



Enhancement of secretagogue-induced phosphoinositide turnover and amylase secretion by bile acids in isolated rat pancreatic acini

竹山, 宜典

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1988-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0725

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000725>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	たけ やま よし ふみ (兵庫県) 竹 山 宣 典
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博い第584号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与の日付	昭和63年3月31日
学位論文題目	Enhancement of Secretagogue-induced Phosphoinositide Turnover and Amylase Secretion by Bile Acids in Isolated Rat Pancreatic Acini (ラット単離膵腺房における分泌刺激物質により惹起されたイ ノシトール磷脂質の代謝回転とアミラーゼ分泌の胆汁酸による 促進現象)
審査委員	主査 教授 斎 藤 洋 一 教授 西 塚 泰 美 教授 岩 井 誠 三

論文内容の要旨

[序 文]

古来、胆石と膵炎は密接な関係があり、しかも胆汁酸が重要な役割を果たしていると考えられているが、膵炎の本態である膵の自己消化に至る一連の過程で胆汁酸の果たす役割については十分に解明されていない。本論文では、高濃度の胆汁酸の細胞膜破壊作用ではなく、微量の胆汁酸の存在が膵外分泌にどのような影響を及ぼしているかを検討することを目的として実験を行った。

[実験方法]

Williamsの方法を用いてコラゲナーゼ処理により分離したラットの膵腺房に、カルバコールなどの分泌刺激物質を作用させてアミラーゼ分泌を測定した。イノシトール磷脂質の代謝回転は、 $[^{32}\text{P}]\text{Pi}$ により標識された膵腺房を分泌刺激物質と反応させた後のホスファチジルイノシトールへの放射活性の取り込みにより測定した。ジグリセリドの生成は、 $[^3\text{H}]\text{アラキドン酸}$ により標識した膵腺房を分泌刺激物質と反応させた後のジグリセリドの放射活性により測定した。イノシトール磷脂の生成は、膵腺房を $[^3\text{H}]\text{イノシトール}$ にて標識し、分泌刺激物質と反応させた後の各イノシトール磷脂の放射活性により測定した。細胞質内への Ca^{2+} 動員は Ca^{2+} 感受性色素である quin 2 を用いて測定した。また、ムスカリン受容体およびコレシストキニンの受容体への分泌刺激物質の結合親和性は、それぞれ $\text{N}-[^3\text{H}]\text{-メチルスコポラミン}$ と ^{125}I にてラベルした CCK_8 を用

いて測定した。

【実験結果】

二次胆汁酸であるデオキシコール酸は、カルバコールやCCK₈の分泌刺激物質の膵腺房からのアミラーゼ分泌における容量反応曲線を左方に移動させた。この分泌促進作用は分泌刺激物質の submaximal 濃度で著明であり、最大濃度ではほとんど認められなかった。この分泌促進作用は 0.1~0.5mM の範囲でデオキシコール酸の濃度に依存性であった。しかし、デオキシコール酸単独では分泌反応を起こさず、この濃度範囲では膵腺房の破壊は認められなかった。このような分泌刺激物質に対する膵腺房の感受性増強効果はコール酸、タウロコール酸等の他の胆汁酸にも認められた。また、カルバコールやCCK₈により引き起こされるイノシトール磷脂質の代謝回転およびジグリセリド生成も、アミラーゼ分泌と同様に、低濃度のデオキシコール酸により濃度依存性に促進された。これらの促進効果も分泌刺激物質の submaximal 濃度で著明で、最大濃度ではほとんどみとめられなかった。分泌刺激物質によりひきおこされるイノシトール磷脂の生成については、イノシトール-1-リン酸およびイノシトール-2-リン酸の生成は低濃度のデオキシコール酸により促進されたが、イノシトール-3-リン酸の生成は影響を受けなかった。一方、分泌刺激物質によって引き起こされる細胞質内へのCa²⁺動員、および膵腺房のムスカリン受容体およびコレシストキニンの受容体に対する分泌刺激物質の結合親和性は、低濃度のデオキシコール酸の存在により影響されなかった。さらに、発癌プロモーターである12-O-テトラデカノイルホルボル13-アセテート (TPA) を細胞に作用させると、ジグリセリドの作用を代行してCキナーゼを活性化し、増殖、分泌等の細胞機能を発現させ得ることが知られており、Ca²⁺イオノフォアであるイオノマイシンとともに膵腺房に作用させると、カルバコールあるいはCCK₈により引き起こされるアミラーゼ分泌を模倣することができるが、このアミラーゼ分泌は低濃度のデオキシコール酸の存在によって影響されなかった。

【考 察】

胆汁酸は溶血現象を起こすことで知られているように、その界面活性作用に由来する細胞膜破壊作用を持っている。従来、胆石性膵炎発症時においても、胆汁酸によって膵腺房細胞膜が破壊され、大量の膵酵素が遊離されて膵の自己消化を引き起こすと考えられてきた。本論文では、従来報告されてきた高濃度の胆汁酸による膵腺房細胞破壊作用とは異なり、膵腺房細胞を破壊しない、ごく微量の胆汁酸が膵外分泌腺のアセチルコリンやコレシストキニンに対する感受性を高めて消化酵素の分泌を促進することを報告した。さらに膵外分泌腺におけるアセチルコリンやコレシストキニンなどの分泌刺激物質の受容体伝達機構に対し、胆汁酸がどのように作用するかを検討し、その作用機序を部分的に明らかにした。即ち、デオキシコール酸などの胆汁酸は分泌刺激に対する細胞膜のイノシトール磷脂質の代謝回転を促進することにより、消化酵素の分泌を促進していた。さらに、この促進効果は0.1~0.5mMの範囲で胆汁酸の濃度に依存していた。

一方、胆汁酸の膵管内への注入は、実験的膵炎作成法として最もよく用いられているが、この際、膵管内圧が上昇しないような条件下では、膵管内を胆汁酸で還流しても膵炎は生じないことは明らかになっている。膵管内圧を上昇させると、胆汁酸は膵管腺房接合部より腺房周囲腔に達し、このような条件下では膵腺房細胞は腺房腔側のみならずアセチルコリンやコレシストキニンの受容体が存在する基底側も胆汁酸と接触するようになる。ここで、胆汁酸濃度が数mM以上の高濃度であった場合、胆汁酸の細胞膜破壊作用によって多量の消化酵素が放出され膵炎を引き起こす。ところが、本論文において初めて示された如く、低濃度の場合でも高濃度の場合の作用機序とは異なり、胆汁酸は膵腺房の分泌刺激物質に対する感受性を高め、消化酵素の過剰分泌を引き起こすことが明らかになった。この低濃度の胆汁酸による消化酵素の過剰放出反応が、大量の膵の自己消化を本能とする、急性膵炎に至る悪循環の最初の引き金になる可能性が十分にあると考えられる。

【結 語】

- 1) 分泌刺激物質によって引き起こされる膵腺房からのアミラーゼ分泌は、細胞膜破壊をきたさない低濃度の胆汁酸によって容量依存性に促進された。
- 2) この胆汁酸による分泌促進作用は、分泌刺激物質に対する膵腺房の受容伝達機構のうち、イノシトール燐脂質の代謝回転、即ちジグリセリドおよびイノシトール燐酸の生成における分泌刺激物質に対する感受性増強によるものと考えられた。
- 3) この胆汁酸による消化酵素の過剰放出反応が、急性膵炎に至る悪循環の引き金になり得ると考えられ、膵炎発症初期において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

古来、胆石と膵炎は密接な関係があり、しかも胆汁酸が重要な役割を果たしていると考えられているが、膵炎の本態である膵の自己消化に至る一連の過程で胆汁酸の果たす役割については十分に解明されていない。本論文では、高濃度の胆汁酸の細胞膜破壊作用ではなく、微量の胆汁酸の存在が膵外分泌にどのような影響を及ぼしているかを検討することを目的として実験を行った。

実験方法は、Williamsの方法を用いてコラゲナーゼ処理により分離したラットの膵腺房に、カルバコールなどの分泌刺激物質を作用させてアミラーゼ分泌を測定し、イノシトール燐脂質の代謝回転は、 $[^{32}\text{P}] \text{Pi}$ により標識された膵腺房を分泌刺激物質と反応させた後のホスファチジルイノシトールへの放射活性の取り込みにより測定した。ジグリセリドの生成は、 $[^3\text{H}]$ アラキドン酸により標識した膵腺房を分泌刺激物質と反応させた後のジグリセリドの放射活性により測定した。イノシトール燐酸の生成は、膵腺房を $[^3\text{H}]$ イノシトールにて標識し、分泌刺激物質と反応させた後の各イノシトール燐酸の放射活性により測定した。細胞質内への Ca^{2+} 動員は Ca^{2+} 感受性色素であるquin 2を用いて測定した。また、ムスカリン受容体およびコレシストキニンの受容体へ

の分泌刺激物質の結合親和性は、それぞれN-[³H]-メチルスコポラミンと¹²⁵IにてラベルしたCCK₈を用いて測定した。

その結果次の様な成績を得た。すなわち、二次胆汁酸であるデオキシコール酸は、カルバコールやCCK₈の分泌刺激物質の膵腺房からのアミラーゼ分泌における容量反応曲線を左方に移動させ、この分泌促進作用は分泌刺激物質のsubmaximal濃度で著明であり、最大濃度ではほとんど認められなかった。この分泌促進作用は0.1~0.5mMの範囲でデオキシコール酸の濃度に依存性であった。しかし、デオキシコール酸単独では分泌反応を起こさず、この濃度範囲では膵腺房の破壊は認められなかった。このような分泌刺激物質に対する膵腺房の感受性増強効果はコール酸、タウロコール酸等の他の胆汁酸にも認められた。また、カルバコールやCCK₈により引き起こされるイノシトール燐脂質の代謝回転およびジグリセリド生成も、アミラーゼ分泌と同様に、低濃度のデオキシコール酸により濃度依存性に促進された。これらの促進効果も分泌刺激物質のsubmaximal濃度で著明で、最大濃度ではほとんどみとめられなかった。分泌刺激物質よりひき起こされるイノシトール燐酸の生成については、イノシトール-1-燐酸およびイノシトール-2-燐酸の生成は低濃度のデオキシコール酸により促進されたが、イノシトール-3-燐酸の生成は影響を受けなかった。一方、分泌刺激物質によって、引き起こされる細胞質内へのCa²⁺動員、および膵腺房のムスカリン受容体およびコレシストキニンの受容体に対する分泌刺激物質の結合親和性は、低濃度のデオキシコール酸の存在により影響されなかった。さらに、発癌プロモーターである12-O-テトラデカノイルホルボール13-アセテート (TPA) を細胞に作用させると、ジグリセリドの作用を代行してCキナーゼを活性化し、増殖、分泌等の細胞機能を発現させ得ることが知られており、Ca²⁺イオノフォアであるイオノマイシンとともに膵腺房に作用させるとカルバコールあるいはCCK₈により引き起こされるアミラーゼ分泌を模倣することができるが、このアミラーゼ分泌は低濃度のデオキシコール酸の存在によって影響されなかった。

その成績から次の様な結論を導いている。すなわち、

- (1)分泌刺激物質によって引き起こされる膵腺房からのアミラーゼ分泌は細胞膜破壊をきたさない低濃度の胆汁酸によって容量依存性に促進された。
- (2)この胆汁酸による分泌促進作用は、分泌刺激物質に対する膵腺房の受容伝達機構のうち、イノシトール燐脂質の代謝回転、即ちジグリセリドおよびイノシトール燐酸の生成における分泌刺激物質に対する感受性増強によるものと考えられた。
- (3)この胆汁酸による消化酵素の過剰放出反応が、急性膵炎に至る悪循環の引き金になり得ると考えられ、膵炎発症初期において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

本研究は、胆石症と膵炎との相関について、胆汁酸の膵細胞に対する影響を研究したものであるが、従来まったく行われていなかった胆汁酸による膵酵素分泌促進現象について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。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。