日消外会誌　13（8）：1016～1022，1980年

術後膵炎および膵手術後合併症の予防に関する実験的研究

金沢大学第2外科
木　南　義　男

EXPERIMENTAL STUDY ON PREVENTION OF THE POSTOPERATIVE PANCREATITIS AND THE PANCREATIC COMPLICATION AFTER SURGICAL PROCEDURES OF THE PANCREAS

Yoshio KINAMI
Department of Surgery II, School of Medicine, Kanazawa University

術後膵炎や膵酵素に基づく膵手術後合併症を予防する目的で，膵蛋白合成阻害剤投与による外分泌酵素の抑制効果を手術侵襲前後のラット膵につき検討した．膵蛋白合成阻害剤として 5-fluorouracil 投与を受けた 5-FU 群と生食水投与の対照群につき，単開腹および膵小手術前後の膵蛋白合成能と膵内酵素活性値を検討した．膵蛋白合成能についてみると，対照群では両手術直後の低下と早期の回復を示したが，5-FU 群では術後の回復に抑制が認められた．両手術後，対照群では膵内酵素活性値の保持をみたが，5-FU 群では対照群に比し活性値の低下が認められた．これらの所見は膵蛋白合成阻害剤投与が術後における膵酵素の抑制効果を有することを示唆している．

索引用語：術後膵炎，膵手術後合併症，膵蛋白合成阻害，膵内酵素

はじめに

膵臓は，蛋白合成の最も盛んな organ の1つであり，生成された多量の外分泌酵素を含んでいる．外分泌細胞内における酵素合成やその分泌にいたるまでのメカニズムに関する多くの研究[1)2)]をみるが，同様の目的で蛋白合成阻害作用を有する薬剤を用いた研究も Longnecker ら[3)]や他の人々[4)~8)]により行われた．

1973年 Johnson ら[9)]は5-fluorouracil をラットに投与し，電顕的にその蛋白合成阻害効果を検討し，犬の実験的急性膵炎治療に本剤が有効であることを報告している．一方，著者ら[10)]は膵蛋白合成阻害剤として臨床的に使用可能な薬剤のスクリーニングを実験的に行い，5-fluorouracil と Vincristine を選択した．また，これらの薬剤を膵疾患の若干例に臨床応用として投与したところ，治療的観点において膵酵素合成阻害効果[11)12)]が示唆された．今回，術後膵炎や膵酵素による膵手術後合併症を予防する目的で，膵蛋白合成阻害剤投与による外分泌酵素の抑制効果を手術侵襲前後のラット膵につき検討した．

材料および方法

1）材料　食餌の影響を除くため3日間絶食した雄の呑竜ラット（体重200～300g）を実験に供した．膵蛋白合成阻害剤としては，すでに報告[10)]した基礎実験の成績から，5-fluorouracil（以下 5-FU）を選択し使用した．

2）方法　単開腹を行うラットは，生食水 0.6ml が1日1回の頻度で3日間腹腔内に投与された対照群（75匹）と，同様に 5-FU 15mg/kg（0.6ml の生食水に稀釈）が3日間腹腔内に投与された5-FU 群（75匹）に分けられた．これらのラットは3日目の処置1時間後にエーテル麻酔下で開腹され，直ちに閉腹された．開腹前，閉腹後6，12，18および24時間目における膵蛋白合成能と膵内酵素活性値が両群において測定された．つぎに，膵小手術を行うラットも前実験と同様の処置で対照群（84匹）と 5-FU 群（84匹）に分けられた．両群とも3日目の処置の1時間後にエーテル麻酔下で開腹され，膵小手術として膵尾側一定部位での atraumatic Tevdek (6—0) 糸による膵実質結紮が行われ，閉腹された．前実験と同様に膵蛋白合成能と膵内酵素活性値が両群にお

いて測定された.

膵蛋白合成能の測定は以下のごとく行った. 標識アミノ酸の ^{3}H-Leucine (DL-Leucine-4, 5-H^3) 0.1μCi/g 体重をラットの尾静脈内に投与した. 1時間後にエーテル麻酔下で開復し, 生食水による膵血管の灌流後, 膵を剔出した. この剔出膵に0.01M Tris-HCl Buffer (pH7.0) 4ml を加えホモジネートし, 10% TCA (三塩化酢酸) を最終濃度が5%となるように混じ濾過した. 資料をTCA 可溶分画と不溶分画に分離した後, それぞれにシンチレーター (Toluen 700ml, POPOP 0.1g, DOP 4g, Triton 100 300ml) を加え, 液体シンチレーションカウンターにて放射能を1分間測定した. なお, 放射能測定値は膵蛋白量 1mg 当りに換算して検討した. 膵蛋白量の測定は Lowry-Folin 法で行ったが, TCA 処理の資料はつぎのごとき方法で測定した. TCA 可溶分画は適宜稀釈して蛋白量を測定し, TCA 不溶分画は再び 0.01M Tris-HCl Buffer (pH 7.0) に溶解し遠心後, 上清をとり測定した.

膵内アミラーゼおよびリパーゼ活性値の測定はつぎのごとく行った. 剔出膵に Tris-HCl Buffer (前実験に同じ) 30ml を加えホモジネート後, 10,000g にて遠心し上清をとり, これを適宜稀釈して酵素活性値および蛋白量を測定した. アミラーゼ活性値は Amylase Test Shionogi を, Lipase 活性値は Sigma Lipase Kit 800-B を用いて測定したが, いずれの活性値も単位蛋白量当りに換算して検討した.

成　績

1. 膵蛋白合成能

1) 単開腹術における所見　ラットに単開腹術を行い, 膵蛋白合成能を対照群および 5-FU 群につき検索し, 以下の所見を認めた (**表1**). 対照群の TCA 不溶分画中の放射能測定値についてみると, 開腹前は (294.5±34.0)×10cpm/mg pancreas protein (Mean±SD, 以下単位略) であり, 閉腹後6時間目は (118.5±25.3)×10とかなりの低下を示すが, 12時間以後では術前値と同様の測定値をみた. 他方, TCA 可溶分画中の放射能測定値は, 開腹前が (61.6±10.4)×10であり, 閉腹後においても同様の値を示した. すなわち, 単開腹後では一過性に膵蛋白合成能の低下をみるが, 比較的早期にその回復を認める. 5-FU 群の TCA 不溶分画中における放射能測定値をみると, 開腹前は (218.0±49.2)×10であり, 閉腹後6時間目は (119.9±30.2)×10と低下し, 以後, 漸次その増加傾向をみるが, 開腹前値に比し明らかに低値を示した. 他方, TCA 可溶分画中の放射能活性値は, 開腹前が (44.0±12.5)×10であり, 対照群と同様に閉腹後においても測定値に差をみない.

TCA 不溶分画中の放射能測定値を対照群と 5-FU 群との間で比較してみると, 開腹前値において 5-FU 群は有意 ($p<0.05$) に低値を示している. また, 5-FU 群は, 閉腹後12, 18および24時間値においても, 対照群に比し有意 ($p<0.01$) に放射能活性値の低下を示した (**図1**). すなわち, 5-FU 群では閉腹後における膵蛋

図1　単開腹術ラット膵における TCA 不溶分画中の放射能測定値所見

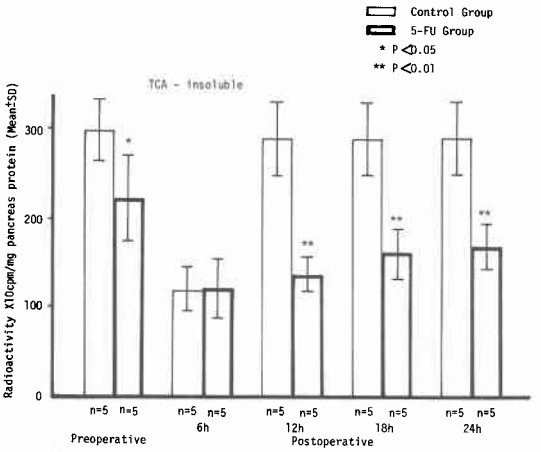


表1　単開腹術ラットにおける ^{3}H-leucine の膵内取り込み所見

		Preoperative (n=5)	Postoperative 6h (n=5)	12h (n=5)	18h (n=5)	24h (n=5)
Control Group	TCA-insoluble *	294.5±34.0	118.5±25.3	286.0±41.1	286.1±40.3	288.1±40.7
	TCA-soluble *	61.6±10.4	71.1±14.4	68.1±15.2	79.9±17.3	72.0±11.8
5-FU Group	TCA-insoluble *	218.0±49.2	119.9±30.2	137.0±20.0	158.0±26.8	163.9±25.2
	TCA-soluble *	44.0±12.5	40.5±14.8	45.2±18.0	43.9±10.4	36.1±11.3

* Radioactivity ×10cpm/mg pancreas protein (Mean±SD)

表2　膵小手術ラットにおける ^{3}H-leucine の膵内取り込み所見

		Preoperative (n=5)	Postoperative 6h (n=5)	12h (n=5)	18h (n=5)	24h (n=5)
Control Group	TCA-insoluble *	294.5±34.0	137.1±27.2	242.0±31.6	312.0±29.0	287.5±37.0
	TCA-soluble *	61.6±10.4	43.0±17.0	50.1±14.3	64.0±15.3	66.5±14.1
5-FU Group	TCA-insoluble *	218.0±49.2	124.2±29.3	144.0±22.3	132.1±24.5	152.1±28.3
	TCA-soluble *	44.0±12.5	36.0± 9.8	36.0± 8.4	47.4±16.2	40.0±19.1

* Radioactivity ×10cpm/mg pancreas protein (Mean±SD)

白合成能の回復が抑制されていることを認める.

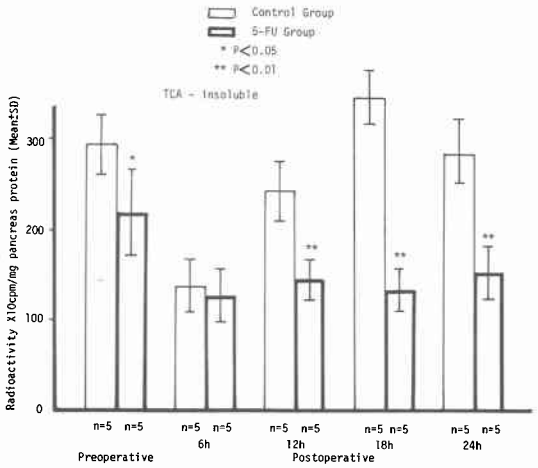
2) 膵小手術における所見　ラットに膵小手術を行い，膵蛋白合成能を対照群および 5-FU 群につき検索した（**表2**）．両群における TCA 不溶分画および可溶分画中の術前放射能活性値には前実験の開腹前値が用いられた．対照群の不溶分画中における放射能測定値をみると，膵小手術後6時間目は（137.1±27.2）×10と単開腹術と似た低値を示し，12時間目では（242.0±31.6）×10とかなりの回復をみるも術前値に比し低い．しかし，18時間以後では測定値の回復が認められ，術前値と大差をみない．TCA 可溶分画中の放射能測定値は膵小手術後のいずれの時間においても術前値と同様の値を示した．したがって，膵小手術後の対照群における膵蛋白合成能の回復には，単開腹術後に比し，若干の遅れが認められる．5-FU 群の TCA 不溶分画中における放射能測定値についてみると，膵小手術後6時間では（124.2±29.3）×10と単開腹術後にみられたと同様に低値であり，12時間以後においても6時間値と似た所見であった．また，TCA 可溶分画中の放射能測定値についてみると，膵小手術後のいずれの時間における測定値も術前値と似た値を示した．

TCA 不溶分画中の放射能測定値を対照群と 5-FU 群との間で比較してみると，膵小手術後12，18および24時間値において 5-FU 群は対照群に比し有意（$p<0.01$）に低値を示した（**図2**）．すなわち，5-FU 群では膵小手術後における膵蛋白合成能の回復が抑制されているといえる．

2. 膵内酵素活性値

1) 単開腹術における所見　対照群および 5-FU 群につき，単開腹術前後の膵内アミラーゼならびにリパーゼ活性値を測定した（**表3**）．対照群の術前アミラーゼ活性値は（77.8±8.5）×10^{2} somogyi unit/100ml/100mg pancreas protein（Mean±SD，以下単位略）であり，閉腹後12時間まで活性値に差をみない．しかし，18および

図2　膵小手術ラット膵における TCA 不溶分画中の放射能測定値所見



24時間値において活性の低下傾向がみられた．一方，5-FU 群の術前値は（56.0±7.6）×10^{2}であり，閉腹後の活性値には低下傾向を認めた．対照群と 5-FU 群のアミラーゼ活性値を比較してみると，術前値において 5-FU 群は対照群に比し有意（$p<0.01$）に低値を示したが，この所見は単開腹術後のいずれの時間においても同様に認められた（**図3**）．

対照群の術前リパーゼ活性値は（7.1±0.8）×10^{3} sigma-tietz units/ml/100mg pancreas protein（Mean±SD，以下単位略）であり，閉腹後に活性値は漸次軽度の低下傾向を示した．一方，5-FU 群の術前値は（5.3±0.4）×10^{3}であり，閉腹後では対照群と同様に活性値の低下傾向をみた．対照群と5-FU 群のリパーゼ活性値を比較してみると，術前，術後6，18および24時間値において 5-FU 群は対照群に比し有意（$p<0.01$）に低値を示した（**図4**）．

2) 膵小手術における所見　対照群および 5-FU 群につき膵小手術前後の膵内アミラーゼならびにリパーゼ

表3　単開腹術ラットにおける膵内酵素活性値所見

		Preoperative (n=5)	Postoperative 6h (n=5)	12h (n=5)	18h (n=5)	24h (n=5)
Control Group	Amylase *	77.8±8.5	80.0±15.1	82.2±10.0	70.5±12.0	66.1±2.1
	Lipase **	7.1±0.8	7.5± 0.3	6.3± 1.2	5.9± 0.3	5.2±0.4
5-FU Group	Amylase *	56.0±7.6	55.4± 6.0	50.0± 2.7	45.0± 9.4	39.3±2.4
	Lipase **	5.3±0.4	5.5± 0.4	5.0± 0.7	4.3± 0.7	4.0±0.5

* $\times 10^2$ Somogyi unit/100ml/100mg pancreas protein (Mean±SD)
** $\times 10^3$ Sigma-Tietz unit/ml/100mg pancreas protein (Mean±SD)

図3　単開腹術ラットにおける膵内アミラーゼ活性値所見

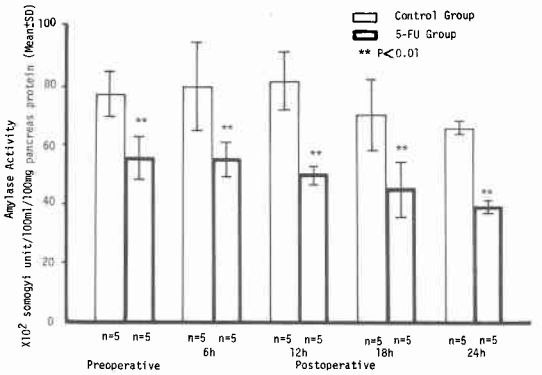
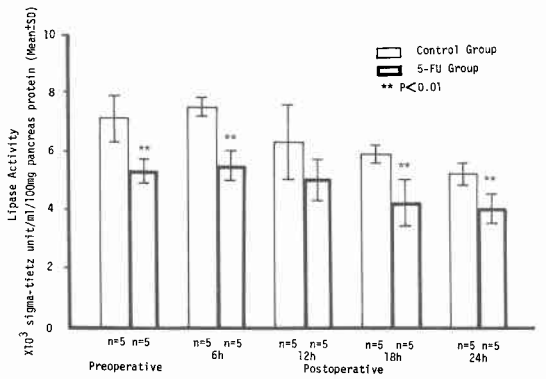


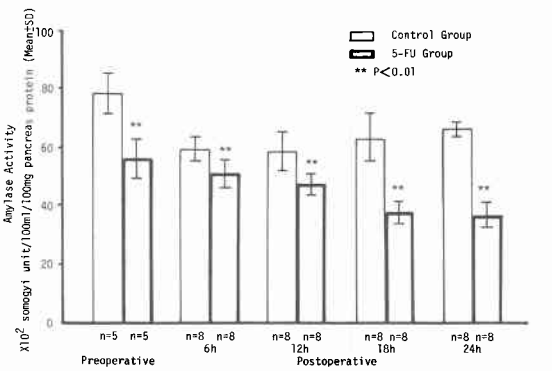
図4　単開腹術ラットにおける膵内リパーゼ活性値所見



活性値を測定し以下の所見を認めたが，両群の術前酵素活性値は前実験の術前値を用いた（**表4**）．対照群におけるアミラーゼ活性値は，膵小手術後6時間目に（59.7±4.5）$\times 10^2$ と術前値に比し低下し，それ以後では活性値に明らかな変動を認めない．一方，5-FU 群では膵小手術後6時間目に活性値は（50.9±3.8）$\times 10^2$ であったが，以後，漸次その低下がみられた．対照群と 5-FU 群のアミラーゼ活性値を比較してみると，膵小手術前後のいずれの時間においても 5-FU 群は対照群に比し有意（$p<0.01$）に低値を示した（**図5**）．

対照群におけるリパーゼ活性値は膵小手術後6時間目に（6.1±1.0）$\times 10^3$ と術前値（7.1±0.8）$\times 10^3$ に比し若干低下し，以後，同様の活性値の持続が認められた．一方，5-FU 群の膵小手術後6時間値は（5.0±0.7）$\times 10^3$ で術前値（5.3±0.4）との間に差をみないが，以後，漸次その低下をみた．対照群と 5-FU 群のリパーゼ活性値を比較してみると，膵小手術前後のいずれの時間においても 5-FU 群は対照群に比し有意（$p<0.01\sim0.05$）にその低値を示した（**図6**）．

図5　膵小手術ラットにおける膵内アミラーゼ活性値所見



考　察

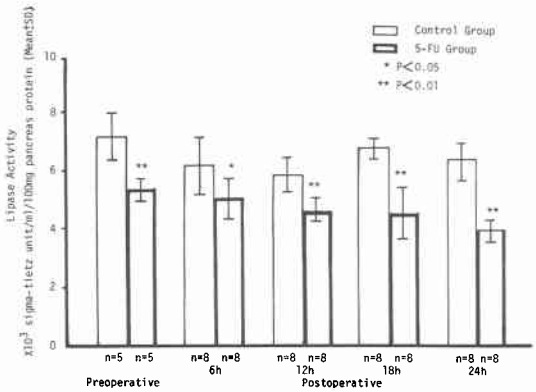
1966年 Volk ら[13]は，犬の膵にレントゲン照射を行い，zymogen 顆粒の減少と組織中の酵素の減少を認めた．その後，膵外分泌細胞における蛋白（酵素）合成の研究で，その阻害効果を有する薬剤を使用した報告がみ

表4　膵小手術ラットにおける膵内酵素活性値所見

		Preoperative (n=5)	Postoperative 6h (n=8)	12h (n=8)	18h (n=8)	24h (n=8)
Control Group	Amylase *	77.8±8.5	59.7±4.5	58.3±5.4	62.3±6.4	66.1±4.4
	Lipase **	7.1±0.8	6.1±1.0	5.8±0.6	6.7±0.4	6.3±0.6
5-FU Group	Amylase *	56.0±7.6	50.9±3.8	47.5±4.0	37.5±4.1	36.5±3.7
	Lipase **	5.3±0.4	5.0±0.7	4.6±0.4	4.5±0.8	3.9±0.4

* $\times 10^2$ Somogyi unit/100ml/100mg pancreas protein (Mean±SD)
** $\times 10^3$ Sigma-Tietz unit/ml/100mg pancreas protein (Mean±SD)

図6　膵小手術ラットにおける膵内リパーゼ活性値所見



られる．Longnecker ら[3]は wister 系ラットに Puromycin を頻回にわたり投与し急性膵炎の発生をみ，その原因を本剤のもつ蛋白合成阻害効果に帰した．Jamieson ら[5]は Cycloheximide を使用し蛋白合成とその細胞内輸送につき研究を行い，Rodriguez[4]，Watari[7] および Singh ら[8]は Actinomycin D を用い外分泌細胞内の蛋白合成に関する電顕的変化や組織中の酵素含量などの検索を実施した．一方，Martin ら[6]はラットに5-FU を投与し光顕および電顕所見において膵蛋白合成と酵素分泌機構に障害を生ずることを認め，Johnson ら[9]も同様の報告をするとともに，犬の実験的急性膵炎に 5-FU 投与が有効であったと述べている．

著者ら[10]は，蛋白合成過程に重要な RNA の役割に注目し，作用機序の面から，この RNA の阻害効果を有する制癌剤につき蛋白合成阻害効果を実験的に検討し報告した．これらの薬剤のスクリーニングテストにより，5-FU とこれまでに報告をみない Vincristine が臨床応用を考慮した場合に最も有益であると思われた．しかし，Martin ら[6]の報告にみられるごとく，前者には蛋白合成阻害効果のみならず酵素の分泌抑制効果も推察されることより，5-FU を今回の実験に用いた．

開腹術などの手術侵襲後における膵外分泌機能は膵液の所見から推察されるが，本庄ら[14]や白相[15]の報告にみられるごとく臨床例においては数日から1週間内に低下した機能の回復が生ずると思われる．また，単開腹術ラットにおける術後の膵蛋白合成能低下は比較的早期に回復し，膵内酵素は術後早期において術前値と同程度に保持されていることが著者の実験において認められ注目される．一方，膵小手術ラットにおける術後の膵蛋白合成能低下の回復は単開腹術ラットより遅れてみられるも，膵内酵素は単開腹術ラットと似た傾向を示している．すなわち，これらの所見は，膵の受ける侵襲の程度により異なるも，酵素合成能の回復は術後早期に生じ，外分泌酵素は比較的よく保持されていることを示唆している．

ところで，5-FU 群の蛋白合成能は，術前においてすでに対照群に比し低下をみ，単開腹術および膵小手術後の回復期において術前値以下の低下を示す．また，膵内酵素についてみると，5-FU 群では単開腹術および膵小手術後にその若干の低下傾向を示し，対照群に比し有意に酵素活性値の低下をみる．すなわち，これらの所見は，手術侵襲後において，5-FU 投与が膵外分泌機能の抑制効果をはたしていることを示唆するものである．

5-FU 投与を受けたラットの外分泌腺細胞内には増加した zymogen 顆粒[6)10)]がみられるが，ヒトにおいても同様の所見[11]が認められる．この所見は，Actinomycin D や Vincristine 投与により生ずる Zymogen 顆粒の減少所見と異なり，酵素の分泌障害[6]に基づくといわれる．この増加した zymogen 顆粒の性状が重要となるが，Martin ら[6]は，電顕における顆粒の electron densi-

ty の低下やリパーゼ反応の減弱所見より，その質的低下を指摘しており，著者ら[10]らも，autoradiography における zymogen 顆粒上の grain 数の減少およびその染色性の低下所見などより，蛋白合成阻害が生じていると考えている．これらの所見は膵内酵素活性値の低下として示されるが，生成されるすべての酵素に質的変化が一様に生じているか否かは明らかでない．

膵蛋白合成に関する研究において，その阻害作用を示す薬剤の投与量はいずれも大量であるが，他臓器障害が軽く，膵への移行が高く，臨床的投与量の範囲内で効果が得られる薬剤が望まれる．著者ら[10]の制癌剤のスクリーニングでは 5-FU が最も目的に合致する薬剤である成績をみたが，山田ら[16]はラットに 5-FU を投与し膵組織および膵液中にかなりの濃度の本剤を認めたと述べ関心がもたれる．

術後膵炎および膵酵素に基因すると思われる膵手術後合併症の原因は，手術内容自体によるとしても，多彩であり，これらの発生を予防することはかならずしも容易でない．すでに合成され外分泌腺細胞外に逸脱した酵素に対しては Trasylol, Chlorophil a や CDP-choline などの阻害剤[17)~19)]の投与が有効なことはいうまでもない．一方，術前および術後において一時的に酵素合成を抑制することから，これらの発生を予防あるいは軽減する方法は，著者の実験所見が示すごとく，有益と思われ一層の研究が期待される．

むすび

膵蛋白合成阻害剤として 5-FU を投与した 5-FU 群と生食水投与の対照群ラットに単開腹術および膵小手術を実施し，手術前後の膵蛋白合成能ならびに膵内酵素活性値を検討した．

1) 単開腹術ラットの蛋白合成能は次のごとくであった．すなわち，対照群の蛋白合成能は術直後に低下し，以後，早期にその回復を示した．また，5-FU 群の蛋白合成能は術直後以外において対照群より有意に低下し，回復の抑制を生じた．

2) 膵小手術ラットの蛋白合成能は次のごとくであった．すなわち，対照群の蛋白合成能は，単開腹術後に比し，時間的遅れを示すも比較的早期に回復した．また．5-FU 群の蛋白合成能は術直後以外において対照群より有意に低下し，回復の抑制を生じた．

3) 単開腹術および膵小手術後における膵内アミラーゼならびにリパーゼ活性値は次のごとくであった．すなわち，対照群のこれら膵内酵素活性値は比較的によく保持された．一方，5-FU 群のこれら膵内酵素活性値は，いずれの時間においても，対照群に比し有意に低値であった．

（この研究は文部省科学研究費による）

文　献

1) Caro, L.G., et al.: Protein synthesis, storage, and discharge in the pancreatic exocrine cell, an autoradiographic study. J. Cell Biel., **20:** 473—495, 1964.
2) 青山進午ほか：膵臓．代謝の生理学 I，生理学大系 IV—1，172—202，医学書院，東京，1970.
3) Longnecker, D.S., et al.: Acute pancreatic necrosis induced by puromycin. Laborat. Invest., **16:** 321—329, 1967.
4) Rodriguez, T.G.: Ultrastructural changes in the mouse exocrine pancreas induced by prolonged treatment with actinomycin D. J. Ultrastructure Research, **19:** 116—129, 1967.
5) Jamieson, J., et al.: Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. III. Dissociation of intracellular transport from protein synthesis. J. Cell Biol., **39:** 580—588, 1968.
6) Martin, B.F., et al.: A light and electron microscope study of the exocrine pancreas following administration of 5-fluorouracil. J. Anat., **104:** 93—107, 1969.
7) Watari, N.: Electron microscopical observations on the pancreas after the administration of actinomycin D. J. Electron Microscopy, **19:** 317, 1970.
8) Singh, M., et al.: Effect of drugs on pancreatic amylase secretion in vitro. Gastroenterol., **63:** 449—457, 1972.
9) Johnson, R.M., et al.: Treatment of experimental acute pancreatitis with 5-fluorouracil (5-FU). Amer. J. Surg., **125:** 211—222, 1973.
10) 木南義男ほか：膵外分泌腺の蛋白合成におよぼす各種制癌剤の効果．日消会誌，**72**：811—821，1975.
11) Kinami, Y., et al.: Clinical effect of anticancer drugs to pancreatic diseases as protein synthesis inhibitors. Gastroenterologia Japonica, **11:** 123—132, 1976.
12) Kinami, Y., et al.: Prevention of the pancreatic complications after surgical procedures of the pancreas. World J. Surg., **2:** 881—890, 1978.
13) Volk, B.W., et al.: The effect irradiation on the fine structure and enzymes of the dog pancreas. Amer. J. Pathol., **48:** 721—753,

1966.
14) 本庄一夫ほか：膵大量切除後の治療．外科診療，**13**：146—150，1971.
15) 白相光康：膵管ドレナージ法による膵外分泌機能の検討．日消会誌，**70**：658—672，1973.
16) 山田伸明ほか：抗癌剤の膵液中排泄．日消会誌，**71**：901—905，1974.
17) Skyring, A.P., et al.: Treatment of acute pancreatitis with trasylol; report of a controlled therapeutic trial. British Medical J., **2**: 627—629, 1965.
18) 戸田安士ほか：急性膵炎の治療—内科的立場から—．最新医学，**27**：1688—1695，1972.
19) 香月武人：急性膵炎の診断と治療．外科治療，**29**：266—272，1973.