

# 膵線維化の機序に関する実験的研究

## 特に膵組織ハイドロキシプロリン量と膵線維化

熊本大学第1外科

井上吉弘

### THE EXPERIMENTAL STUDY ON FIBROSIS IN THE CANINE PANCREAS AFTER PANCREATIC DUCT LIGATION, WITH SPECIAL REFERENCE TO CONTENTS OF HYDROXY PROLINE AND FIBROSIS

Yoshihiro INOUE

First Department of Surgery, Kumamoto University Medical School

各種病態下と膵腸吻合術後の膵線維化の動態を知る目的で、犬の実験的膵管閉塞膵のハイドロキシプロリン（以下 Hypro と略す）を中性塩可溶性、酸可溶性および不溶性分画にわけて測定した。膵管閉塞膵の組織学的線維化の程度と膵の Hypro 量とは比較的良好の相関を示し、胆管結紮後の膵管閉塞膵では、膵管結紮1週目では線維化は抑制され、2週目になると促進された。また膵管内に胆汁を注入直後、膵管結紮を行い、1週経たものでは膵管結紮のみを行って膵液うっ滞を1週負荷したものと膵組織のコラーゲン量や組織像に有意の差を認めなかった。犬の膵管を結紮するとき、1週目までは膵の線維化は可逆的であったが、2週目になると線維化は不可逆的であった。

索引用語：膵線維化ハイドロキシプロリン、膵管結紮、閉塞性黄疸、膵腸吻合

#### 緒言

慢性乳頭炎、乳頭部癌、膵部癌など各種の病変により膵管が狭窄または閉塞すると膵組織の線維化が起こり、膵の内外分泌細胞も障害されるに至る。これらの疾患に対しては、原因となる病変部の切除が可能な例では、その部の切除後に膵腸吻合術などの膵管消化管吻合手術が行われるが、術後の膵機能はかならずしも回復しない。一般に、この種の膵腸吻合術後の膵機能は手術時の線維化の程度に強く左右され、膵腸吻合が完全に行われていても術後膵線維化が進行する症例もみられる。膵管狭窄または閉塞により増生された膵組織内線維が、膵腸吻合術などの decompression 法で膵液うっ滞を解除することにより消退し得るか、あるいは不可逆的に進行するものかは膵腸吻合術の適応決定のうえで重要な鍵となる一方、胆道と膵は胎生学的にも解剖学的、生理学的にも密接な関連を有し、膵頭領域域癌などでは膵管閉塞のほか胆管閉塞による閉塞性黄疸、肝障害がしばしば同時に

起るのみならず、さらに膵腸吻合後は胆汁の膵管内への逆流の可能性もあるなど胆道系とのかわりあいについても考慮しなければならない。本研究では、膵管閉塞による膵の線維化の可逆性の限界をさぐる目的で実験動物として犬を用い、胆管閉塞による黄疸犬、膵管内に胆汁を注入した犬ならびに正常犬の膵管閉塞後および、同閉塞解除後の膵組織において線維蛋白の主体をなすコラーゲンの示標となるハイドロキシプロリン（以下 Hypro と略す）量の変動を、膵組織の中性塩可溶性、酸可溶性、不溶性分画のおのおのについて測定し、膵線維化の動態および線維形成機序を検討した。

#### 第1章各種病態下における膵管閉塞膵の Hypro 量

##### 1. 実験材料および法

a) 実験動物は 7~21kg の雑種成犬44頭を用い手術前24時間は絶食させた。実験群を下記の A, B, C 3群にわけた。

1) A群（胆管非結紮群）：

犬26頭をペントバルビタール麻酔下に開腹し、主副膵管が十二指腸に開口する直前で二重結紮離断し、一定期間（5日、1週間、2週間、3週間、6週間）後、膵管の再開通のないことを確認して膵液うっ滞膵として検査に供した。

2) B群（胆管結紮群）

犬9頭の総胆管を結紮離断し、1週間後に閉塞性黄疸を来した動物の主副膵管をA群と同様の操作で結紮離断し、その1週間あるいは2週間後、膵管の再開通のないことを確認し膵を検査に供した。

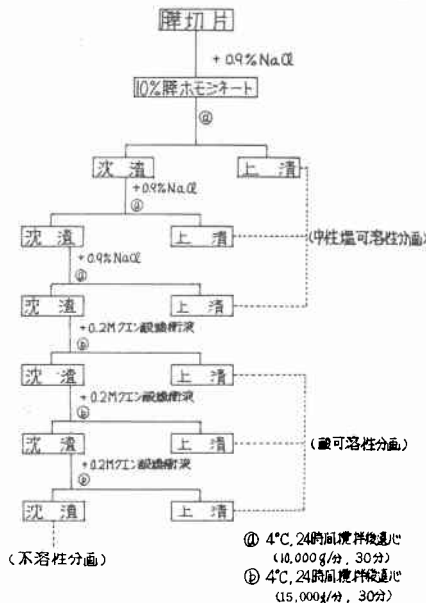
3) C群（自家胆汁注入群）

犬5頭を用いて、空腹時開腹し胆のうの内から採取した新鮮自家胆汁 0.1ml/kg を膵管内に 30cmH<sub>2</sub>O を越えない圧で注入後、主副膵管をA群と同様の操作で結紮離断し、膵液うっ滞を1週間持続せしめ、その膵を検査に供した。

b. 膵組織 Hypro 定量のための試料採取

実験動物を屠殺し、または生かしたまま手術的に膵組織を摘出し、図1に示す如く直ちに膵3gに0.9%塩化ナ

図1 膵組織 Hypro 定量用測定試料分離法



トリウム溶液 30ml を加え、水中にて Vertis ホモジナイザーによって碎切した。この10%膵ホモジネートを 4°C, 24時間、充分に攪拌した後、10,000×g, 30分冷却遠心し、第1回目の上清を採取した。沈渣には再び 0.9%塩化ナトリウム溶液 20ml を加え、同様の攪拌、

遠心の操作により、第2回目の上清をとり、その沈渣に再度同様な操作を加え、合計3回の遠心上清をあわせて、これを中性塩可溶性分画とした。

次いで上述の遠心第3回目の上清を採取した後の沈渣に 20ml の 0.2M ケエン酸緩衝液 (PH3.5) を加え、4°C, 24時間、攪拌後 15,000×g, 30分間冷却遠心した上清を取り、その沈渣に同様な緩衝液を加えその後攪拌遠心、上清採取の操作を2回繰返し、合計3回分をあわせた上清を酸可溶性分画とした。以上の酸可溶性分画抽出操作後の沈渣を不溶性分画とし48時間凍結乾燥を行い乾燥重量を測定した。以上3つの分画の一定量に 5ml の 6N 塩酸を加え110°C, 18時間の条件下で加水分解を行った。その後塩酸を温浴上で陰圧蒸発除去し、5ml の水に溶解し Hypro 測定用試料とした。

c. 膵蛋白質量、膵 Hypro 量の測定法

各分画の蛋白質量は Lowry<sup>2)</sup> らの方法により測定し、Hypro 量は Prockop-Udenfriend<sup>3)</sup> 法により定量した。比色測定は Beckman-DB 型比色計を使用した。

d. 組織学的検索：組織学的検査のためには、10%ホルマリン固定後、ヘマトキシリンエオジン、マッソン染色を行って検索した。

2. 実験成績

a. A群（胆管非結紮群）：膵組織 3g の総 Hypro 量は Control として使用した健常犬4頭の正常膵では 15.37±6.61μmole であるが、膵管結紮1週で 29.12±10.13μmole, 2週で 41.56±4.83μmole などとなり、膵管結紮期間とともに増加し、とくに3週目以降に増加が著明であった（図2）。

各分画について Hypro 量を見ると、可溶性分画は図3に示すように2週目までは次第に増加し、それ以後は減少した。不溶性分画では図4に示すように膵液うっ滞負荷とともに増加し、とくに3週以降が著明であった。総 Hypro に占める可溶性分画 Hypro の割合は正常膵では20.0%で膵管結紮5日目、1週目においても19.8%、20.6%とほぼ同じ比率を示したが、2週目になると27.3%と可溶性分画 Hypro の占める割合が増加した。しかしその後3週目、6週目では16.8%、8%と減少した。組織像については膵管結紮5日目には線維増生は膵管周囲にのみ見られ、小葉内には認めなかった。1週目では膵管周囲とともに小葉内の一部にも線維増生が認められ（図5）、2週目には線維組織による小葉分割が見られるようになり（図6）、3週目には小葉分割が完全に行われ、腺房細胞の一部は変性壊死を示した。ランゲ

図2 A群(胆管非結紮群)の脾総Hypro量

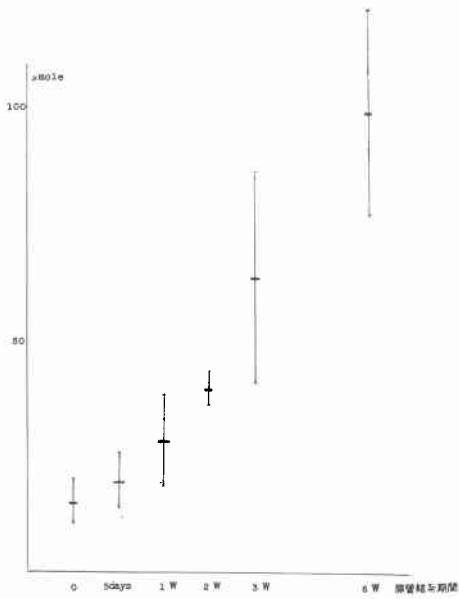


図4 A群(胆管非結紮群)の脾不溶性分画Hypro量

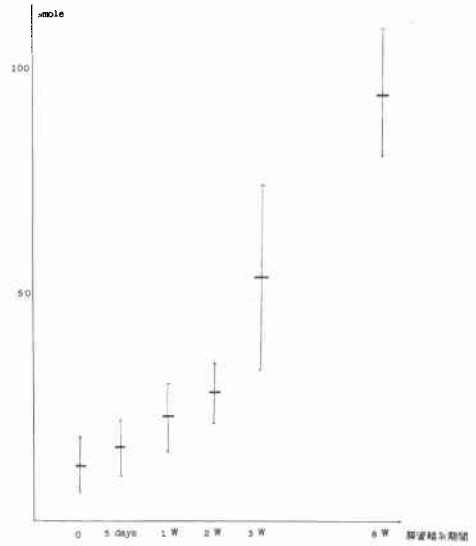


図5 A群の脾管結紮1週間の脾組織像(×40. M.L.染色) 脾管周囲の線維化と小葉内に軽度の線維化を認める。

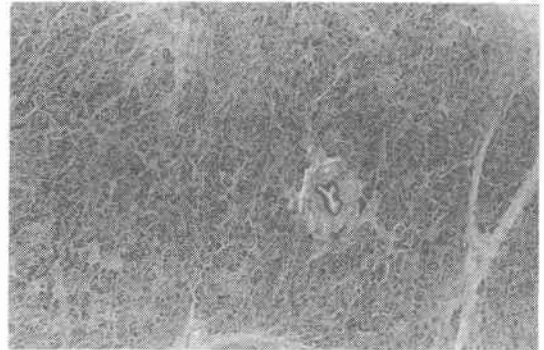


図3 A群(胆管非結紮群)の脾可溶性分画Hypro量

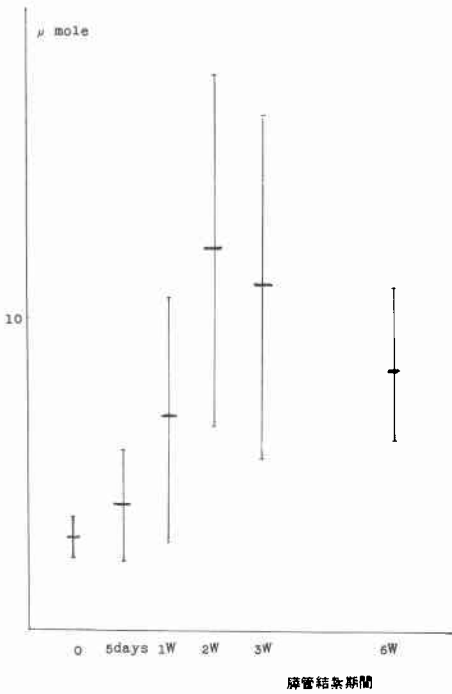


図6 A群の脾管結紮後2週間の脾組織像(×40. M.L.染色) 脾管周囲の線維化と線維による小葉分割を認める。

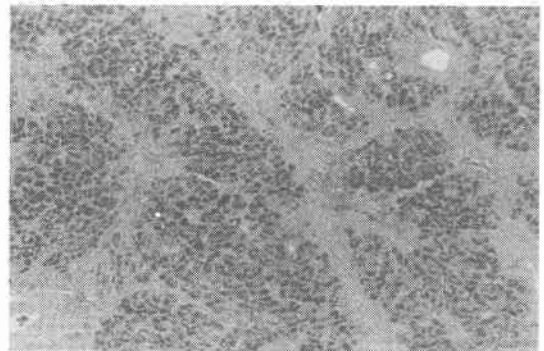


表1 B群(胆管結紮群)の膵 Hypro 量

	0.9% NaCl Soluble F.		Acid Soluble F.		Soluble F.	Insoluble F.	Total	Soluble F.
	Hypro( $\mu$ mole)	Hypro( $\mu$ g)	Hypro( $\mu$ mole)	Hypro( $\mu$ g)	Hypro( $\mu$ mole)	Hypro( $\mu$ mole)	Hypro( $\mu$ mole)	Total ×100 (%)
	膵3g	膵蛋白(mg)	膵3g	膵蛋白(mg)	膵3g	膵3g	膵3g	
胆管結紮2週胆汁うっ滞1週(n=5)	3.48 ± 1.36	7.22 ± 2.74	8.17 ± 4.70	120.86 ± 38.60	11.65 ± 5.99	15.17 ± 4.78	26.82 ± 10.28	43.4
胆管結紮3週胆汁うっ滞2週(n=4)	5.32 ± 1.16	11.07 ± 3.02	3.99 ± 2.31	104.82 ± 43.9	9.31 ± 3.17	42.11 ± 6.77	51.42 ± 6.42	18.1

図7 A群の膵管結紮後3週間の膵組織像(×40, M.L.染色)線維による小葉分割と腺細胞の変性萎縮を認める。

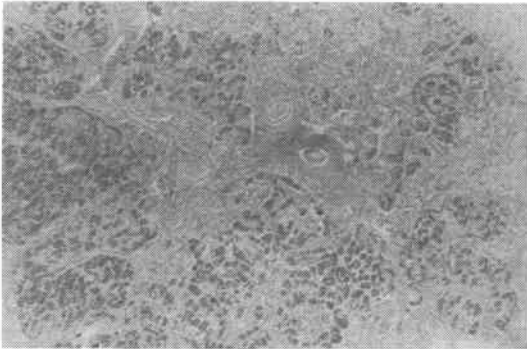
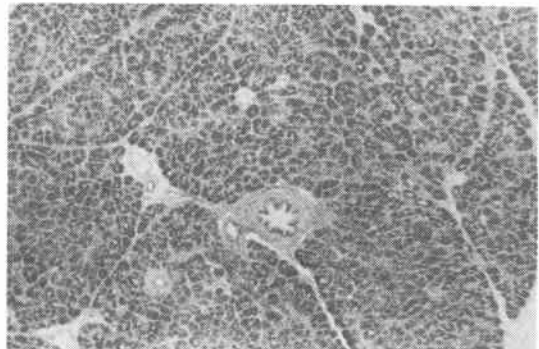


図8 B群の総胆管結紮2週間、膵管結紮1週間の膵組織像(×40, M.L.染色)膵管周囲の線維化と小葉内の軽い線維化。



ルハンス島には粗嚙化を認めるがよく保たれていた(図7)。6週目では線維増生はさらに高度となり、腺房細胞の変性壊死も進み、腺房細胞は著明な減少をきたし、ランゲルハンス島内にも部分的に線維増生がみられ、細胞の萎縮、変性、または肥大などの多彩な変化がみられた。このような組織像の変化と膵の不溶性分画 Hypro 量の変動とは相関し、ことに3週以後により対応を示した。

b. B群(胆管結紮群): 総胆管結紮1週後に膵管結紮しその後1週を経たものでは、膵組織3gの総 Hypro量  $26.82 \pm 10.28 \mu\text{mole}$ 、不溶性分画 Hypro量  $15.17 \pm 4.78 \mu\text{mole}$ 、可溶性分画 Hypro量  $11.65 \pm 5.99 \mu\text{mole}$  であり(表1)、総 Hypro に占める可溶性分画 Hypro の割合は43.4%であった。なお、総胆管結紮1週すなわち膵管結紮時の血清総ビリルビン  $2.42 \text{mg/dl}$ 、GOT  $106 \text{K-u}$ 、GPT  $209 \text{K-u}$ 、AL-P  $97 \text{u}$  であり、膵管結紮1週後すなわち胆管結紮2週にあたる時期では、血清総ビリルビン  $2.82 \text{mg/dl}$ 、GOT  $155 \text{K-u}$ 、GPT  $451 \text{K-u}$ 、AL-P  $130.8 \text{u}$  とそれぞれ上昇したが、組織学的には線維増生は膵管周囲と小葉の一部にみられ(図8)、膵液うっ滞1週のみ

のもの(A群)と差をみとめなかった。胆管結紮1週後に膵管を結紮し、その2週後のものでは、膵組織3gの総 Hypro量  $51.42 \pm 6.42 \mu\text{mole}$ 、不溶性分画 Hypro量  $42.11 \pm 6.77 \mu\text{mole}$ 、可溶性分画 Hypro量  $9.31 \pm 3.17 \mu\text{mole}$  であり(表1)、総 Hypro に占める可溶性分画 Hypro の割合は18.1%であった。なお、本実験群では総胆管結紮1週後すなわち膵管結紮時に、総ビリルビン  $2.48 \text{mg/dl}$ 、GOT  $76.5 \text{K-u}$ 、GPT  $588 \text{K-u}$ 、AL-P  $93 \text{u}$  であったが、膵管結紮2週目、すなわち総胆管結紮後3週目では総ビリルビン  $4.4 \text{mg/dl}$ 、GOT  $196 \text{K-u}$ 、GPT  $956 \text{K-u}$ 、AL-P  $16.7 \text{u}$  と値はそれぞれ上昇した。組織学的には胆管結紮を行わない膵管結紮のみの第2週目のものと大差なく、膵管周囲の強い線維の増生と幅広い小葉分割を認めた(図9)。肝は胆管結紮2週目では胆汁うっ滞を認めたが、肝細胞の変性はなく、線維増生は胆管周囲に認められるのみであった。3週目では胆管の増生とその周囲の線維化、細胞浸潤、小葉内の軽度の胆汁うっ滞と中心静脈の拡張を認めた。

c. C群(自家胆汁注入群): 胆汁注入直後に膵管を結紮し、その1週間目の膵の Hypro 量は、膵3gで総

図9 B群の総胆管結紮3週間、膵管結紮2週間の膵組織像(×40, M.L.染色) 幅広い線維による小葉分割がみられる。

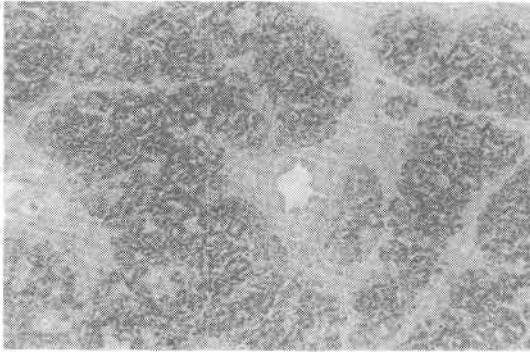
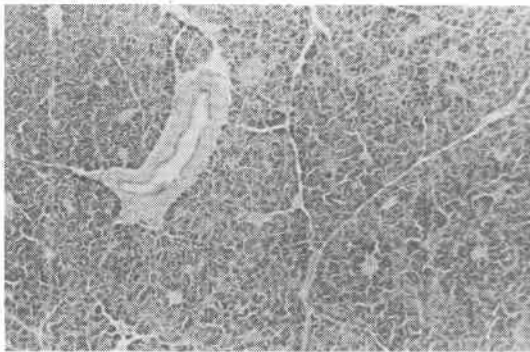


図10 C群の膵管内胆汁注入後うっ滞1週間後の膵の組織像(×40, M.L.染色) 小葉内の軽度の線維増生と膵管周囲の細胞浸潤を認める。



Hypro 量  $32.52 \pm 5.04 \mu\text{mole}$ , 不溶性分画 Hypro 量  $24.42 \pm 4.1 \mu\text{mole}$ , 可溶性分画 Hypro 量  $8.10 \pm 2.6 \mu\text{mole}$  であり, 総 Hypro に占める可溶性分画 Hypro 量の割合は24.9%であった。組織像では膵管周囲の軽度の細胞浸潤が認められた(図10)が, 線維化の程度はA群の膵管結紮のみ1週のものとは見られなかった。

小括: 犬の膵管を結紮すると膵組織の Hypro 量は膵管結紮期間とともに増加したB群(胆管結紮群)ではA群(胆管非結紮群)に比して, 膵組織の総 Hypro 量, 不溶性分画 Hypro 量は膵管結紮1週目ではB群が有意差をもって低く, 2週目では逆にB群が高かった。しかもこの傾向は不溶性分画において強かった(図11, 12)。しかるに可溶性分画 Hypro は1週目ではB群がA群より高かったが, 2週目では前者が後者より低値を示し(図13), 総 Hypro および不溶性分画 Hypro の動きとは逆の関係を示した。したがってB群では総 Hypro に対

図11 胆管結紮および非結紮群における膵管結紮群の総 Hypro 量

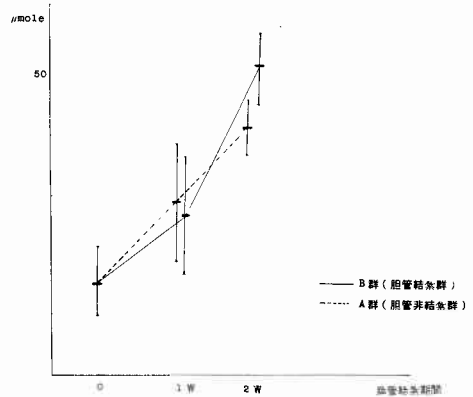
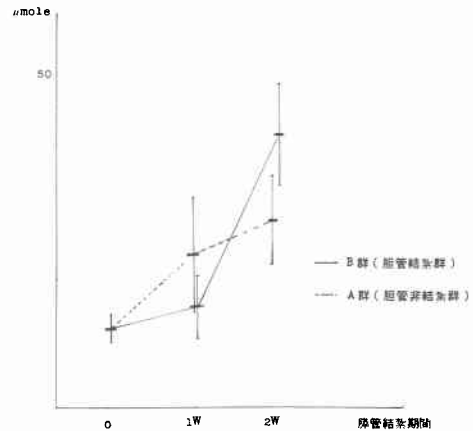


図12 胆管結紮および非結紮群における膵管結紮群の不溶性分画 Hypro 量



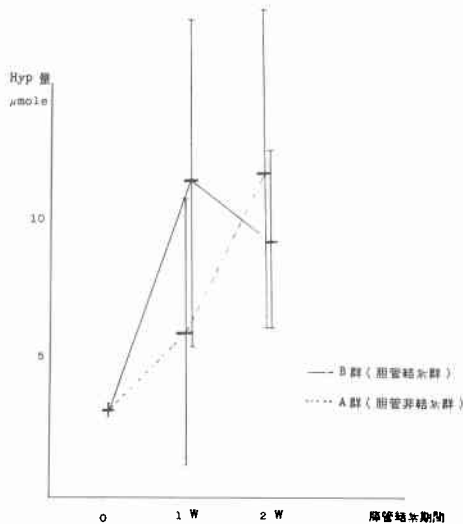
する可溶性分画 Hypro の占める割合は膵管結紮1週目43.4%であったものが, 2週目では18.1%と減少した。こように胆管閉塞による黄疸という病態下での膵管閉塞は, 一般の膵管閉塞に比べて膵の線維化は最初は抑制されるが, 後では促進される特色がある。C群はA群に比して膵管結紮後の膵組織において, 可溶性分画 Hypro 量, 不溶性分画 Hypro 量ともわずかに高く, したがって総 Hypro 量も増加の傾向をしめしたが有意差はなかった。

第2章膵管結紮膵の膵腸吻合術後の Hypro 量の変化

1. 実験材料および方法

実験動物は7~16kgの雑種成犬9頭を次のD, E2群それぞれ5, 4頭にわけ第1章A群と同様な方法で膵管結紮犬を作成した。

図13 胆管結紮および非結紮群における膵管結紮時の可溶性分画 Hypro 量



a. 実験D群では膵管を結紮し膵液うっ滞負荷を1週間かけた後、後述の方法で膵腸吻合を行い、この膵液うっ滞解除後2週目に屠殺し膵を検査に供した。

実験E群では膵管を結紮し膵液うっ滞負荷を2週間かけた後、膵腸吻合を行い膵液うっ滞解除後4週後に屠殺し膵を検査に供した。

b. 膵腸吻合手法. 副膵管を結紮離断した部より尾側の膵を切断し、膵の断端部から残存膵管内に外径1~1.5mm、長さ約1.5cmのポリエチレン管を挿入し、膵管外にこの小管を約0.5cm残し膵断端は縫合閉鎖した。十二指腸の側壁に漿膜筋層切開を行い、露出した粘膜層の中央に小孔をあけ、膵管内に挿入したポリエチレン管を小孔に入れ、膵断端と十二指腸漿膜筋層を USP size 6-0 (silk) atraumatic needle TE-1 を用いて結紮縫合縫着した。吻合した膵管の開存は屠殺時に air bubbling によって確認した。

c. 膵の Hypro 量測定, 組織学的検査: 第1章の実

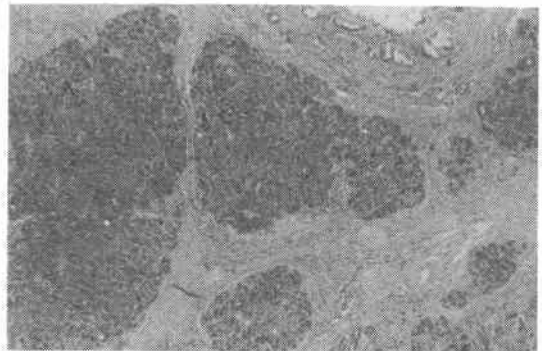
験と同様な方法を用いた。

2. 実験成績

a. D群: 膵管結紮1週後膵腸吻合を行いその後2週を経たものでは表2に示す通り、膵3gの総 Hypro 量  $23.77 \pm 13.14 \mu\text{mole}$ , 不溶性分画 Hypro 量  $19.62 \pm 11.34 \mu\text{mole}$ , 可溶性分画 Hypro 量  $4.15 \pm 1.93 \mu\text{mole}$  であった。組織像で線維化は膵管の周囲には認められるが、小葉内にはほとんど見られなかった。

b. 実験E群: 膵結紮2週後膵腸吻合を行い4週を経たものでは、膵組織3gの総 Hypro 量は  $64.50 \pm 10.71 \mu\text{mole}$ . 不溶性分画 Hypro 量  $52.76 \pm 11.52 \mu\text{mole}$ , 可溶性分画 Hypro 量  $11.72 \pm 3.63 \mu\text{mole}$  であった。組織像では、膵管周囲の線維増生と、小葉内に広い幅の線維帯による小葉分割を認めた(図14)。

図14 膵管結紮2週間後、膵腸吻合術後4週間目の残存膵の組織像(×40, M.L. 染色)幅広い線維による小葉分割を認める。



3. 小括

これらの結果を図示すると、図15, 16のように膵液うっ滞1週で増加したD群の膵試料の総 Hypro, 不溶性分画 Hypro は、膵腸吻合により膵液うっ滞を解除するとその後2週間の時点ではいずれも減少を示した。しかし膵液うっ滞を2週間負荷したE群では、その時点で

表2 膵管結紮膵の膵腸吻合後の Hypro 量

	0.9% NaCl Soluble F.		Acid Soluble F.		Soluble F.		Insoluble F.	Total	Soluble F. / Total × 100 (%)
	Hypro(μmole)	Hypro(μg)	Hypro(μmole)	Hypro(μg)	Hypro(μmole)	Hypro(μmole)			
	膵3g	膵蛋白mg	膵3g	膵蛋白mg	膵3g	膵3g			
膵管結紮1週後膵腸吻合後2週	2.97 ± 0.98	3.44 ± 1.14	1.18 ± 0.97	11.42 ± 8.24	4.15 ± 1.93	19.62 ± 11.34	23.77 ± 13.14	17.5	
膵管結紮2週後膵腸吻合後4週	6.39 ± 1.57	19.36 ± 6.41	5.36 ± 3.35	11.30 ± 6.01	11.75 ± 3.63	52.76 ± 11.52	64.50 ± 10.71	18.2	

図15 1週および2週膵管結紮豚の膵腸吻合術後の総 Hypro 量

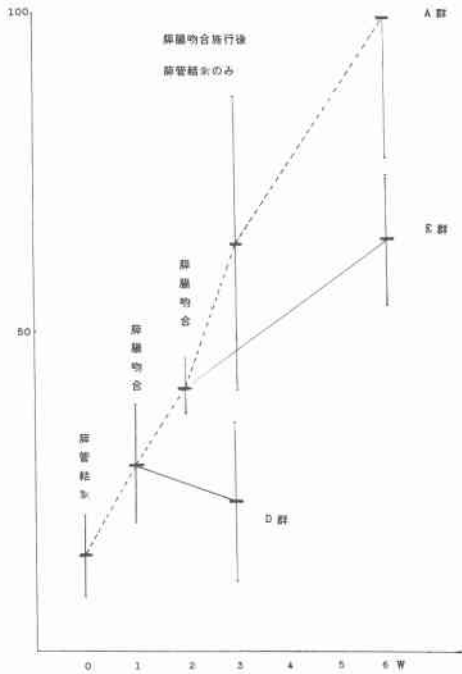


図16 1週および2週膵管結紮豚の膵腸吻合術後の不溶性分画 Hypro 量

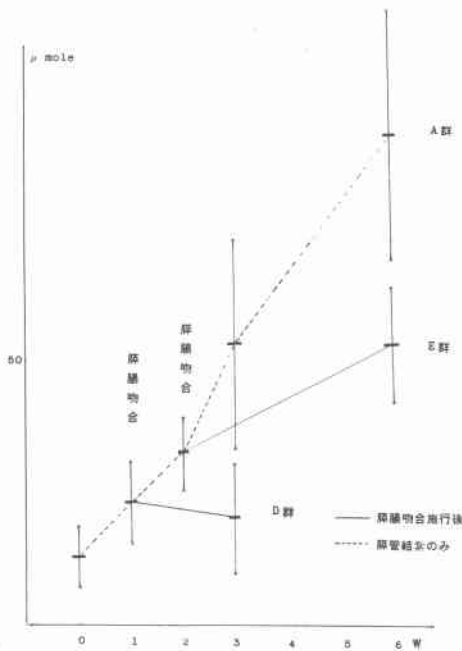
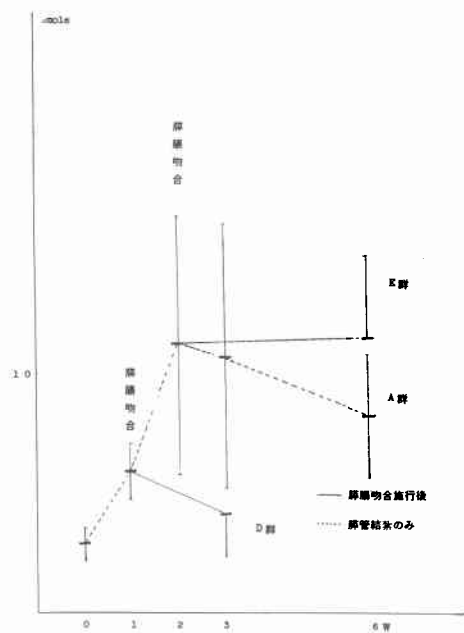


図17 1週および2週膵管結紮豚の膵腸吻合術後の可溶性分画 Hypro 量



膵腸吻合を行っても、その後4週間の測定では膵 Hypro 量は増加を続け、日時の経過とともに増加を示した。図17は A, D, E 群の可溶性分画 Hypro 量の変動を示しており、膵管閉塞1週目に膵液うっ滞を解除すると、その後2週目の測定では、増加していた Hypro 量は正常に近い値まで減少したが、膵管閉塞を2週間負荷した後は膵液うっ滞を解除しても、その後4週目の観察ではほとんど増減に変化なく、膵腸吻合を行わずに膵液うっ滞を続けたA群の膵管閉塞6週動物に比較してむしろ多かった。これらのことは膵管閉塞2週間の時期になると、その時点で膵腸吻合を行っても、その後も、Hypro 量は増加することを示している。すなわち膵管結紮1週目に膵液うっ滞負荷を解除するとき、組織像からは回復が明瞭ではなかったが、Hypro 量の減少より、膵管結紮負荷1週以内では線維化が可逆的であることを示し、一方膵管結紮2週目に膵液うっ滞解除を行ったものでは、Hypro 量、組織像からも線維の増加がうかがわれる。すなわち膵管結紮1週と2週負荷の間に膵線維化の可逆性の限界があることを明示している。

### 第3章 考 察

犬の膵管を閉塞すると膵液がうっ滞し膵管内圧が亢進し、間質に滲出性炎症性変化のため線維芽細胞及び線維

が増生し、さらに臍液のうっ滞は局所の低酸素を起し、線維芽細胞のコラーゲンの産生を促進して臍の線維化<sup>4)5)6)</sup>が進行すると云われている。またコラーゲン生成に際しては、可溶性コラーゲンが分子内及び分子間の架橋結合によって次第に不溶性コラーゲンに成熟することが知られている。臍液うっ滞によって生じた臍の線維化がうっ滞を除くとその後線維化がどのようになるかについては、Tiscornia<sup>7)</sup>、Magee<sup>8)</sup>らは臍管を結紮後数週間の臍液うっ滞後も、臍管を再吻合すれば組織学的には正常にもどると報告し、また岡<sup>9)</sup>は臍管結紮期間の3週目に臍腸吻合により臍液うっ滞を除くと臍の線維化は改善すると述べており、従来、比較的長期間の臍液うっ滞でも臍の線維化は可逆的であるとされてきた。われわれは犬の実験的臍管閉塞臍におけるコラーゲンについて生理食塩水、および0.2M クエン酸衝液に溶解する可溶性分画と、それら溶液に溶解しない不溶性分画にわけて検討したが、不溶性分画の Hypro 量と組織の線維化の程度とは比較よく正の相関を示した。可溶性分画 Hypro 量は臍液うっ滞2週目に最も高く、総 Hypro 量に占める可溶性分画 Hypro 量の占める割合も27.3%とピークを示したことは、犬の臍管を結紮すると2週前後に臍における線維生成が最も活発に行われていることを示している。最初、著者は不溶性分画 Hypro 含量比が少なく、可溶性分画 Hypro 含量比が多い臍管閉塞2週目までに臍液うっ滞を解除すると、その時点では臍の線維化は可逆的でその後臍 Hypro 量の減少、組織像での線維化の程度は改善され、ひいてはそれが臍機能の回復につながるだろうと考えたが、臍腸吻合術による臍液うっ滞解除実験では、Hypro 量の減少や組織学的線維化の回復は臍管結紮1週負荷では認められたが、臍管結紮2週負荷のものでは見られなかった。すなわち臍管結紮による臍線維化の可逆性の限界は臍液うっ滞負荷1週と2週の間にあると考えてよいだろう。臍と胆道系とは共通の外分泌口あるいはごく近接した外分泌口を有し、Opieの提唱した Common channel 説以来胆汁の臍管内への逆流による臍への影響ひいては臍の線維化への胆汁 関与が論議されている。そのうえ臍腸吻合が行われると臍管の逆流防止機構の一部がこわされ、胆汁の臍管内への逆流の機会を増すと思われる。そこで臍の線維化への胆汁の関与の有無を検討するため、自家胆汁を臍管内へ注入し、それが臍管結紮臍にどのような効果をもたらすかを調べた。臍管結紮1週までは、臍管結紮のみ1週のもの

と比較して、臍管内に胆汁を注入した臍では、若干増加の傾向を示したが有意差はなかった。このように臍線維化に胆汁の関与が認められなかった理由については、臍管内を胆汁で環流しても臍炎は起こらないという Anderson らの報告から考えて、著者の胆汁注入圧が低かったことも一因と思われ、また一方では著者の行った実験条件下における注入胆汁は次に述べる如く線維化をおこさせる活性に欠けていたのかもしれない。すなわち胆汁中の lecithin は臍液中の phospholipase A によって毒性の強い lysololcithin となるが phospholipase A は prophospholipase A が trypsin によって活性化されたものであり、Trypsin は trypsinogen が enterokinase によって活性化されたものである。したがって胆のう内胆汁を採取して臍管内に注入した場合には十二指腸由来 enterokinase が欠けているために胆汁の毒性化があまり見られず、臍の線維化への影響が少なかつた可能性も考えられる。いずれにせよ、さらに検討の余地がされている。胆管結紮群における臍管結紮臍では臍管結紮1週目では、総 Hypro、不溶性分画 Hypro は胆管非結紮群の臍管結紮臍に比較して少なく、逆に可溶性分画 Hypro は多く、臍のコラーゲンの産生と可溶性コラーゲンの不溶性コラーゲンへの成熟の抑制がみられた。しかし2週目になるとむしろコラーゲン合成は促進される結果となった。そもそも肝と臍は胎生学的にも同じ発生起源をもち、解剖学的にもともに腹腔動脈の分枝により支配され、そのうえ臍の静脈は門脈を介して肝へ流入するなど、密接な相互関係を有している。たとえば肝硬変に臍の線維化<sup>11)12)13)14)15)</sup>が合併することが知られている。しかし、胆管結紮犬の臍管結紮臍における著者らの検索では、最初は臍の線維化は進行せずむしろ抑制された。その機序は不明であるが、胆管結紮に基づく急激な胆汁うっ滞による肝の変化と関連する可能性が考えられる。すなわち胆管閉塞により肝において胆汁うっ滞による線維化が起るがその際コラーゲン線形成に必要と考えられている、酸性ムコ多糖<sup>6)</sup>類が肝内コラーゲンの増加に先立って増加するとともに、酸性ムコ多糖類の分解酵素が血清において上昇するとの報告<sup>17)18)</sup>もみられる。ムコ多糖類の分解酵素は細胞の、lysosome 分画に最大の活性を示すが、この分画には acid-protease、 $\beta$ -glucuronidase、N-acetyl-D-glucosaminase arylsulfatase、および hyaluronidase などがふくまれている。コラーゲン分解酵素も lysosome に強い活性が局在することが Frankland, Wynn<sup>20)21)</sup>らにより証明され、結合組織代謝における lysosome 酵素の関与が一層注目されるようになった。高木<sup>2)</sup>ら



は閉塞性黄疸における lysosome 酵素活性について  $\beta$ -glucuronidase を指標として研究しているが、血清  $\beta$ -glucuronidase 活性は胆管閉後上昇し3~4週後最高値に達し、その後減少したと報告している。また慢性膵炎において膵液中の酸性ムコ多糖類が増加するとの報告<sup>23)24)</sup>もあり膵の線維化においても酸性ムコ多糖類の関与が考えられている。著者らの実験で胆管結紮群の膵管結紮1週後の膵の線維化が胆管を結紮しなかった群の線維化に比べて抑制されていたことは、胆管結紮群の血中に肝より lysosome 酵素が逸脱増加し、膵の線維化過程の酸性ムコ多糖類の分解に担担したのかもしれない。また図13に見る如く、この時期に胆管結紮群は非結紮群に比べ膵管結紮群膵組織の可溶性分画 Hypro が約2倍と多いのは、コラーゲンの分子間架橋形成の抑制があり、可溶性コラーゲンの中断が起こったとも考えられる。膵液うっ滞2週目に膵線維化が増強された機序については、下記のように考えられる。肝硬変の際には膵の慢性間質炎すなわち間質への細胞浸潤、線維化、腺房および導管の拡張<sup>11)15)</sup>などがみられることが少ないが、この際に実質の壊死、脱落がなく個々の腺房の周囲に線維化が認められる場合が多数あり、この場合は壊死の過程を経ずに結合織が増生したと考<sup>13)</sup>えられる。このように肝硬変の存在する際に膵の線維増生が刺激される機序については不明であるが、門脈血のうっ滞が原因的役割をすると考えられている<sup>25)</sup>。著者の胆管結紮群の門脈血のうっ滞の度合は、直接測定はしなかったが、胆管結紮後の肝の組織像の変化から判断すれば、胆管結紮後3週目頃すなわち膵管結紮2週目頃には門脈血のうっ滞が起っていることが推測される。したがって著者の実験で胆管結紮群の膵液うっ滞2週目で膵の線維化が増したことは、上述の如く肝からの逸脱 lysosome 酵素の影響も考慮されるけれども、肝の線維増生による門脈血流のうっ滞の影響が強く作用し膵の栄養、酸素化の障害のため線維芽細胞のコラーゲンの産生を促したのではないかと考えられる。上述の膵の線維化の過程についての考察から明らかなとおり、膵頭部領域癌などの膵管閉塞性黄疸を伴う病態では、早急に膵液うっ滞の解除と胆道のドレナージをしなければ膵の線維化は急速に進行し残存膵の機能回復に対する期待はより少なくなると思われる。しかし膵管結紮がどの位の期間内ならば膵線維化が可逆的で、膵液うっ滞の解除により膵の線維化の進行をとめることができるかは従来は正確に知られていなかった。著者の第II章の実験から胆閉塞による黄疸のない実験犬では膵液うっ滞

負荷を1週間で解除すると膵試料中の Hypro 量は総 Hypro、不溶性分画、Hypro ともに減少し、膵管結紮1週以内は線維化は可逆的であることを示したが、膵液うっ滞負荷が2週目になると膵液うっ滞を解除しても Hypro 量は増加し、線維化はさらに進行する傾向を示した。その前後の時期と比較して不溶性分画 Hypro 含量比が少なく、可溶性分画 Hypro 量および含量比ともに多く、線維化が最も活発に行われていると考えられた2週目ではすでに線維化は不可逆的であった。一旦コラーゲン生成が増生しある程度の量が生成されると、その時点で膵管閉塞を解除しても線維化の進行は阻止できないと考えられる。このような膵線維における可逆性の限界が教室の一連の膵管結紮膵腸吻合後の膵の内外分泌機能についての実験結果<sup>26)27)</sup>、すなわち膵液うっ滞後膵腸吻合を行ったものでは、膵液量、アミラーゼ総分泌量、重碳酸塩総排出量、血清 IRI などの回復の限界が1週前後であるという成績とも一致している。

#### まとめ

- 1) 犬の膵管を結紮するとき膵の線維化と組織 Hypro 量とは比較的よい相関を示し、3週以後の Hypro 量の増加は著明であった。
- 2) 胆管結紮の膵管閉塞膵では、膵管結紮1週目ではコラーゲンの合成と不溶化は抑制され、2週目になるとかえって促進された。
- 3) 膵管内に胆汁を注入直後、膵管を結紮し1週を経たものでは、膵管結紮のみ行って膵液うっ滞を1週負荷したものと、膵組織のコラーゲン量や線維化の程度において有意差は認めなかった。
- 4) 犬の膵管結紮後の膵線維化は膵管結紮後1週までは膵腸吻合により膵液うっ滞を解除すると軽減したが、2週目になると線維化は不可逆的で膵液うっ滞解除後も増強した。
- 5) 犬の膵管結紮後の膵線維化は、閉塞性黄疸がある時は、膵管結紮後1週間では非黄疸犬に比し軽度であったが、2週後には強度であった。すなわち閉塞性黄疸の病態下では膵管結紮による膵の線維化は一般に増強されると考えてよいだろう。

(稿を終るに臨み、ご指導、ご校閲を賜った横山育三教授ならびに本学体研病理学教室宇宿源太郎教授、ハイドロキシプロリンの測定についてご指導下さった小山田郁子先生、御協力頂いた第1外科教室員各位に深く感謝する。本論文の要旨は第64回日本消化器病学会総会において発表した。)

## 文 献

- 1) Patten, B.M.: Human Embryology. 2nd ed., New York & Toronto, The Blackiston CO., 479, 483, 1953.
- 2) Lowry, O.H.: Protein measurement with Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., **193**: 265—275, 1951.
- 3) Prockop, D.J., et al.: A specific method for the analysis of hydroxyproline in tissue and urine. Anal. Biochem., **1**: 228—238, 1960.
- 4) Haunz, E.A., et al.: Carcinoma of the head of the pancreas: The effect of obstruction on the ductal and acinar system. Arch. Path., **49**: 367—386, 1950.
- 5) Block, M.A., et al.: Experimental studies concerning fact or in the pathogenesis of acute pancreatitis. Surg. Gynec. & Obstet., **99**: 83—90, 1954.
- 6) Chvafil, M.: Rev. Connect. Tissue Res. 4, 68: tal. Academic Press, New York & London 1968.
- 7) Tiscornia, O.A.: Recovery of pancreatic exocrine secretory capacity following prolonged ductal obstruction. Ann. Surg., **164**: 267—270, 1966.
- 8) Magee, D.F.: Recovery of pancreatic exocrine function after controlled duct obstruction. Surg. Gynec. & Obstet., **114**: 463—466, 1962.
- 9) 岡 葉子: 硬変膵の吻合に関する実験的研究. 和歌山医学, **12**: 1059—1070, 1961.
- 10) Anderson, M.C., et al.: An evaluation of the common channel as a factor in pancreatic or biliary system. Surg. Gynec. & Obstet., **116**: 422—426, 1963.
- 11) 松本一彦: 各種肝疾患における肝脾, 及び膵の結合織増生, 特にそれらの相関々係について. 福岡医学会雑誌, **49**: 2188—2223, 1958.
- 12) 山形敏一: 肝と膵の相関. 肝臓, **4**: 10—22, 1962.
- 13) 広瀬昭一郎: 肝疾患における膵障害に関する研究. 日消誌, **65**: 340—350, 1968.
- 14) Harold, J.S., et al.: Pancreatic changes in various types of cirrhosis in alcoholics. Gastroent., **45**: 341—346, 1963.
- 15) Stinson, J.C.: Pancreatic lesions associated with cirrhosis of the liver. Amer. J. Clin. Path., **22**: 117—126, 1952.
- 16) Jackson, D.S.: The nature of collagen-chondroitin sulfate linkage in tendon. Biochem. J., **56**: 699—703, 1954.
- 17) Singer, E.J.: Hepatic fibrosis: Chemical and histologic studies during subacute ethionine intoxication. Arch. Path., **68**: 103—112, 1959.
- 18) 吉田常雄: 日本人の肝硬変症. 日内誌, **52**: 291—301, 1963.
- 19) De Duve, C.: Tissue fractionation studies, 6. Intracellular distribution pattern of enzymes in rat liver tissue. Biochem. J., **60**: 604—607, 1955.
- 20) Frankland, D.M.: The collagenolytic activity of rat liver lysosomes. Biochem. J., **84**: 209—212, 1962.
- 21) Woods, J.F.: Collagenolytic activity in rat bone cells. J. Cell. Biol., **26**: 747—756, 1965.
- 22) 高木 靖: Lysosome からみた閉塞性黄疸肝の病態について. 肝臓, **15**: 342—352, 1974.
- 23) 泉 良平: 膵液のムコ多糖体の臨床的研究. 日膵研プロシーディングス, **8**: 31—32, 1978.
- 24) 竹田喜信: 慢性膵炎における十二指腸液ムコ多糖類の臨床的研究. 日消誌, **72**: 491—500, 1975.
- 25) Steifert, G.: Über Pankreasveränderungen bei Leberzirrhose und Chronischer Blutstaug. Dtsch. Zschr. Verdaungs- u. Stoffwechsel Krht. **11**: 230—246, 1951.
- 26) 藤田光昭: 膵管閉塞膵の機能的, 形態学的変化について. 日消誌, **74**: 152, 1977.
- 27) 野田健治: 膵腸吻合後の膵外分泌機能についての実験的研究. 日外会誌, **77**: 33—34, 1976.