

氏名・(本籍)	吉岡 うた子 (三重県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士(論)第144号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成6年3月24日
学位論文題目	16,16-dimethyl prostaglandin E <sub>2</sub> のラット膵外分泌に及ぼす影響 —in vivo および遊離膵腺房を用いたin vitroでの検討—
	審査委員 主査 教授 北里 宏
	副査 教授 服部 隆則
	副査 教授 細田 四郎

## 論文内容要旨

### [目的]

内因性・外因性prostaglandin(PG)の膵外分泌に及ぼす影響を明らかにするために、ラットを用いてin vivo及びin vitroで検討した。

### [方法]

#### 1. in vivoでの検討

Wistar系雄性ラットを用い、麻酔下に膵管、胆管、胃内、頸静脈にチューブを挿入し、胃液・胆汁を体外に排液した状態で、意識下に30分毎に純粋膵液を分画採取し、液量、重炭酸塩濃度、蛋白濃度を測定した。生理食塩水、セルレイン100 ng/kg/hrまたはセクレチン2U/kg/hrを持続静脈内投与した状態で、120分膵液前採取後、16,16-dimethyl PGE<sub>2</sub> (DMPGE<sub>2</sub>) 2 µg/kg/hrを持続静脈内投与して採液し、さらにDMPGE<sub>2</sub>投与後120分間膵液を採取した。

#### 2. in vitroでの検討

##### 2-1) 膵切片のPG放出能の検討

Wistar系雄性ラットより膵臓を摘出し100 mgに細切し、セルレインまたはacetylcholine chlorideを加えて45分間培養し、培養液中のPGE<sub>2</sub>をRIA法で測定した。

##### 2-2) 遊離膵腺房アミラーゼ放出に及ぼす内因性・外因性PGの影響の検討

Williamsらの方法に準じて、Wistar系雄性ラットより摘出した膵臓にcollagenaseを注入して遊離膵腺房を作製した。遊離膵腺房をCCK、セルレインまたはセクレチン刺激下にDMPGE<sub>2</sub> 2.63 × 10<sup>-6</sup> Mまたはindomethacine 10<sup>-4</sup> Mを同時に添加して培養し、反応前の細胞内および反応前後の培養液中のアミラーゼ活性をBlue starch法で測定し、膵腺房からのアミラーゼ放出量を算出した。

##### 2-3) 遊離膵腺房cyclic AMP (cAMP)、cyclic GMP (cGMP) 含量に及ぼすPGの影響の検討

遊離膵腺房にセルレインとDMPGE<sub>2</sub>を加えて培養し、培養した遊離膵腺房をソニケーション後、冷塩酸でcAMP、cGMPを抽出し、サクシニル化してRIA法で測定した。

### [結果]

#### 1. in vivoでの検討

膵液胆汁排液による内因性CCK刺激下ではDMPGE<sub>2</sub>投与群では非投与群に比べて蛋白排出量が低下する傾向にあった。セルレイン刺激下ではDMPGE<sub>2</sub>投与群では非投与群に比べて蛋白排出量は有意に減少した。セクレチン刺激下ではDMPGE<sub>2</sub>投与群では膵液量、重炭酸塩排出量、蛋白排出量は非投与群に比べて有意に低下した。

## 2. in vitroでの検討

膵切片からのPGE<sub>2</sub>の放出はセルレインおよびacetylcholine chloride投与により一峰性のカーブをとった。遊離膵腺房からのアミラーゼ放出能の検討では、無刺激下ではDMPGE<sub>2</sub>またはindomethacine添加による影響は認めなかった。CCK-8  $10^{-11}$  -  $3 \times 10^{-11}$  M刺激下ではDMPGE<sub>2</sub>添加によりアミラーゼ放出は有意に低下し、CCK-8刺激によるアミラーゼ放出曲線は右方へ移動した。セルレイン刺激下indomethacine添加、セクレチン刺激下DMPGE<sub>2</sub>添加では有意な変化はみられなかった。遊離膵腺房のcAMP含量はDMPGE<sub>2</sub>添加による変動は認めなかった。cGMP含量は非刺激下ではDMPGE<sub>2</sub>添加による変動は認めなかったが、セルレイン $6.15 \times 10^{-10}$  M刺激によって増加したcGMP含量はDMPGE<sub>2</sub>添加によって有意に低下した。

### [考 察]

In vivoの検討で、DMPGE<sub>2</sub>投与により、内因性・外因性CCK刺激下では膵酵素排出が抑制され、セクレチン刺激下では主として膵液・重炭酸塩の排出が抑制されたことより、生理的、薬理的濃度のsecretagogue刺激下の膵外分泌をDMPGE<sub>2</sub>は抑制すると考えられた。この抑制作用が膵臓に対する直接作用であるかどうかをin vitroで検討したところ、生理的、薬理的濃度のCCK-8刺激下での遊離膵腺房からの膵酵素放出をDMPGE<sub>2</sub>は抑制し、CCK刺激下ではDMPGE<sub>2</sub>は膵腺房に対しては直接作用を有すると思われた。この際、遊離膵腺房内のcAMPには変動はなく、セルレイン刺激によって増加したcGMPがDMPGE<sub>2</sub>添加によって抑制されており、CCKによるイノシトールリン脂質系の活性化をDMPGE<sub>2</sub>が抑制している可能性が考えられた。一方、膵臓で内因性のPGが産生・放出されるにもかかわらず、indomethacine添加では膵腺房からの膵酵素放出には変化はみられず、内因性PGは膵腺房からの酵素分泌に対しては作用のないものと考えられた。またセクレチン刺激下でも膵腺房からの膵酵素放出には外因性PGは作用を及ぼさないと考えられた。

### [結 論]

生理的・薬理的濃度のCCK刺激下ではDMPGE<sub>2</sub>は膵腺房細胞に直接作用して膵酵素分泌を抑制する。その作用機序としてはcAMPではなくcGMPと連関したイノシトールリン脂質系を抑制する可能性が示唆された。

## 学位論文審査の結果の要旨

Prostaglandin (PG) は生体内の種々の臓器に存在し、様々な生理活性を有しており、その一つに外分泌および内分泌の調節作用が知られている。特にPGE<sub>1</sub>およびPGE<sub>2</sub>は胃液分泌を強力に抑制し、胃・十二指腸潰瘍の治療薬として臨床応用されている。一方、膵臓ではPGE<sub>2</sub>、PGF<sub>2</sub>αの存在が認められているが、PGの作用については不明な点が多い。

本研究は膵外分泌機能に対するPGE<sub>2</sub>の作用をラット膵についてのin vivo実験および遊離膵腺房を用いるin vitro実験において検討したものである。実験の結果、次のことが明らかとなった。

1. Dimethyl PGE<sub>2</sub> (DMPGE<sub>2</sub>) はsecretinによって誘発された膵液および重炭酸塩の分泌を抑制した。
2. DMPGE<sub>2</sub>はcaeruleinによって誘発された膵消化酵素の分泌を抑制した。
3. DMPGE<sub>2</sub>は膵消化酵素分泌のCCK-8に対する感受性を低下させた。
4. Caeruleinを遊離膵腺房に作用させると、10<sup>-11</sup> - 10<sup>-9</sup>Mの範囲で濃度依存性に腺房細胞からのPGE<sub>2</sub>の放出量は増大した。しかし、PGの合成阻害剤であるインドメサシンを培養液に加えても、caeruleinによる膵消化酵素の分泌促進には殆ど変化はみられなかった。
5. Caeruleinを細胞外液に加えると、膵腺房細胞内cyclic GMPは増加した。Caeruleinによる細胞内cyclic GMP濃度の上昇はDMPGE<sub>2</sub>によって抑制された。一方、細胞内cyclic AMP濃度にはDMPGE<sub>2</sub>は影響を与えなかった。

以上の実験結果はPGE<sub>2</sub>が膵腺房細胞ではcyclic GMP生成を抑制する経路を介してsecretinおよびcaeruleinの膵液および膵消化酵素分泌誘発作用を抑制することを示唆している。また、caeruleinは磷脂質の分解を促進しPGE<sub>2</sub>の放出をきたすが、膵腺房細胞から放出されたPGE<sub>2</sub>のみではcaeruleinの膵消化酵素分泌促進作用は抑制されないことが明らかとなった。

本研究は、膵腺房細胞における刺激・分泌連関の機序を解明する上で有用なものであり、博士(医学)の学位に値するものと認められる。