顆粒の細胞内輸送が障害され、酵素原顆粒がライソゾームと癒合して、膵酵素がライソゾーム酵素により活性化されることが知られている。その結果、セルレイン膵炎として知られる急性膵炎が誘導されるが、このモデルも浮腫性膵炎に留まり、出血性膵炎などの重症膵炎には至らない。しかし、胆石性膵炎の発症機序である、上記の2要素、すなわち、膵管閉塞とセルレイン膵炎を組み合わせると膵炎が重症化するかを解析した報告はない。

申請者は、短期間の膵管閉塞がセルレイン膵炎をどのように修飾するのかを明らかにする目的で、Wistar系雄性ラットを用いてまず *in vivo* の実験的解析を行った。膵管閉塞は、麻酔下に胆膵管を十二指腸流入部に結紮することにより作成し、対照群として単開腹を行った。セルレイン膵炎は、外頸静脈に留置したカテーテルからセルレインを5 μ g/kg/時で持続静脈内投与して作成し、対照群では生理食塩水を投与した。そして、胆膵管結紮とセルレイン膵炎を、それぞれの対照と組み合わせるとモデルを作成した。実験開始後6時間で犠牲死し、解析に供した。その結果、単開腹1時間後に

セルレイン膵炎を作成した群、胆膵管結紮に生食投与を行った群、セルレイン投与開始1時間後に胆膵管結紮を行った群では、浮腫性膵炎にとどまったが、胆膵管結紮1時間後にセルレイン膵炎を作成した群では出血性膵炎となった。この、出血性膵炎モデルは従来報告されていない新規な出血性膵炎モデルである。血清アミラーゼ値、膵含水量、膵内トリプシン活性化量はすべてのセルレイン投与群で上昇したが、出血性膵炎をきたした結紮先行群で最も高値であった。

また、この出血性膵炎の成立に膵酵素の活性化が関与するかを検証する目的で、蛋白分解酵素阻害剤nafamostat mesylate投与を行ったところ、nafamostat mesylateの同時投与により同群の膵出血の程度が軽減し、血清アミラーゼ値も低下した。このことから、この新しい出血性膵炎モデルの出血性膵炎成立機構には、膵内におけるトリプシンなどの蛋白分解酵素の活性化が関与していることが示された。

さらに、申請者は、新しい出血性膵炎モデルの成立機構における胆膵管結紮の関与を腺房細胞レベルで解明する目的で、*in vitro* の実験を行っている。すなわち、胆膵管結紮を3時間行ったラット、および単開腹処置を行ったラットから、Williamsの方法に準じて、コラゲナーゼ処理により単離膵腺房を調整した。これらの単離膵腺房を用いて酵素分泌反応、膵内trypsin活性化と細胞の脆弱性を、各種濃度のコレシストキニン分泌刺激下で測定した。なお、腺房細胞の脆弱性は、培養液中へ漏出するLDH量により判定した。その結果、胆膵管結紮を行ったラットから調整した単離膵腺房では、対照群に比較して、すべての濃度のコレシストキニンに対する分泌反応が障害されており、分泌過剰刺激下では、腺房細胞内のtrypsin活性が著明に亢進し、細胞の脆弱性が亢進する結果が得られた。

この結果から、胆膵管結紮による分泌障害がセルレイン過剰刺激による分泌障害に先行して重複した場合に、膵内トリプシン活性化が増幅され、細胞障害が増悪して重症化するものと考えられた。

以上より、胆膵管結紮がセルレインによる過剰分泌刺激に先行した場合に、浮腫性膵炎が出血性膵炎へと重篤化することが明らかとなった。本研究成
果は、従来不明であった胆石性膵炎の重症化機構解明の端緒となるのみならず、胆石性膵炎の初期治療における胆膵管ドレナージの重要性を支持する理論的根拠となり、臨床的意義も高い。さらに、生理的な膵炎重症化モデルを新規に作成した意義も併せ持っており、本研究は、胆石性膵炎に関する重要な知見を得たものとして価値ある集積と認める。よって、本研究者は、医学博士の学位を得る資格があると認める。

氏名	まつ ぎき とも ひに 松 崎 智 彦
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	医 第 8 7 7 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	大腸癌患者における末梢血単珠グルタチオン含量 と腫瘍局所免疫機構との関連

論文審査委員 (主査)	教授	塩 崎	均
(副主査)	教授	植 村	天 受
(副主査)	教授	宮 澤	正 顯