

- 3) Haralson MA. Extracellular matrix and growth factors: an integrated interplay controlling tissue repair and progression to disease. *Lab Invest.* 1993; 369-72.
- 4) Ruoslahti E, Yamaguchi Y. Proteoglycans as modulators of growth factor activities. *Cell* 1991; 64: 867-9.
- 5) Turck J, Pollock AS, Lee LK, Marti HP, Lovett DH. Matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A) regulates glomerular mesangial cell proliferation and differentiation. *J Biol Chem* 1996; 271: 15074-83.
- 6) Tyagi SC, Kumar S, Glover G. Induction of tissue inhibitor and matrix metalloproteinase by serum in human heart-derived fibroblast and endomyocardial endothelial cells. *J Cell Biochem* 1995; 58: 360-71.
- 7) Salo T, Makela M, Kylmaniemi M, Autio-Harmainen H, Larjava H. Expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 during early human wound healing. *Lab Invest* 1994; 70: 176-82.
- 8) Moses MA, Marikovsky M, Harper JW, Vogt P, Eriksson E, Klagsbrun M, Langer R. Temporal study of the activity of matrix metalloproteinases and their endogenous inhibitors during wound healing. *J Cell Biochem* 1996; 60: 379-86.
- 9) Cao J, Sato H, Takino T, Seiki M. The C-terminal region of membrane type matrix metalloproteinase is a functional transmembrane domain required for pro-gelatinase A activation. *J Biol Chem* 1995; 270: 801-5.

## 慢性膵炎の主膵管狭窄に対する内視鏡的治療の検討

研究報告者 税 所 宏 光

千葉大学第一内科

共同研究者 石 原 武 山 口 武 人

**要旨：**【目的】慢性膵炎に合併する主膵管狭窄のうち、尾側の膵液うっ滞による有症状例に対しては膵管ステントが有効である。しかしながら、従来より用いられている膵管ステントは、いずれもストレート型の胆管ドレナージ用ステントを流用したものであり、屈曲した主膵管頸部を越えて留置した場合、逸脱しやすい。この欠点を補うべく、膵管用に新たに開発されたステント (tilde-shaped stent) を用いた膵管ステント留置術の治療成績につき検討を行なった。

【対象】膵管造影にて頭部主膵管狭窄と、尾側の主膵管拡張を呈した有症状、慢性膵炎5例（男性5例、平均年齢54.7歳）を対象とした。

【方法】Tilde-shaped stent は Olympus 社製の試作品で、形状が主膵管の走行に合わせて tilde 型(～)に造形されている。材質は柔軟性を有するプラスチック製で、径10Fr、ステント長85mm、ステント両端より8mm内側に side flap を有し、径2mmの側孔付きのものを用いた。

【結果】Tilde-shaped stent は全例で膵管内に留置可能であった。留置直後の症状再燃は認められず留置継続が可能であった。留置後87.2日(21～182日)の平均観察期間でステント逸脱は無く、膵液うっ滞兆候も認められていない。

【結語】短期間の経過観察であるが、慢性膵炎に合併する主膵管狭窄に対し、tilde-shaped stent は症状改善に有用であった。

### 背 景

我々は、慢性膵炎に合併する主膵管狭窄のうち、尾側の膵液うっ滞による有症状例に対しては、ステントを留置継続することにより長期間膵炎症状を鎮えることが可能であることを報告してきた<sup>1)</sup>。従来より用いている膵管用ステントは、ストレート型の胆管ドレナージ用ステントを流用したものであり、屈曲した主膵管頸部を越えて留置した場合、逸脱しやすく、またステント先端と膵管壁との接触により膵管系に炎症性変化が現れることが報告されている<sup>2)</sup>。

### 目 的

ストレート型ステントの欠点を補うべく、膵管用に新たに開発されたステント (tilde-shaped stent) を用いた膵管ステント留置術の治療成績につき検討を行なった。

## 対 象

ストレート型ステントを継続留置中の慢性膵炎 5 例（男性 5 例，平均年齢 54.7 歳）を対象とした。いずれも膵管造影にて頭部主膵管狭窄と，尾側の主膵管拡張を呈した有症状例であり，画像所見，臨床所見より併存する悪性疾患を除外可能であった症例である。文書による同意が得られた患者に対し，既存のステント交換時に tilde-shaped stent を留置した。比較対照として，ストレート型ステントを留置継続した 15 症例（男性 13 例，女性 2 例，平均年齢 50.1 歳）の治療成績を用いた。

## 方 法

Tilde-shaped stent は Olympus 社製の試作品で，形状が tilde 型（～）にあらかじめ造形されている（図 1）。材質は柔軟性を有するプラスチック製で，径 10Fr，ステント長 85mm および 105mm，ステント両端より 8mm 内側に片側 side flap を有し，径 3mm の側孔付きのものを用いた。ストレート型ステントには，径 10Fr の Boston Scientific 社製 solopass stent（ステント長 50mm，70mm）を用いた（図 2）。

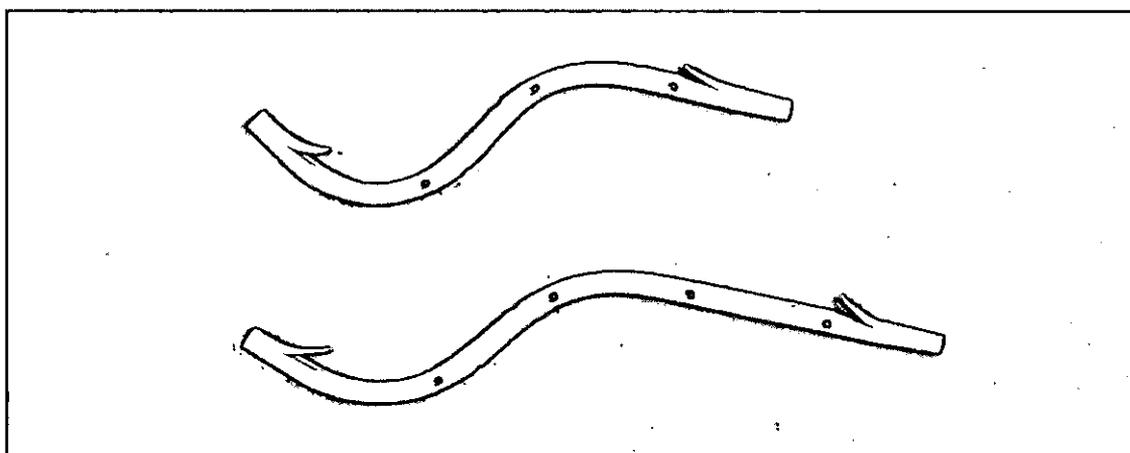


図 1

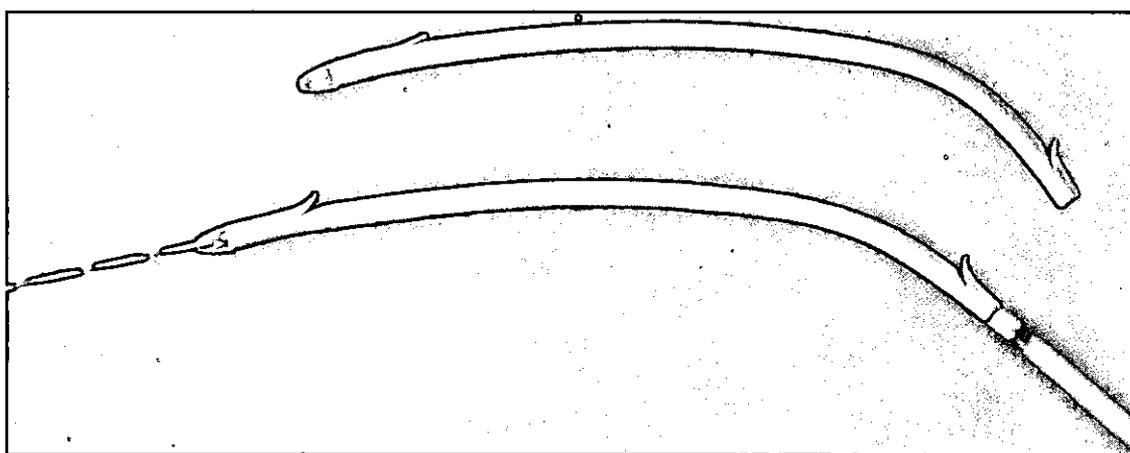


図 2

ステント留置の手技は、胆管ステント留置と同様に行った。鉗子孔径4.2mmの Olympus 社製処置用十二指腸内視鏡 (TJF type200) を用い、あらかじめ膵管造影により狭窄の部位、長さ、程度を把握し、適合する長さのステントを選択した。膵管内に造影カテーテルを選択的に挿入し、ガイドワイヤーを主膵管狭窄部より尾側膵管まで通し、ガイドワイヤーにかぶせて径1.7mmのガイドカテーテルを挿入した。このガイドカテーテルの先端部には、X線不透過マーカーが付いており、狭窄部を確実に越えたことを確認した後に留置した。次いでガイドカテーテルにかぶせて tilde-shaped stent を挿入し、更に径3.2mmのプッシャーチューブをガイドカテーテルにかぶせて挿入し、ステントを押し進めた。X線透視下にステント遠位端が狭窄部を越えたことを確認し、かつ内視鏡下にステント近位端が十二指腸内腔に現れた後、同部をプッシャーチューブにて押さえながらガイドワイヤーとガイドカテーテルを引き抜き、ステントを release した。

## 結 果

Tilde-shaped stent は全例で膵管内に留置可能であった。留置直後の症状再燃は認められず留置継続が可能であった。留置後87.2日 (21~182日) の平均観察期間でステント逸脱は無く、膵液うっ滞兆候も認められていない。

一方、ストレート型ステントは、ステント閉塞兆候が出現するごとにステント交換をしながら留置継続し、平均観察期間717日 (23~1706日) で、15症例に対し総計38回のステント留置を行った。1本のステントで閉塞症状を起こさずに留置可能であった期間は、平均298日 (19~1146日) であった。合併症としては重篤なものは認めなかったが、ステント逸脱が5回 (13.2%) あり、全例で再狭窄による膵液うっ滞兆候が留置後比較的早期 (平均33日: 19~62日) より出現した。

## 症 例

47歳男性のアルコール性慢性膵炎、膵石症患者。心窩部痛、背部痛にて来院。膵管造影にて頭部主膵管に狭窄と尾側膵管の拡張、および膵管内膵石を認めた (図3)。Basket 鉗子にて膵石除去後、膵管狭窄に対し tilde-shaped stent を留置した (図4)。ステント留置後、症状軽快した。

## 考 察

従来より報告されている膵管ステントは、胆管用に開発されたストレートタイプのステントを膵管に応用したものである。当科にて使用していた Boston scientific 社製の solopass stent もストレートタイプのステントであるが、柔軟性に富んでおり、留置後、膵管の走行に応じて抵抗なく挿入することが可能であり、留置直後より膵液うっ滞解消による症状消失がみられる点で優れていた。1ステント当たりの有効期間も平均290日であり、留置継続としても約10ヶ月に1度交換することで長期間の症状消失が得られた。

しかしながら、留置後比較的早期 (平均33日) より膵液うっ滞兆候の出現する症例では、ほぼ全例でステントの十二指腸側への逸脱が認められた。屈曲した主膵管頸部を越えて留置した場合、ストレートタイプのステントでは経時的に乳頭側に押し出される方向に力が加わるものと考えられた。逸脱、迷入

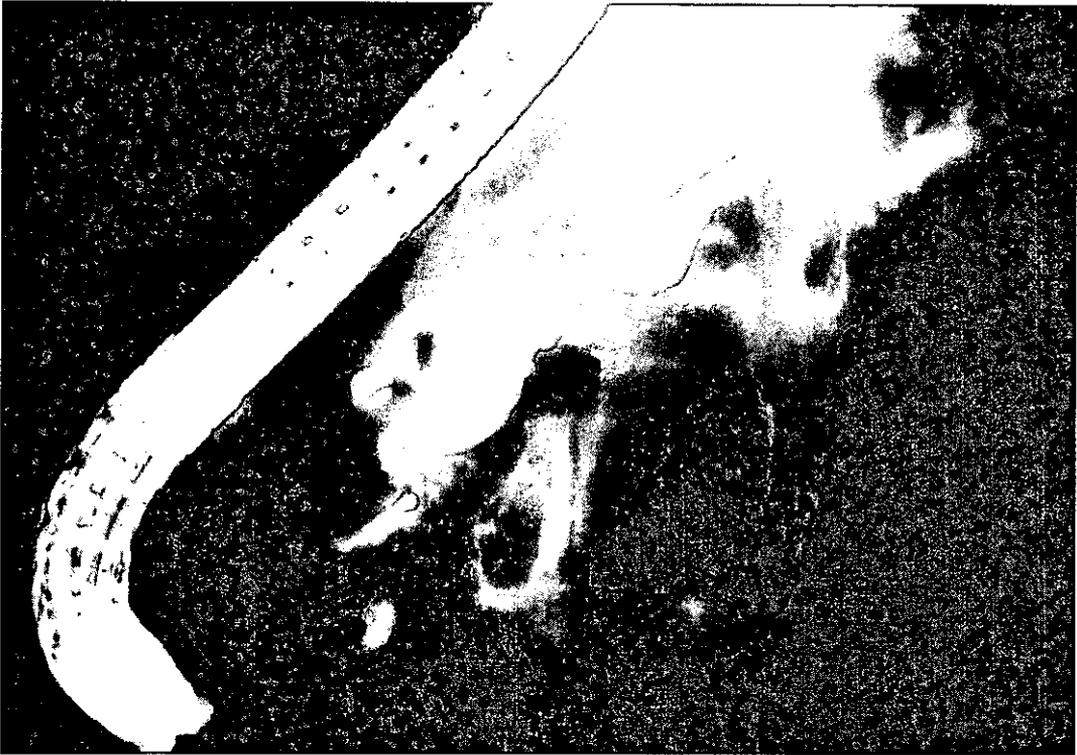


图 3



图 4

防止用にステント両端に片側 side flap があるものの、付着物等で被覆されることにより留置時位置を保持できなくなる機序も考えられた。

今回、我々が検討したステントは tilde 型 (～) にあらかじめ成型されたプラスチックステントである。この形状は、乳頭部から頭部、頸部、体部に至る主膵管の走行を想定して開発されたものである。この形状の利点は、ステントが逸脱しにくい点と、主膵管頸部を越えて体部主膵管に位置するステント遠位端の長軸が体部主膵管の長軸方向とほぼ平行になる点である。後者により、ステント先端部と膵管壁との接触は軽減され、ステント留置により懸念される膵管壁への影響を少なくしうるものと考えられる。

主膵管の形状は必ずしも同一態様ではないことより、本来、個々の症例ごとにステント形状を決めるのが望ましいが、汎用性という点から実際には困難である。本 tilde-shaped stent は材質的に柔軟性があり、留置時は実際の膵管の走行に沿う形状に変形しうる点でも優れていると思われる。今後症例を重ねるとともにより長期間の留置にて問題点が生じないか更に検討する必要がある。

## 結 語

短期間の経過観察であるが、慢性膵炎に合併する主膵管狭窄に対し、tilde-shaped stent は症状改善に有用であった。

## 参 考 文 献

- 1) 山口武人, 土屋正一, 露口利夫, 他. 膵石の治療—内視鏡的治療法と適応. 肝胆膵 1996; 33: 407-12.
- 2) Sherman S, Hawes RH, Savides TJ, et al. Stent-induced pancreatic ductal and parenchymal changes: correlation of endoscopic ultrasound with ERCP. Gastrointest Endoscopy 1996; 44: 276-82.

## 筋線維芽細胞の分布からみた慢性膵障害の解析

研究報告者 須田 耕一

順天堂大学第一病理

共同研究者 和泉 元喜 笠巻 伸二 熊坂 利夫

細川 義則 阿部 寛

**要旨：**慢性アルコール性膵炎，良性限局性膵管狭窄，十二指腸乳頭部癌，膵胆管合流異常症およびアルコール性肝硬変症例の各膵組織について，筋線維芽細胞のマーカーである $\alpha$ 平滑筋アクチンの免疫染色を行い，その分布と線維化の拡がりから慢性膵障害を比較解析した。その結果，良性限局性膵管狭窄症例の狭窄部では筋線維芽細胞は膵管上皮直下に密な増生を示した。十二指腸乳頭部癌の膵組織では，同細胞は膵障害と相関して，膵管壁のみ増生から，膵管周囲小葉内増生，さらに小葉間増生の各症例がみられた。膵胆管合流異常症例では，膵管周囲および小葉間に線維化がみられたが，筋線維芽細胞は膵管壁とその周囲のみに認められた。一方，慢性アルコール性膵炎やアルコール性肝硬変症例の膵組織では，筋線維芽細胞はそれぞれ小葉間，小葉内の線維化部位と一致して増生していた。以上より，筋線維芽細胞は膵管壁の障害や膵管内圧亢進に関連して増生し，さらにその消長は膵実質の炎症の持続・消退に関与していると考えられた。

### 緒 言

膵線維化は，従来より，その成因・病態に関して多数の報告がみられるが，最近では肝線維化と同様に筋線維芽細胞とサイトカインが中心的役割を果たすと考えられるようになった<sup>1)</sup>。しかし，大部分の報告は動物実験や培養細胞を用いたものでありヒト膵組織での検討が少ない。今回，我々は免疫組織化学的手法によって筋線維芽細胞の分布から各種の慢性膵障害の病態解析を試みた。

### 対象と方法

対象は外科的に切除された良性限局性膵管狭窄10例，十二指腸乳頭部癌44例，膵胆管合流異常症5例，慢性アルコール性膵炎17例および剖検で得られたアルコール性肝硬変14例の各膵組織である。コントロールとして肝胆膵疾患を有さず，アルコール多飲歴もない剖検20症例の膵体部組織を用いた。いずれもヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色)，弾性線維染色 (EVG 染色)，筋線維芽細胞のマーカーである $\alpha$ 平滑筋アクチンに対する免疫染色 ( $\alpha$ SMA 染色)，およびデスミンに対する免疫染色を行った。 $\alpha$ SMA 陽性かつデスミン陰性の紡錘形細胞を筋線維芽細胞と判断し，その分布と線維化の拡がりを比較した。

## 結 果

### 1) コントロール

20例はいずれも組織学的に膵実質に線維化がなく、自己融解もわずかであった。膵管は、一層の円柱上皮で覆われ、同壁には上皮直下より弾性線維が均一・全周性に分布していた(図1a)。筋線維芽細胞は膵管壁に散在していたが、腺房周囲や小葉間には認められなかった(図1b)。



図1. コントロール例の主膵管

膵管壁では上皮直下より弾性線維が均一・全周性に分布している (a)。これに対し、筋線維芽細胞は膵管壁に散在している (b)。(a: EVG 染色, b:  $\alpha$ SMA 染色, X60)

## 2) 良性限局性膵管狭窄症例

良性限局性膵管狭窄症例では、いずれも ERP 上で主膵管に限局性の狭窄がみられ、その尾側が拡張していた(図2)。組織学的に狭窄部では、膵管上皮に異型性など著変がみられなかったが、主膵管は10例中6例で増生した線維性組織により狭窄していた。膵管上皮直下のそれは、周囲よりやや好酸性を帯び、すなわち、筋線維芽細胞の密な増生よりなり、そのため弾性線維が膵管上皮と解離していた(図3 a, b)。残り4例では狭窄部の上皮下に筋線維芽細胞の増生はみられず、代って膠原線維が増加していた(表1)。

## 3) 十二指腸乳頭部癌症例膵組織

44例の検討では炎症細胞浸潤・腺房萎縮・線維化の程度から膵障害なし12例、膵障害軽度10例、同中等度10例、および同高度12例に分類された。障害なしの12例中6例では筋線維芽細胞の増生が認められなかったが、残り6例では膵管壁内にも増生がみられた。膵障害例では筋線維芽細胞はその程度に相関して膵管壁周囲より、小葉間・小葉内へと増生・拡がり(図4)、さらに高度例ではより密に増生していた(表2)。

## 4) 膵胆管合流異常症膵組織

線維化は5例とも膵管周囲および小葉間にみられたが、筋線維芽細胞は膵管壁とその周囲のみで増生し、小葉間には認められなかった(図5)。

## 5) 慢性アルコール性膵炎

筋線維芽細胞は全ての症例で小葉間の線維化と一致して増生していた(図6)。

## 6) アルコール性肝硬変膵

筋線維芽細胞の増生は全ての症例で小葉内線維化と一致した(図7)。

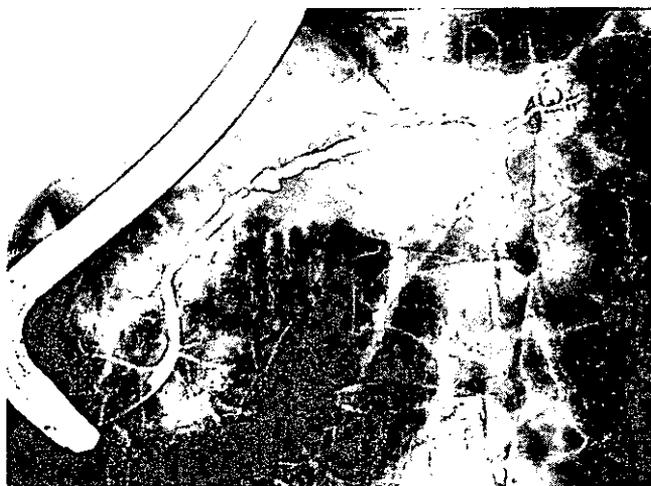


図2. 良性限局性膵管狭窄症例のERP所見

主膵管は膵体部で限局性の狭窄を呈し、その尾側が拡張している。

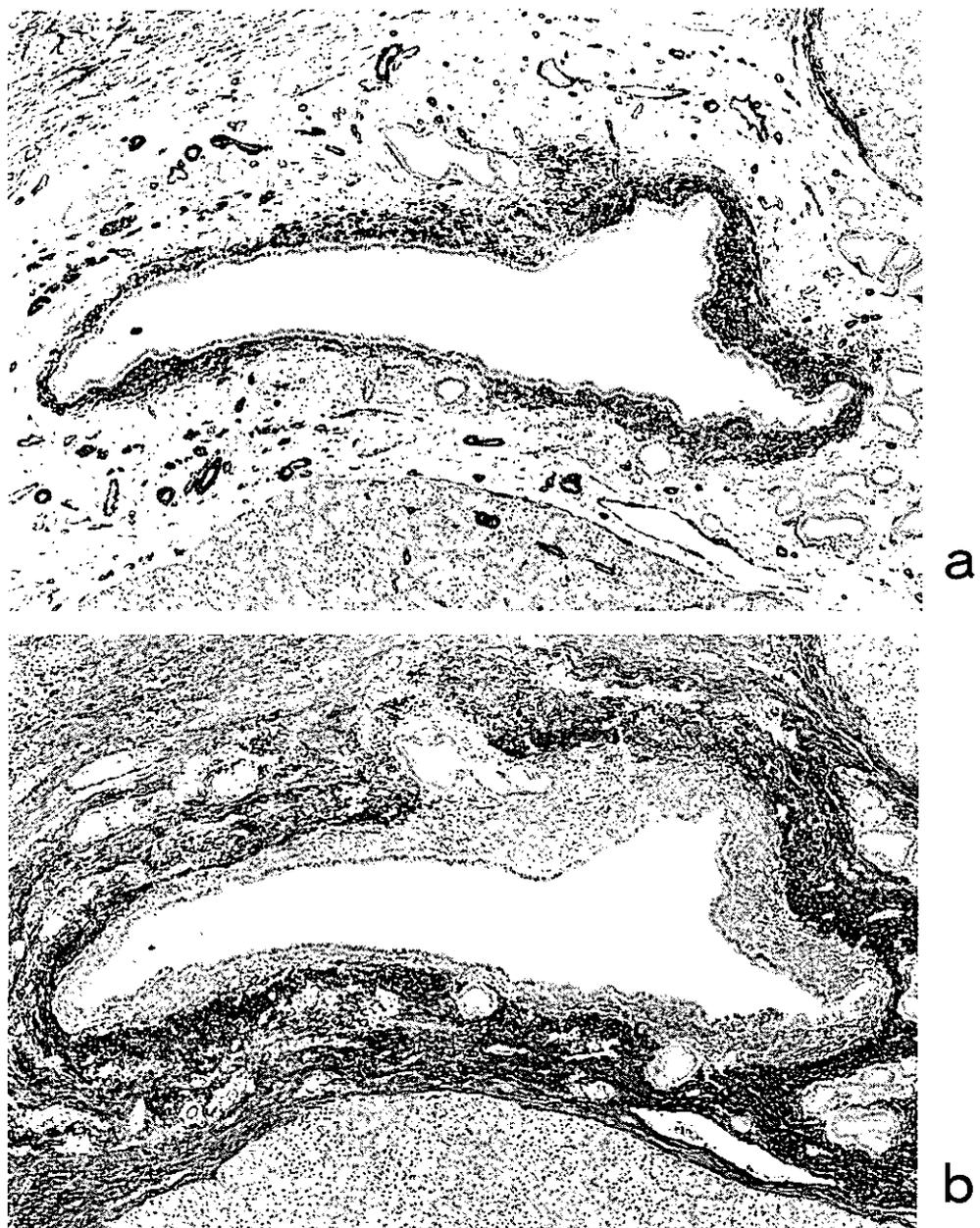


図3. 良性限局性膵管狭窄症例の狭窄部組織像 (図2と同一例)  
膵管上皮直下には筋線維芽細胞の密な増生がみられ (a), そのため, 弾性線維が膵管上皮と解離している (b)。 (a:  $\alpha$ SMA 染色, b: EVG 染色, X60)

表1. 良性限局性膵管狭窄症例の病理所見

症例	年齢 / 性別	部位	膵管壁	
			弾性線維	筋線維芽細胞
コントロール	65.1	体部	壁内に均一	+
1	55 / 男	体部	外側へ圧排	++
2	55 / 女	体尾部	外側へ圧排	++
3	69 / 女	体部	外側へ圧排	++
4	51 / 男	尾部	外側へ圧排	++
5	50 / 女	体尾部	外側へ圧排	++
6	68 / 女	体尾部	断裂	++
7	51 / 女	体部	外側へ圧排	+
8	74 / 男	体尾部	外側へ圧排	+
9	76 / 男	体尾部	外側へ圧排	+
10	65 / 女	頭部	断裂	+

+: コントロールと同様; ++: 上皮直下の増生

表2. 十二指腸乳頭部癌膵組織 (44症例) における筋線維芽細胞の分布

膵障害	症例数 (%)	筋線維芽細胞の増加			
		膵管壁	膵管壁周囲	小葉間	小葉内
無	12 (27.3)	—	—	—	—
軽度	10 (22.7)	+	+	—	—
中等度	10 (22.7)	+	+	+	+
高度	12 (27.3)	+	+	++	++

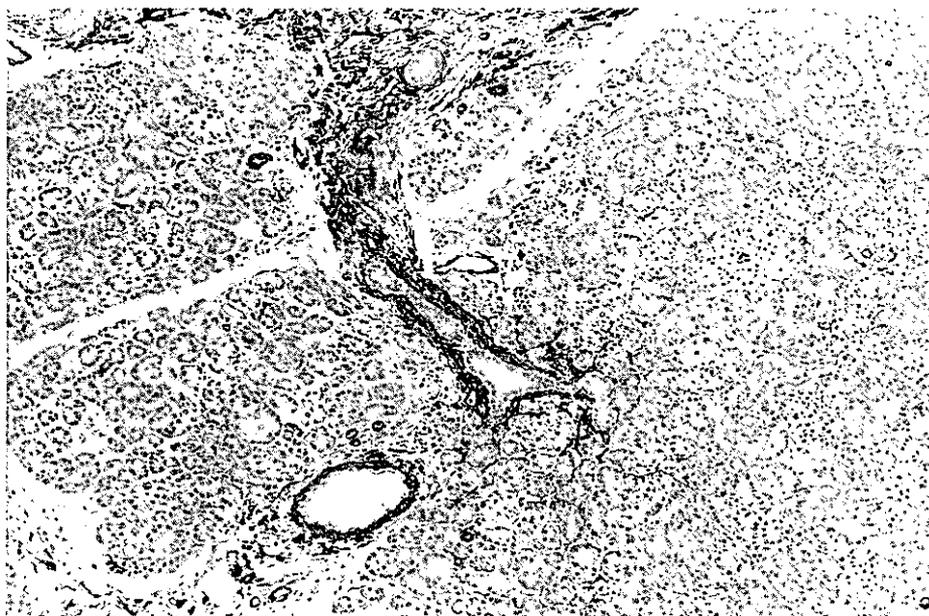


図4. 十二指腸乳頭部癌例の膵組織

筋線維芽細胞は膵管壁と周囲の小葉内に増生している。(αSMA染色, X70)

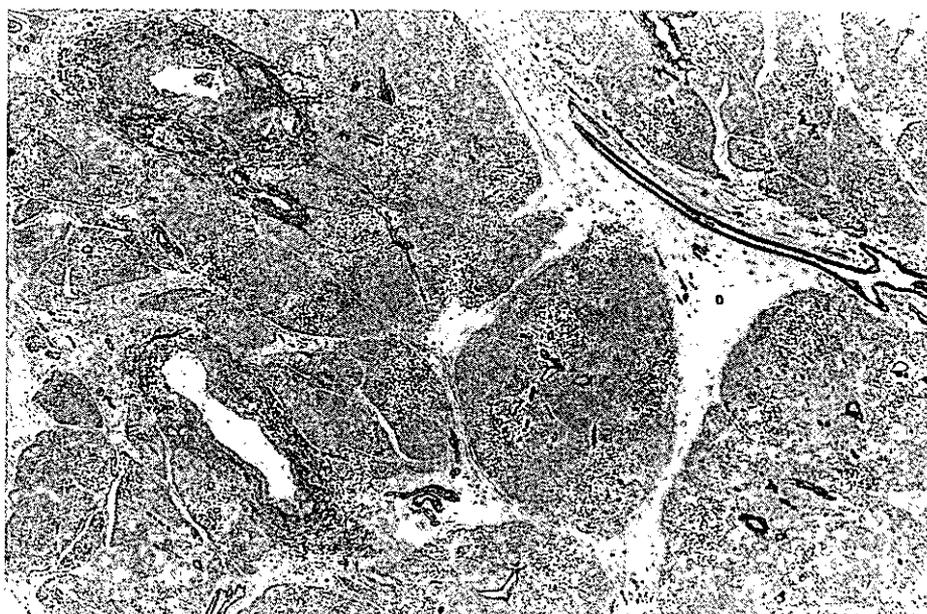


図5. 膵胆管合流異常症の膵組織

筋線維芽細胞は膵管壁とその周囲のみで増生し、小葉間にはみられない。  
(αSMA染色, X12.5)

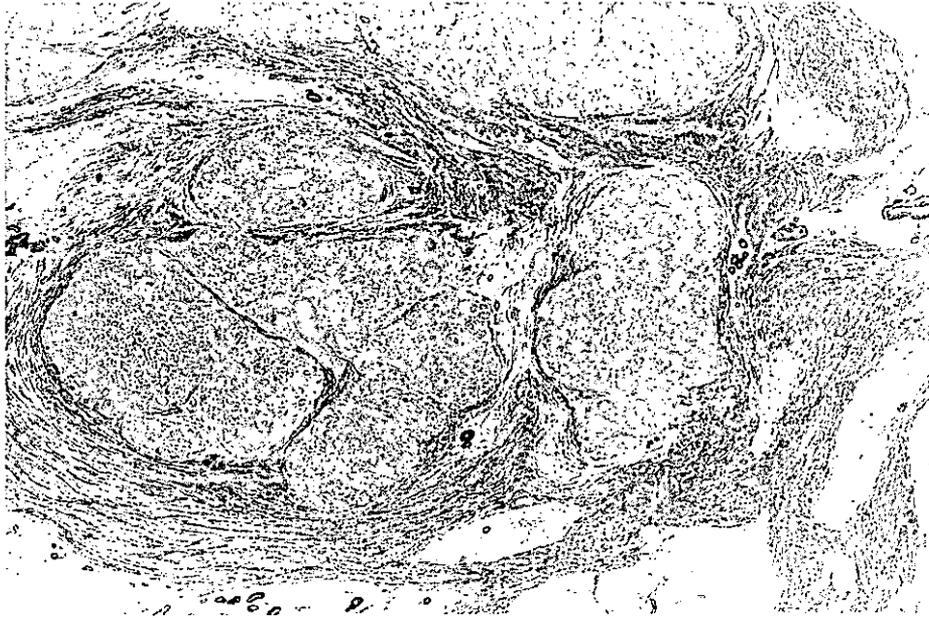


図 6 . 慢性アルコール性膵炎例の膵組織  
筋線維芽細胞は小葉間で増生している。(αSMA 染色, X12.5)

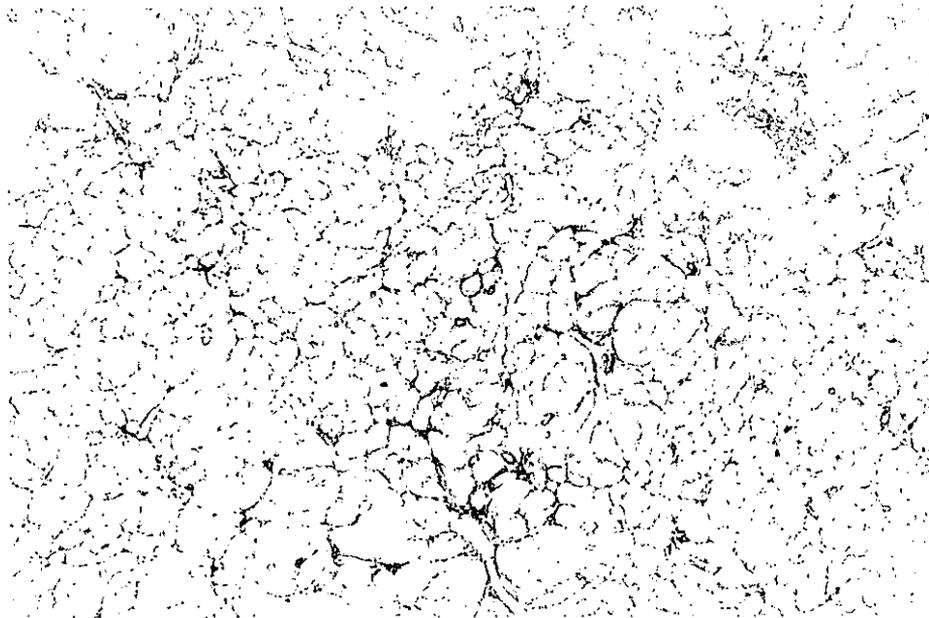


図 7 . アルコール性肝硬変例の膵組織  
筋線維芽細胞は腺房周囲で増生している。(αSMA 染色, X40)

## 考 察

今回の検討から、慢性膵障害は、成因によって線維化のみならず、筋線維芽細胞の分布にも差異が認められた。すなわち、良性限局性膵管狭窄症例では10例中6例で狭窄部に一致して膵管上皮直下に筋線維芽細胞が密に増生していた。筋線維芽細胞は動物実験より開放傷の治癒・閉鎖に働くことが判明している<sup>5,6)</sup>。したがって、これら6例では、筋線維芽細胞が何らかの膵管障害の創傷治癒過程で増生して膵管狭窄を惹起したものと考えられた。残り4例では $\alpha$ SMA染色が陰性で、代わって膠原線維が増生していた。これは、筋線維芽細胞が膠原線維産生後のアポトーシスで消失したか<sup>3)</sup>、もしくは $\alpha$ SMA染色陰性に形質転換したためと考えられる。

十二指腸乳頭部癌症例の膵組織では、ほとんど正常から、小葉間・小葉内の線維化、および実質荒廃が種々の程度に認められた。このような膵管狭窄・閉塞による病態は、1984年のマルセイユ・シンポジウムで取り上げられた obstructive chronic pancreatitis に一致し<sup>9)</sup>、閉塞部より上流膵組織が荒廃して腺房の萎縮や小葉間・小葉内線維化、ラ島孤立などが出現する<sup>8)</sup>。今回、筋線維芽細胞がこれらの膵障害と相関して膵管壁内から小葉間・小葉内に増生し、線維化が明らかでない例でも膵管壁に半数例で増加していた。筋線維芽細胞は、細胞質内に stress fiber を有し、細胞外マトリックスと microtendon で結合して組織の収縮性に関与し<sup>2,5,7)</sup>、また、膵管内圧上昇に対しても膵管の拡張を抑えるために増生した可能性がある。以上より慢性閉塞性膵炎では膵管内圧上昇を壁内の筋線維芽細胞で代償できなくなると腺房の萎縮とともに小葉間・小葉内の線維化が進行すると考えられた。

膵胆管合流異常症、慢性アルコール性膵炎やアルコール性肝硬変例の膵組織では線維化および筋線維芽細胞の分布に差異が認められた。すなわち、膵胆管合流異常症例では胆道原性慢性膵炎が生ずるため<sup>9)</sup>、膵管周囲と小葉間に線維化が認められた。しかし、筋線維芽細胞の増生は膵管周囲のみで、小葉間には認められなかった。一方、慢性アルコール性膵炎では小葉間の線維化が<sup>8)</sup>、また、アルコール性肝硬変例の膵組織では小葉内の線維化が特徴であり<sup>10)</sup>、今回検討した症例ではこれらの線維化部位と一致して筋線維芽細胞の増生が認められた。このような筋線維芽細胞増生の差異は膵障害発症機序が異なることを反映している。特に膵胆管合流異常症では線維化が膵管周囲では持続するも、小葉間では筋線維芽細胞がアポトーシスもしくは $\alpha$ SMA染色陰性に形質転換・消退した陳旧状態が示唆され、筋線維芽細胞の増生と消退が膵障害の持続性をも反映すると考えられた。

## 結 語

慢性膵障害はその成因によって筋線維芽細胞の分布に差異が認められた。筋線維芽細胞の増生と消退が膵障害の持続性を反映している可能性が示唆された。

## 参 考 文 献

- 1) Bachem MG, Schneider E, Groß H, Weidenbach H, et al. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterol* 1998; 115: 421-32.
- 2) Darby I, Skalli O, Gabbiani G.  $\alpha$ -Smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. *Lab Invest* 1990; 63: 21-9.
- 3) Desmouliere A, Redard M, Darby I, Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the

- transition between granulation tissue and scar. *Am J Pathol* 1995 ; 146 : 56-65.
- 4) Gyr KE. Pancreatitis, concepts and classification, Amsterdam, New York, Oxford : Excerpta Medica, 1984.
  - 5) Majno G, Gabbiani G, Hirschel BJ., Ryan GB., Statkov PR. Contraction of granulation tissue in vitro : similarity to smooth muscle. *Science* 1971 ; 173 : 548.
  - 6) Nakatsuji S, Yamate J, Kuwamura M, Kotani T, Sakuma S. In vivo responses of macrophages and myofibroblasts in the healing following isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *Virchows Archiv* 1997 ; 430 : 63-9.
  - 7) Schmitt-Graff A, Desmouliere A, Gabbiani G. Heterogeneity of myofibroblast phenotypic features-an example of fibroblastic cell plasticity-. *Virchows Archiv* 1994 ; 425 : 3-24.
  - 8) Suda K, Mogaki M, Oyama T, Matsumoto Y. Histopathologic and immunohistochemical studies on the alcoholic and chronic obstructive pancreatitis-special emphasis on ductal obstruction and genesis of pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1990 ; 85 : 271-6
  - 9) Suda K, Miyano T. Bile pancreatitis. *Arch Pathol Lab Med* 1985 ; 109 : 433-6.
  - 10) 武井一雄, 須田耕一, 高瀬 優. 肝硬変症における臍線維化の病理学的検討. *臍臓* 1996 ; 11 : 13-7.

## 膵導管細胞の $\text{Cl}^-$ チャンネルに及ぼすアルコールの影響

研究報告者 早川哲夫  
名古屋大学第二内科

共同研究者 成瀬 達 北川 元二 石黒 洋  
洪 繁 水野 伸匡 吉川 俊之  
森 雅也 中島 守夫 鈴木 厚  
山本 明子 汪 幼学 濱田 広幸  
金 春香 馬淵 龍彦 近藤 孝晴

**要旨：**アルコール性慢性膵炎の発症機序を解明するため、膵導管細胞におけるイオン分泌機能におよぼすアルコールの影響について検討した。モルモット膵より小葉間膵管を単離し、膵導管細胞からの水分分泌および  $\text{Cl}^-$  分泌に対するエタノールの影響を検討した。セクレチン (10 nM) 刺激による水分分泌量は  $2 \sim 2.5 \text{ nl} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot \text{mm}^{-2}$  であった。この水分分泌の増加は  $\text{HCO}_3^-$  分泌が主であり、 $\text{Cl}^-$  分泌はわずかであった。セクレチン刺激下にエタノール (1 mM) を加えると、水分分泌は約  $4 \text{ nl} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot \text{mm}^{-2}$  に増加した。この場合の水分分泌の増加は  $\text{Cl}^-$  分泌の増加によるものであった。臨床的には飲酒により膵導管細胞からの水分分泌が増加し、膵管内圧の上昇と管腔内 pH の低下が起きる可能性が示され、慢性膵炎の発症に関与するメカニズムの1つと考えられた。また、アルコールは膵導管細胞の  $\text{Cl}^-$  チャンネルに作用することから、慢性膵炎発症における CFTR の関与が示唆された。

### 目 的

飲酒後の血中エタノール濃度は、通常の飲酒では10 mM 以下、酩酊状態で10~30 mM である。単離膵腺房細胞を用いた動物実験では、アルコールは CCK 刺激によるアミラーゼ分泌を抑制し、さらに CCK 受容体、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 、cAMP などの細胞内情報伝達系に影響を与えるという報告がみられる<sup>1)</sup>。しかし、いずれも10 mM オーダー以上の高濃度のエタノールを用いており、アルコール性膵炎の発症機序の解明に直接つながるかどうかにについては疑問である。

最近、われわれはモルモットの膵から直径約100  $\mu\text{m}$ 、長さ約1 mmの小葉間膵管を単離し、膵導管細胞からの  $\text{HCO}_3^-$  および水分分泌を経時的に測定する系を確立した<sup>2)</sup>。この系を用いて膵導管細胞に対するアルコールの影響について検討したところ、エタノールは0.3 mM(約0.02%、日本酒0.5合程度の飲酒後の血中濃度に相当)で、セクレチン刺激下の膵導管細胞からの水の過分泌を引き起こし、さらに、この水分分泌の増加は管腔内  $\text{HCO}_3^-$  濃度の低下を伴っていることを報告した<sup>3)</sup>。今回は、この水分分泌の増加が  $\text{Cl}^-$  分泌の増加に伴うものか否かを確かめるため、膵導管細胞からの  $\text{Cl}^-$  および水分分泌を経時的に測定し、エタノールの影響を検討した。

## 方 法

### 膵導管細胞からの $\text{Cl}^-$ 分泌に対するエタノールの作用

#### (1) 単離小葉間膵管の作成

体重約350 gのモルモットから膵を摘出し、コラゲナーゼで処理した後、実体顕微鏡下で小葉間膵管を単離した。この膵管を一晩培養すると、両端が閉じて分泌液が貯留した状態となった。

#### (2) 管腔内容積と管腔内 $\text{Cl}^-$ 濃度の同時測定

単離した小葉間膵管を倒立顕微鏡上でマイクロパンクチャーし、管腔内に貯留した分泌液を排除して、 $\text{Cl}^-$  感受性蛍光色素である ABQ (6-methoxy-N-(4-aminoalkyl) quinolinium bromide)-dextran (0.6 mM) および対照として  $\text{Cl}^-$  感受性が無い蛍光色素である Cl-NERF-dextran (0.3 mM) を含む溶液を管腔内に注入した。この単離膵管を37°Cで表層灌流し、管腔内からの蛍光を顕微測光することにより、管腔内  $\text{Cl}^-$  濃度を経時的に測定した。

管腔内  $\text{Cl}^-$  濃度の測定と併行して、1分間隔で管腔の蛍光画像を ICCD カメラで取得し、binary image に変換して粒子分析により管腔の面積を測定した。管腔が円柱であると仮定して、管腔面積から管腔内容積を算出し、その変化率から1分間ごとの水分分泌量を求めた。また、測定開始時の膵管の直径と長さから内腔を取り囲む膵管上皮の表面積を求め、1分毎の分泌量を膵管上皮の単位表面積当たりで表した。

#### (3) $\text{Cl}^-$ 分泌量の算出

1分毎の管腔内容積および管腔内  $\text{Cl}^-$  濃度の変化量から、1分毎の  $\text{Cl}^-$  分泌量を算出した。また、分泌液が等張 (150 mM) であると仮定して  $\text{Cl}^-$  輸送にともなう水分分泌量を算出した。

## 結 果

### 膵導管細胞からの $\text{Cl}^-$ 分泌に対するエタノールの作用

単離膵管を  $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$  を含まない HEPES 緩衝溶液で表層灌流し、実験を開始した。3分後に灌流液を25mMの  $\text{HCO}_3^-/5\% \text{CO}_2$  を含む溶液に切り替え、さらに5分後にセクレチン (10 nM) 刺激を開始した。セクレチン刺激下にエタノール (1 mM) を加えた。図1に管腔内  $\text{Cl}^-$  濃度の経時変化を、図2に水分分泌 (□) とその中で  $\text{Cl}^-$  輸送にともなう水分分泌 (■, 150 mM NaCl 溶液の分泌) の経時変化を示す。□-■が、 $\text{HCO}_3^-$  輸送に伴う水分分泌、150 mM  $\text{NaHCO}_3$  溶液の分泌になる。

$\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$  非存在下では、水分分泌はほとんど認められなかった (管腔内容積は変化しなかった)。灌流液を25 mM  $\text{HCO}_3^-/5\% \text{CO}_2$  を含む溶液に切り替えると、基礎分泌 (約  $1 \text{ nl} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mm}^{-2}$ ) が見られ、灌流液の切り替え直後に  $\text{Cl}^-$  の輸送が管腔側から細胞内へ向かっていることから、 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  交換体が働いていることが示された。セクレチン (10 nM) 刺激により水分分泌量は  $2 \sim 2.5 \text{ nl} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mm}^{-2}$  に増加し、ほとんどが  $\text{HCO}_3^-$  分泌で  $\text{Cl}^-$  分泌はわずかであった。セクレチン (10 nM) 刺激下に灌流液中にエタノール (1 mM) を加えると、水分分泌は約  $4 \text{ nl} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mm}^{-2}$  へに増加した。この水分分泌の増加分はほぼ  $\text{Cl}^-$  分泌の増加によるもので、 $\text{HCO}_3^-$  分泌量はエタノールによって変わらなかった。

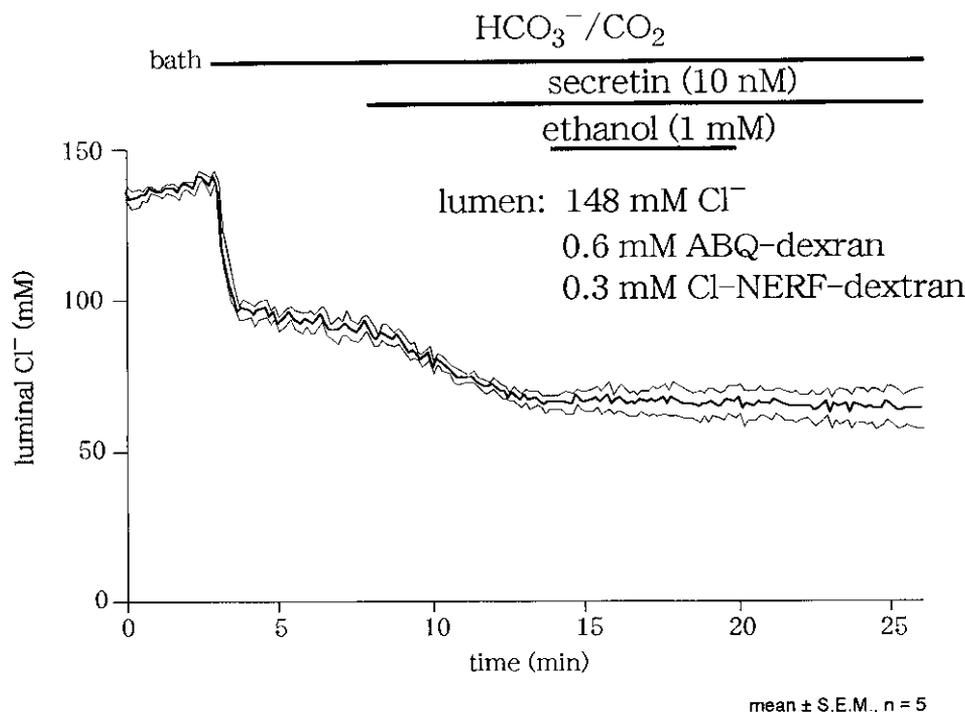


図1. エタノールの管腔内  $\text{Cl}^-$  濃度に対する作用

## 考 察

膵臓の外分泌腺では、導管細胞が水と電解質（とくに重炭酸イオン， $\text{HCO}_3^-$ ）の分泌を担っている。その分泌メカニズムのモデルが想定されており<sup>4)</sup>、細胞内に蓄積した  $\text{HCO}_3^-$  は、管腔膜上の  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  exchange および  $\text{HCO}_3^-$  コンダクタンスを介して管腔へ分泌され、CFTR はこれらのイオン輸送担体を調節していると考えられている。本研究では、膵導管細胞からの水分分泌および  $\text{Cl}^-$  分泌を測定することに成功し、①セクレチン刺激下ではほとんど  $\text{HCO}_3^-$  のみが分泌され  $\text{Cl}^-$  は分泌されていないこと、②セクレチン刺激下にエタノールを加えると  $\text{Cl}^-$  分泌の増加にともなって水分分泌が増加すること、が明らかになった。アルコールは種々の組織でイオンチャンネルに直接影響を与えるという報告が見られる<sup>5)</sup> が、膵導管細胞においてもエタノールがイオンチャンネルに直接影響を与えた可能性が高いと考えられる。

現在のところ、アルコールによる膵障害の細胞レベルでの発症機序は解っていない。Freedman ら<sup>6)</sup> は、①何らかの機序で(蛋白栓などによる狭窄、イオン輸送体の異常など)導管細胞の  $\text{HCO}_3^-$  分泌能が障害され膵管腔内の pH が低下すると、②膵管腔内の蛋白成分の不溶化と腺房細胞のエクソサイトーシスの障害が起こりやすくなり、③この状態でアルコールが腺房細胞に作用すると腺房細胞内でのトリプシンの活性化が起こり、膵障害がおこるといふ仮説を発表した。この仮説は、慢性膵炎の進展過程において酵素分泌の障害よりも  $\text{HCO}_3^-$  分泌障害が先行することに合致している。本研究では、食後(セクレチン刺激下)にアルコールが  $\text{Cl}^-$  チャンネルに作用して、膵液の過分泌と管腔内 pH の低下を引き起こしている可能性を示した。

最近、欧米において、特発性慢性膵炎患者の一部で CFTR (cystic fibrosis transmembrane regula-

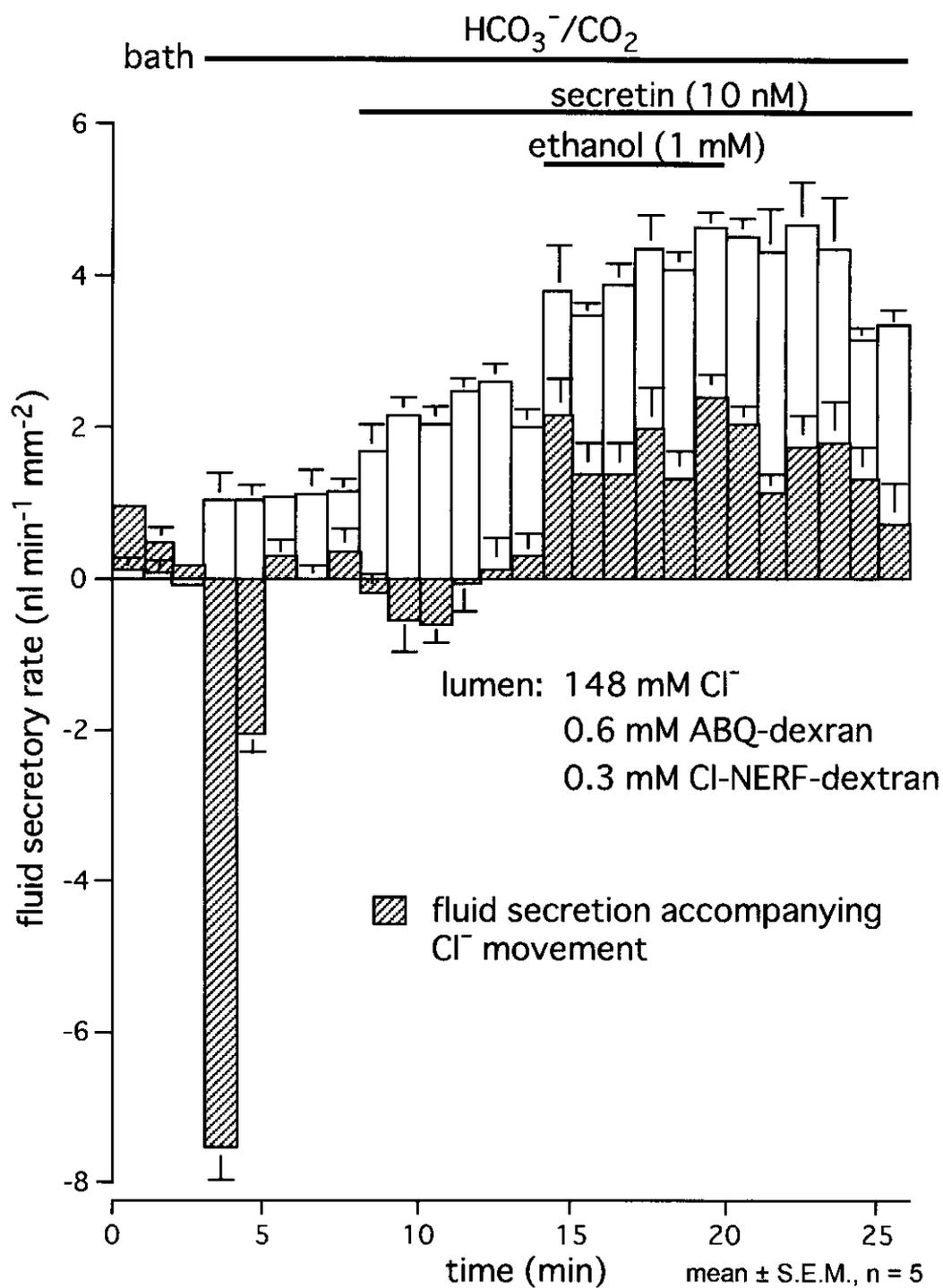


図 2. エタノールの水分泌および  $\text{Cl}^-$  分泌に対する作用

tor)の変異が見られたと報告された<sup>7,8)</sup>。CFTRは、上皮細胞においてcAMP依存性Cl<sup>-</sup>チャンネルとして機能し、膵導管細胞においてはHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>分泌に重要な役割を果たしていると考えられている<sup>4)</sup>。従って、エタノールが影響を与えているCl<sup>-</sup>チャンネルがCFTRである可能性もあり、今後さらに検討をすすめていく必要がある。

## 結 語

エタノールはセクレチン刺激下で膵導管細胞からの水(膵液)分泌を増加させた。このメカニズムとしてエタノールは膵導管細胞のCl<sup>-</sup>チャンネルを刺激し、水(膵液)分泌を増加させていると考えられた。

## 参 考 文 献

- 1) Niebergall-Roth E, Harder H, Singer MV. A review, acute and chronic effects of ethanol and alcoholic beverages on the pancreatic exocrine secretion in vivo and in vitro. *Alcoholism Clin Exp Res* 1998 ; 22 : 1570-83.
- 2) Ishiguro H, Naruse S, Steward M. C, Kitagawa M, Ko SBH, Hayakawa T, Case R M. Fluid secretion in interlobular ducts isolated from guinea-pig pancreas. *J Physiology* 1998 ; 511 : 407-22.
- 3) 早川哲夫. アルコールの膵導管細胞におよぼす影響. 厚生省特定疾患消化器系疾患調査研究班難治性膵疾患分科会平成9年度研究報告書. 1998 : 137-43.
- 4) Case RM, Argent BE. Pancreatic duct cell secretion, control and mechanisms of transport. In: Go VLW, Dimagno EP, Gardner JD, et al, editors. *The pancreas: biology, pathobiology, and disease*. New York: Raven Press, 1993 : 301.
- 5) Crews FT, Morrow AL, Criswell H, Breese G. Effects of ethanol on ion channels. *Int Rev Neurobiol* 1996 ; 39 : 283-367.
- 6) Freedman SD. New concepts in understanding the pathophysiology of chronic pancreatitis. *Int J Pancreatol*. 24 : 1-8.
- 7) Sharer N, Schwarz M, Malone G, Howarth A, Painter J, Super M, Braganza J. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998 ; 339 : 645-52.
- 8) Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman L M, Jowell P S. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998 ; 339 : 653-8.