

実験的 elastase 膵炎の病態

大阪市立大学医学部第1外科

土肥 浩 義 佐竹 克 介
内間 恭 堅 梅 山 馨

EXPERIMENTAL STUDIES OF ELASTASE INDUCED PANCREATITIS IN DOGS

Hiroyoshi DOHI, Katsusuke SATAKE, Kyoken UCHIMA and
Kaoru UMEYAMA

First Department of Surgery, Osaka City Univ. Medical School

急性膵炎の発生機序に関しては、trypsin を中心とした活性化膵酵素の間質内逸脱による自己融解がその本態をなすと考えられてきたが、最近、trypsin による急性膵炎発生に疑問がもたれてきた。われわれはすでに膵外分泌液中には elastase が豊富に存在することを証明しその重要性を指摘してきたが、今回は、従来の自家胆汁性膵炎を対照として、elastase の膵管内注入によつて作成した急性膵炎犬についてその病態を中心に検索した。elastase 注入群の膵組織像は比較的早期から小葉間間質の細動脈壁の破壊、膵実質および小葉間間質の出血像がみられたが、対照群では早期より膵実質細胞の変性壊死が強く、出血像は著明でなく、小葉間間質の細動脈はよく保もたれていた。しかし膵炎発生5時間後では、ともに出血性壊死性膵炎像がみられた。また、かかる膵組織中の elastase 含有量は著明に減少した。これらの成績から、浮腫性膵炎の出血性膵炎への進展に膵 elastase が何らかの役割を演ずるものと解され、一方、急性膵炎における血中膵 elastase の測定は膵炎の激症化への予測に役立つものと考えられた。

はじめに

急性膵炎の発生機序に関しては trypsin を中心とした活性化膵酵素の間質内逸脱による自己融解がその本態をなすと考えられてきた。近年 Dragstedt¹⁾ は trypsin は lipid 物質で構成されている細胞膜に作用しがたいことから trypsin 中心の膵炎発生機序に疑問をいただき、また、Beck²⁾ らは、膵炎組織中に trypsin の存在を証明することが困難であると報告し、Elmsie は、trypsin を高圧で注入しない限り膵炎が発生しないことなどから trypsin による急性膵炎発生に疑問が持たれてきた。ことに膵に存在する phospholipase A や elastase の関与が重要視されてきている。elastase は proteolytic および elastolytic の2つの作用を有する膵酵素で、われわれは、すでに膵外分泌液中に豊富に存在することを証明した。この酵素は膵内においては、その前駆物質である proelastase として存在しており trypsin や膵組織の自家融解によつて游出する cathepsin B によつて活性化され

て elastase となる。また、elastase の proteolytic な作用は trypsin inhibitor によつて抑制されるが elastolytic な作用は全く影響をうけないといわれており、elastase の elastolytic な作用はかなり特異的なものと考えられている。この elastase が、血管壁の elastic fiber を特異的に破壊し、急性膵炎、とくに出血性膵炎を引き起こす原因となりうるかと推測される。

今回、われわれは、従来の自家胆汁性膵炎を対照として elastase の膵管内注入による急性膵炎を作成し、その組織像を中心に2~3述べてみたい。

実験材料および方法

雑種成犬(体重10~15kg)10頭を用い、ネブタール麻酔下で開腹し、副膵管を結紮、膵 elastase 30mg を高圧で主膵管に注入して、膵 elastase 性膵炎を作成した。

同様の操作のもとに、雑種成犬10頭に、自家胆汁0.5 ml/kg を注入して自家胆汁性膵炎を作成した。

それぞれの急性膵炎作成犬について膵炎作成前、作

成後1時間、2時間、3時間、5時間の血中 amylase, lipase および elastase を測定した。また、自家胆汁性膵炎作成5時間後の膵組織中の elastase 含有量を頭部、体部、尾部に分けてそれぞれ測定した。

なお、amylase はBlue-starch⁹⁾法で測定して、国際単位で表わし、lipase はCherry-Crandall¹⁰⁾法、血中および組織中の elastase は elastin-D.N.S.⁸⁾および elastin-F.I.T.C.⁹⁾を基質として測定した。結果は Mean±S.E. で表わした。

一方、elastase および自家胆汁注入後の膵組織の変化を検索するため、それぞれ3頭を用いて elastase ならびに自家胆汁注入後5分、15分、30分、1時間および5時間に膵組織を採取し Hematoxyline-Eosin 染色および Elstica-Vangieson 染色を行った。

実験成績

1. 膵酵素学的所見

各膵炎犬の血中 amylase 値の変動は、elastase 注入群および自家胆汁注入群において、注入30分後にすでに術前値の1.5倍から2倍に上昇し、その後漸次上昇し、5時間後には術前値の約4倍の値を示した。しかし両群の間にはとくに有意の差は認められなかつた(図1)。

血中 lipase 値の変動は amylase 値の変動とはほぼ同様の变化を示し、経時的に上昇した。やや胆汁注入群に高値を示す傾向がみられたが推計学的に有意ではなかつた(図2)。

血中 total elastase 値の変動は、elastase 注入群で

図1 Plasma Amylase の変動

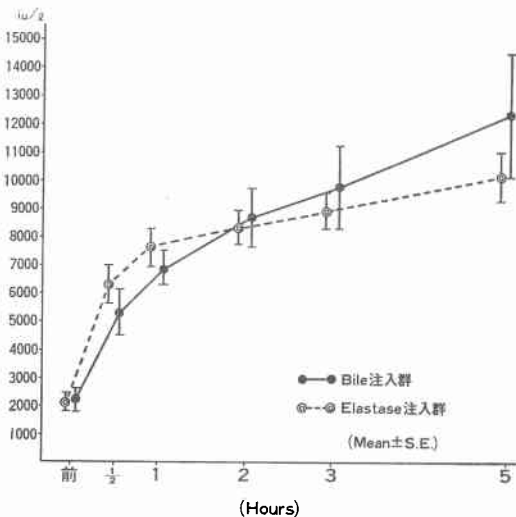
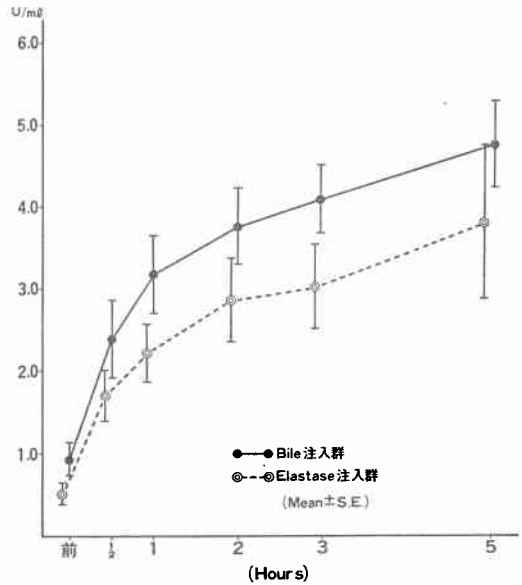


図2 Plasma Lipase の変動



は、術前値6.7(±0.3) μg/ml が膵炎作成30分後に7.0(±0.7) μg/ml と軽度上昇を示したが、その後、漸次減少の傾向を示し、5時間後には、4.1(±0.8) μg/ml の値を示した。自家胆汁注入群では、術前値6.8(±0.3) μg/ml が膵炎発生30分後に5.7(±0.3) μg/ml と低値を示し、その後、減少傾向をしめし、5時間後には3.1(±0.5) μg/ml の値をしめした(図3)。

血中 free elastase 値の変動は、elastase 注入群では、術前値3.2(±0.6) μg/ml が5時間後2.2(±0.4) μg/ml

図3 Total Elastase の変動

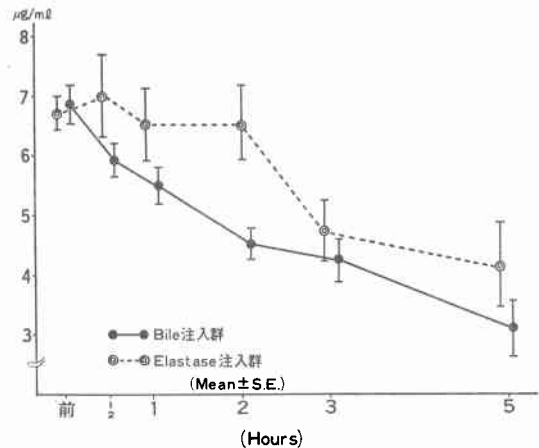
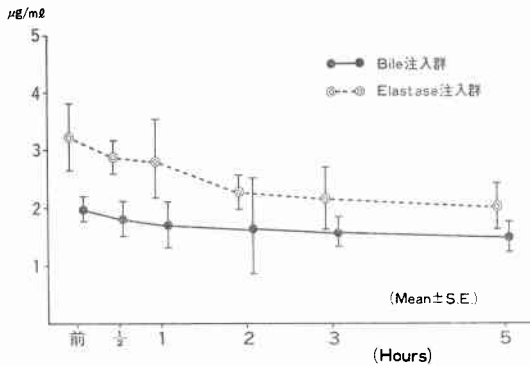


図4 Free Elastase の変動



と軽度減少し、自家胆汁注入群でも同様に、術前値2.0 (±0.2) µg/ml が5時間後1.5 (±0.3) µg/ml と軽度の減少を示した。elastase 注入群では自家胆汁注入群よりやや高値を示すが、両群の間には有意の差を認めなかった (図4)。

自家胆汁性膵炎作成5時間後の膵組織中の elastase 含有量は、頭部では正常膵の平均150.9 (±20.5) µg/gm wet weight に対して、5時間後では、104.4 (±21.1) µg/gm wet weight と軽度の減少を示した。急性膵炎像の著明であつた体部および尾部では、それぞれ正常膵の平均176.0 (±22.6), 192.1 (±14.5) µg/gm wet weight に比較して、5時間後ではそれぞれ87.7 (±16.8), 89.3 (±26.1) µg/gm wet weight と著明な減少を示した (表1)。

2. elastase 注入および自家胆汁注入膵炎の病理組織学的所見

elastase および自家胆汁注入膵炎作成5時間後の膵の肉眼的所見では、両群の間に著明な差は認められず、両群とも出血性壊死性膵炎の像を呈していた。

膵 elastase 30mg 注入5分後の膵の病理組織学的検索では、膵実質内および小葉間間質に出血像が認められたが、膵内外分泌細胞の変性、壊死はほとんど認められなかつた (図5)。また、小葉間間質の細静脈も破綻像なく

表1 Tissue Elastase (microgms/gm wet weight) (mean±S.E.)

	正常膵	膵炎膵 (5時間後)
頭部	150.9 ± 20.5	104.4 ± 21.1
体部	176.0 ± 22.6	87.7 ± 16.8
尾部	192.1 ± 14.5	89.3 ± 26.1

図5 膵 elastase 注入5分後の膵組織。膵実質、小葉間間質に出血像を認める。細胞の変性壊死は認められない。

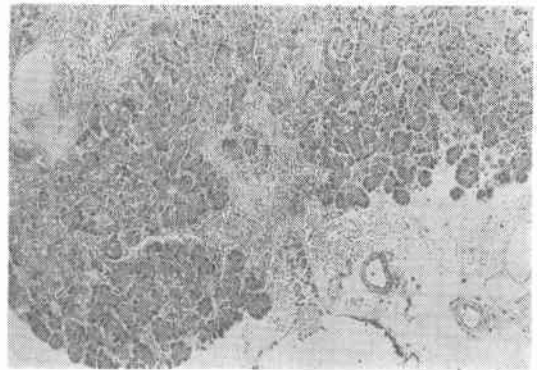


図6 膵 elastase 注入15分後の膵組織。膵実質内および小葉間間質の出血が著明になる。

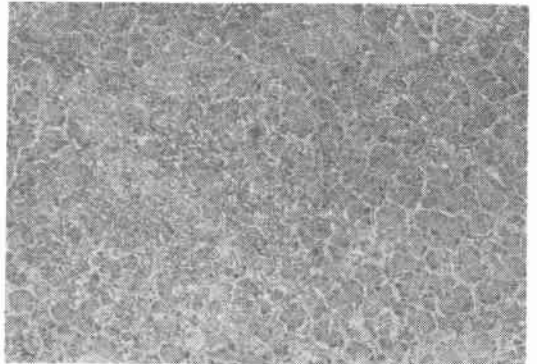


図7 膵 elastase 注入15分後小葉間間質の細動脈壁の破壊がみられる。

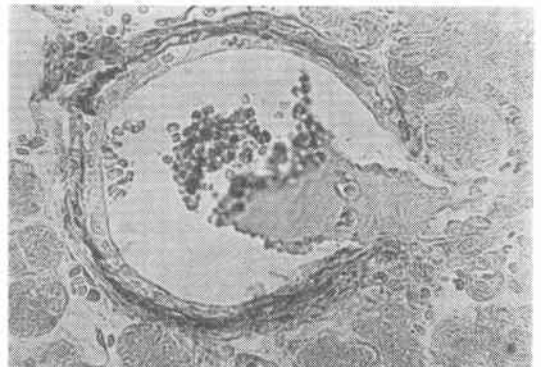


図8 膵 elastase 注入1時間後の膵組織。出血に伴う膵分泌細胞の変性壊死が認められる。

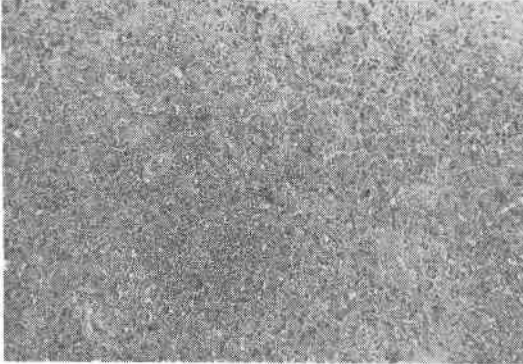


図9 膵 elastase 注入5時間後の膵組織。膵細胞の変性壊死、出血が著明に認められる。

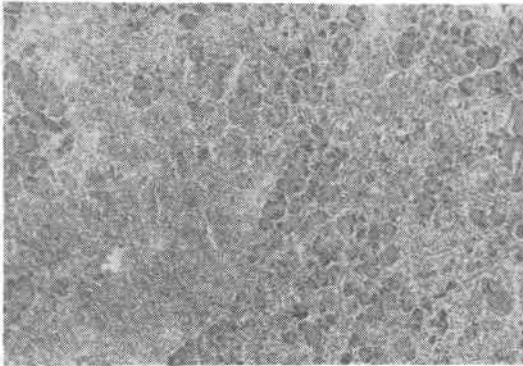
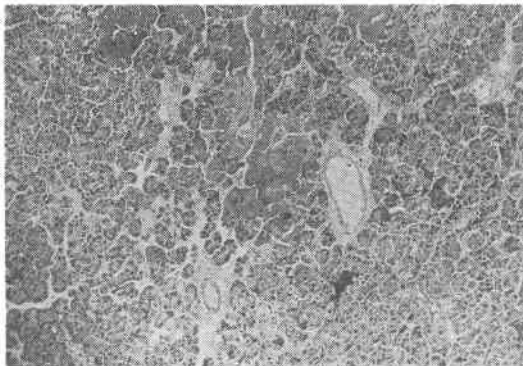


図10 自家胆汁注入5分後の膵組織一部に focal necrosis を認めるが実質は比較的よく保もたれ、出血像は認めない。



正常の像を示した。elastase 注入15分後では、小葉間間質および膵実質内の出血は、5分後のそれに比較して、さらに著明に認められた。しかし実質細胞の変性、壊死等は認められなかつた(図6)。また、この時期では、小葉間間質の細動脈で、動脈壁の破壊が認められ、明らかな elastolysis の像を呈していた(図7)。elastase 注入30分後では、小葉間間質、実質内の出血はさらに著しくなり、膵内外分泌細胞の変性、壊死を認めたがその程度は軽度であつた。1時間後では、出血に伴う膵内外分泌細胞の変性、壊死の増加が著明に認められた(図8)。elastase 注入5時間後では、出血は一層著明になり、膵内外分泌細胞の変性、壊死も著明で、明らかな出血性壊死性膵炎の像を呈していた(図9)。

自家胆汁注入5分後の膵では、膵実質は浮腫状となり、実質は比較的よく保たれているが、一部には、Focal

図11 自家胆汁注入1時間後の膵組織。実質細胞の変性壊死が著明であるが、出血像は認めない。

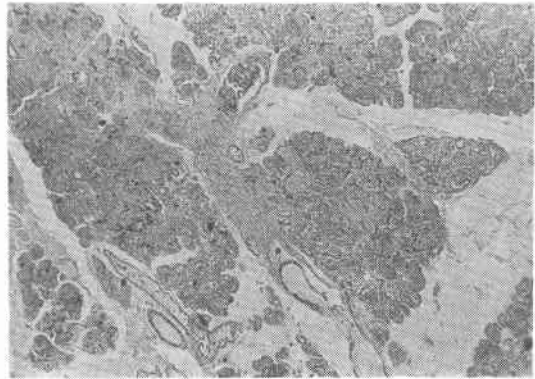
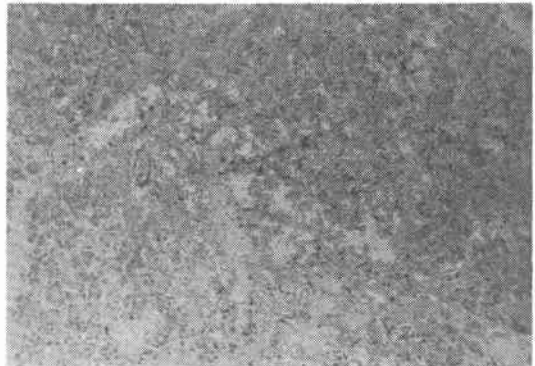


図12 自家胆汁注入5時間後の膵組織。膵細胞の変性壊死が著明となり、同時に出血像も認められる。



necrosis を認めた。しかし膵実質内および小葉間間質などには出血は認められなかつた(図10)。自家胆汁注入15分、30分、1時間後では、いずれも上記の組織所見が著明となり実質細胞の変性壊死もみられたが、出血像はみられず、小葉間間質の細動静脈もよく保たれていた(図11)。

注入5時間後では、膵内外分泌細胞の変性、破壊、壊死が非常に著明になると同時に、出血が膵実質内および小葉間間質内に著明に認める様になり、出血性壊死性膵炎の像を呈していた(図12)。

考 按

急性膵炎時に、膵酵素の逸脱現象として、血中 amylase が増加することは古くから知られているが、これら膵 amylase の血中逸脱の機序としては、膵炎により毛細管の透過性が著明に変化し、局所的には静脈性にアミラーゼ、リパーゼ、トリプシンの吸収が行われる。またこれら酵素は被包下の space に移動し、毛細血管の透過性に伴い腹腔内への体液の著明な貯留を起こす。酵素を多く含んだこれら体液は腹腔リンパ管に吸収され、胸管内に流入する。結局、急性膵炎での血清 amylase の上昇機序は、最初は膵静脈中に酵素が吸収されることによるが、その後は、高濃度に酵素を含む血性の腹水がリンパ行性に再吸収されると考えられている。また、一方、膵管結紮により血清 amylase が徐々に上昇し、組織学的に腺房破壊を伴わずに血中への酵素の逸脱する事実からも、血清 amylase 上昇の機序は膵管内圧上昇による血中への酵素の流出が示唆され、簡単には結論し難い。また、実験的急性膵炎時の血清 amylase 値についての Egdahl¹⁰⁾、Klowless¹¹⁾ および Thistlethwait¹²⁾ らの報告では、膵組織の病変の程度と血清 amylase 値の上昇の間には相関関係を認めることは困難であると述べられている。本実験における自家胆汁および膵 elastase 膵炎時の血中 amylase、lipase の変動は、種々の方法で惹起させた膵炎と同様の反応を示し、両群の間には有意の差は認められず、また、血中 total および Free elastase の変動も諸家の報告と同様の変動を示し、両群の間には差異は認められず、注入物質の差による膵障害とこれら血中膵酵素の変動とは余り関係ないものと考えられた。

膵炎の発生ならびに進展の因子として、近年 phospholipase A や elastase が重要な役割を持つと考えられており、従来から急性膵炎の発生に重視されてきた蛋白分解酵素ことに trypsin は直接の膵実質破壊には疑問がもたれ、むしろ膵液中や膵組織中に存在する phospho-

pholipase A や proelastase を活性化し、膵炎を惹起せしめる2次的な因子として重要視されるようになってきている。phospholipase A の急性膵炎発生に演ずる役割については Creutzfeld¹³⁾ や中瀬¹⁴⁾、水本¹⁵⁾らによつて詳細に報告されている。膵炎の局所病変としては浮腫性膵炎、出血性膵炎、壊死性膵炎がみられるが、これらはそれぞれ別個の病像ではなく、急性膵炎の経過中において何らかの因子が加わることによつて移行してゆくものと考えられる。Anderson¹⁶⁾、Goodhead¹⁷⁾らは、その因子として血管性因子を重要視し、Geokas¹⁸⁾、19) 20) は自家胆汁、trypsin および elastase を注入して作成した膵の組織学的所見と膵組織中の elastase 含有量からいずれの場合においても、膵 elastase が膵組織の血管障害に大きく関与するとのべている。

elastase は元来 proteolytic および elastolytic の2つの作用を持つ酵素であり、trypsin などでは分解しえない血管壁の elastic fiber を融解し、出血を起こすことが知られている。また、proteolytic の作用では Trypsin inhibitor (Trasylol) などによつて阻害できないことから elastase の持つ elastolytic な作用はかなり特異的なものと考えられる。一方、Hall²¹⁾ は elastase には thrombogenesis の作用を認めると報告していることから、elastase は膵炎増悪因子としての血管因子に大きな影響を持つものと推定される。

本実験において、elastase 注入5分後の膵の病理組織学的所見で、すでに膵実質および小葉間間質に出血を認め、15分後には、これら出血は一層著明となり、一部小葉間間質の細動脈に破壊が認められ、elastolysis の所見がみられた。また、細動静脈の一部には明らかな血栓形成もみられた。このような動脈壁の elastolysis および細動静脈の血栓形成などの血管系の変化は、elastase 注入による直接の影響と推測されるが、この時期における膵内外分泌細胞は変性、壊死などほとんど認められず、30分、1時間、5時間と経過するにしたがつて出血が著明になると同時に、漸次膵内外分泌細胞の変性、壊死もみられ、明らかな出血性膵炎の像を呈していた。すなわち elastase 膵炎にみられる膵細胞の変性、壊死は、血管変化に伴つた2次的なものと考えられる。

一方、自家胆汁注入膵炎の膵組織像では、elastase 膵炎発生の経過とは異なり5分後では、膵実質は浮腫状でほとんど正常に近く、一部に Focal necrosis を認めたが、膵実質内および小葉間間質での出血は全く認められなかつた。さらに、15分、30分、1時間経過後の膵組織

所見でも同様に、膵内外分泌細胞の変性、壊死は著明に進行するが、出血はほとんど認められない。5時間後の所見では膵内外分泌細胞の変性、壊死とともに、膵実質内および小葉間質に明らかな出血像が認められた。またこれら出血性壊死性膵炎像を示した膵組織中の elastase 量は著明に減少していた。以上の事実から膵エラスターゼが浮腫性膵炎から出血性壊死性膵炎への進展に重要な役割を演じているものと推測された。すなわち急性膵炎の発生機序については、1901年 Opie²²⁾の研究以来種々検討されているが、ともかく何らかの原因による膵管内への感染性自家胆汁の逆流により、膵管の破壊が起り、活性化された膵酵素が間質に逸脱し膵の自己消化が起ると解されている。この際膵内に存在する proelastase も trypsin や cathepsin よつて活性化され、膵に出血性変化をもたらしたと思われる。

臨床的には、浮腫性膵炎から出血性壊死性膵炎へ移行する例は必ずしも多くないが、臨床でみられる出血性膵炎の子後は極めて悪く、Lawson²³⁾によると50%から90%の死亡率を、Jordan および Spjut²⁴⁾は51人の出血性膵炎患者のうち1回の attack で重症膵炎を発生した患者は49人におよび、かつその死亡率は89%であつたと報告している。Tranpneil²⁵⁾は膵炎患者死亡例の2/3は、最初の48時間に死亡しているとのべ、Shader および Paxton²⁶⁾は、早期死亡患者は輸液の不適当なことが原因であるとのべている。このように激症膵炎患者は、shock で死亡する例がほとんどであることから早期に出血性膵炎を診断し、治療することが重要と考えられる。しかしながら、かかる膵炎の進展機序については充分明らかにされたとはいえないが、先にも述べたように膵 elastase がこれに関与しているものと想像される。Olsen²⁷⁾は methemalbumin の測定が出急性膵炎早期診断の指標になると報告しているが Anderson²⁸⁾らは必ずしも特異的でないとおり、むしろ、われわれは血清 elastase の変化が有意義と考えている。ただ血中 elastase の測定については笠原²⁹⁾らは radioimmunoassay 法を用いているが操作が必ずしも容易でなく、この点、今後さらに検討していくつもりである。

結 語

雑種成犬の膵管内に膵 elastase 30mg を注入して作成した膵 elastase 膵炎の病態について、自家胆汁性膵炎を対照群として検討した。

1) 血中 amylase 値ならびに lipase 値ともに膵炎発生後経時的に上昇し、とくに対照群との間に有意の差は

なかつた。

2) 血中の total elastase, free elastase は膵炎発生後5時間までの観察であるが対照群と同様に漸次減少傾向を示した。

3) 対照群の自家胆汁性膵では膵炎発生5時間の膵 elastase 含有量は、膵炎像が著明であつた膵体尾部において著明に減少していた。

4) 膵の病理組織所見では早期から膵実質および小葉間質の出血、一部小葉間質の細動脈壁の破壊がみられ、elastolysis の像を呈したが実質細胞の変性壊死は早期にはみられず、5時間後には明らかな出血性壊死性膵炎の像を呈した。これに対して自家胆汁注入の対照群では比較的早期から実質細胞の変性壊死がみられ、出血は著明でなく、5時間後には出血も著明にみられ、出血性壊死性膵炎像を呈した。

以上の事実から膵 elastase は浮腫性膵炎から出血性激症性膵炎への進展に重要な役割を演ずるものと推測された。

本論文要旨は第74回日本外科学会、第61回日本消化器病学会総会において発表した。

文 献

- 1) Dragstedt, L.R., et al.: Pathogenesis of acute pancreatitis (acute pancreatic necrosis) Arch. Surg., **28**: 232, 1934.
- 2) Beck, I.T., et al.: The role of pancreatic enzyme in the pathogenesis of acute pancreatitis. Gastroenterology, **46**: 531, 1964.
- 3) Elmsie, R.T., et al.: The significance of reflux of trypsin and bile with pathogenesis of human pancreatitis. Brit. J. Surg., **53**: 809, 1966.
- 4) Satake, K., et al.: Elastase activity in pancreatic juice and plasma of the dog. Arch. Surg., **104**: 64, 1972.
- 5) Satake, K., et al.: Plasma elastolytic enzyme activity in pancreatic disease. Arch. Surg., **104**: 62, 1972.
- 6) Ceska, M.: A new and rapid method for the clinical determination of alpha-amylase activities in human serum and urine. Clin. Chim. Acta., **26**: 437, 1969.
- 7) Cherry, I.S. and Crandall, L.A.: The specificity of pancreatic lipase: Its appearance in the blood after pancreatic injury. Am. J. Physical., **100**: 266, 1932.
- 8) Rinderknecht, H. and Geakas, M.C.: Determination of elastolytic activity in blood and normal subjects and patients with acute

- pancreatitis. Clin. Chim. Acta., **19**: 89, 1968.
- 9) Rinderknecht, H., et al.: New methods for the determination of elastase. Clin. Chim. Acta., **19**: 327, 1968.
 - 10) Egdahl, R.H., et al.: Mechanism of blood enzyme changes following the production of experimental pancreatitis. Ann. Surg., **148**: 389, 1958.
 - 11) Klowllessar, O.D.: The daignostic value of serum enzyme determinations in pancreatic disease. Med. Clin. N. Amer., **44**: 817, 1960.
 - 12) Thistlethwait, J.R. et al.: Serum amylase levels in experimental pancreatitis. Surg., **31**: 495, 1952.
 - 13) Creutzfeldt, W.: The etiology and pathogenesis of pancreatitis. Scan. J. Gastroent., **5**: 47, 1970.
 - 14) 中瀬 明: 急性膵炎—病態生理と診断過程—。臨床外科, **28**: 1527, 1973.
 - 15) 水本竜二: 急性膵炎の診断と治療。外科診療, **66**: 1281, 1974.
 - 16) Anderson, M.C., et al.: Microcirculatory dynamics in the normal and inflamed pancreas. Am. J. Surg., **115**: 118, 1968.
 - 17) Goodhead, B., et al.: Acute pancreatitis and pancreatic blood flow. Surg. Gyne. Obstet., **129**: 331, 1969.
 - 18) Geokas, M.C., et al.: The role of elastase in acute pancreatitis: I. Intrapancreatic elastolytic activity in bile induced pancreatitis in dogs. Arch. Path., **86**: 117, 1968.
 - 19) Geokas, M.C., et al.: The role of elastase in acute pancreatitis. II. Intrapancreatic elastase in acute pancreatitis. II. Intrapancreatic elastolytic activity in trypsin induced pancreatitis in dog. Arch. Path., **86**: 127, 1968.
 - 20) Geokas, M.C., et al.: The role of elastase in acute pancreatitis. III. The destructive capacity of elastase on pancreatic tissue in vivo and in vitro. Arch. Path., **86**: 127, 1968.
 - 21) Hall, D.A., et al.: Elastase and thrombogenesis. Nature., **199**: 454, 1963.
 - 22) Opie, E.L.: Etiology of acute pancreatitis. Amer. J. Med. Sci., **121**: 27, 1901.
 - 23) Lawson, D.W., et al.: Surgical treatment of acute necrotizing pancreatitis. Ann. Surg., **172**: 605, 1970.
 - 24) Jordan, M.H., et al.: Hemorrhagic pancreatitis. Arch. Surg., **104**: 489, 1972.
 - 25) Trapnell, J.E., et al.: A controlled trail of trasylol in the treatment of acute pancreatitis. Br. J. Surg., **61**: 177, 1974.
 - 26) Shader, A.E. and Paxton, J.R.: Fatal pancreatitis. Amer. J. Surg., **111**: 369, 1966.
 - 27) Olsen, H.: Pancreatitis a prospective clinical evaluation of 100 cases and review of the literature. Digestive Diseases., **19**: 1077, 1974.
 - 28) Anderson, M.C., et al.: Assesment of methemalbumin as a dignostic test for acute pancreatitis. Arch. Surg., **98**: 776, 1969. Arch. Surg., **98**: 776, 1969.
 - 29) Kasahara, K., et al.: Elastase levels during bile induced pancreatitis in dogs determined by radioimmunoassay. Surg. Gyne. Obstet., **141**: 347, 1975.