

肝胆膵実験外科における新しい展開 —慢性胆膵胃瘻犬開発の意義—

京都大学医学部第1外科

*山口大学医学部第2外科

土井隆一郎 井上 一知 小切 匡史
細谷 亮 角 昭一郎 尹 光俊
高折 恭一 鈴木 敏* 戸部 隆吉

A NEW METHOD FOR THE STUDY OF PANCREATICO-BILIARY FUNCTION IN CONSCIOUS DOGS

Ryuichiro DOI, Kazutomo INOUE, Masafumi KOGIRE,

Ryo HOSOTANI, Shoichiro SUMI, Mitsutoshi YUN,

Kyoichi TAKAORI, Takashi SUZUKI* and Takayoshi TOBE

First Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University

*The Second Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine

教室で維持している慢性膵胃瘻犬による意識下実験の成果について述べるとともに、新しく開発した慢性胆膵胃瘻犬の作製維持の方法とその意義について述べた。慢性膵胃瘻犬は、(1) 空腹時、(2) 十二指腸内刺激前後、(3) 外因性刺激前後、(4) 食餌負荷前後の膵外分泌動態の観察検討に有用であった。慢性膵胃瘻犬作製維持の技術、経験から慢性胆膵胃瘻犬を開発した。慢性胆膵胃瘻犬の作製後2ヵ月生存率は71.4%であり、また6ヵ月以上の長期生存を得た。十二指腸内オレイン酸刺激実験により慢性胆膵胃瘻犬が生理的な反応系を有することが確認され、本モデルが今後肝胆膵胃臓器関連の研究に有用であると考えられた。

索引用語：慢性胆膵胃瘻犬，胆汁分泌，膵外分泌

I. 緒 言

1968年、Herrera¹⁾は新しいカニューラを考案し、慢性膵瘻犬による意識下膵外分泌機能評価の方法を示し、膵生理の研究に大きな進歩をもたらした。われわれはHerreraの原法を改良した慢性膵胃瘻犬を作製維持しており、このモデルが生理的状态および外科的病態における膵研究に極めて有用であることを報告してきた²⁾⁻⁸⁾。しかしながら胆道系については、慢性膵胃瘻犬に相当する優れた慢性モデルの報告はなく、まし

てや胆汁分泌および膵外分泌を意識下で同時観察できるモデルの報告は内外に見当たらない。われわれは今回、イヌの消化器の解剖学的な特徴に注目して、当教室で慢性膵胃瘻犬を作製するに際し駆使した技術、経験を胆道系にも応用した、慢性胆膵胃瘻犬を開発、維持することに成功したので、慢性膵胃瘻犬による成果とともに報告する。

II. 方 法

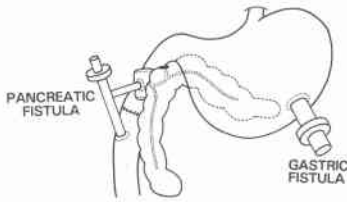
1) 慢性膵胃瘻犬

われわれの使用しているカニューラはHerrera¹⁾の考案したカニューラを基に作製したものである。このカニューラ(Herreraのカニューラ)は平常飼育時は分泌液が生理的状态に近い状態で十二指腸内へ流入するが、実験使用時は特殊な内筒を用いることにより分

※第30回日消外会総会シンポジウム2：消化器実験外科の進歩と新しい展開

＜1987年10月7日受理＞別刷請求先：土井隆一郎
〒606 京都市左京区聖護院川原町54 京都大学医学部第1外科

図1 慢性膵胃瘻犬作製に関する術中シエーマ



泌液を100%体外へ誘導採取できるように工夫されている。Herrera¹⁾はビルロートII法形式で消化管を再建した慢性膵瘻犬を作製したが、われわれはビルロートI法形式で再建した慢性膵胃瘻犬を維持している。このモデルを用いて、(1) 空腹時における膵外分泌動態、(2) 十二指腸内オレイン酸注入刺激による膵外分泌動態、(3) 外因性刺激による膵外分泌動態、(4) 食餌負荷後の膵外分泌動態の検討を行なった(図1)。

2) 慢性胆膵胃瘻犬

今回新しく開発した慢性胆膵胃瘻犬の作製方法について述べる。雑種成犬(25~30kg)7頭を用い、ネブタール麻酔下を開腹した後、まず副膵管を同定し結紮切離した。十二指腸は総胆管の開口部の口側1cmおよび主膵管の開口部より2cm肛側にて切断し、さらにその中間点にて切断後、それぞれの開口部乳頭を含む長さ3cmの十二指腸 pouch を作製した。十二指腸は幽門が温存されていることを確認して、端々吻合で再建した。Herreraのカニューラを2個使用し、1個は総胆管開口部を含む pouch と十二指腸吻合線より5cm肛側の十二指腸との間に、他の1個は主膵管を含む pouch と十二指腸吻合線より10cm肛側の十二指腸との間に留置して、別々の外瘻とした。さらに胃体部に胃瘻を併設した。本モデルについては十二指腸内オレイン酸注入刺激実験を行った。すなわち18時間の絶食後、Pavlov stand に立たせて、意識下に空腹時胆汁、膵外分泌量を4時間にわたって測定した。つづいてオレイン酸ナトリウム(8.5mmol/hr, pH 9.0)の十二指腸内持続注入を150分間施行し、同様に観察した。胆汁、膵液は15分分画で採取し、一部サンプリングした以外は十二指腸内へ注入した。観察期間中、胃瘻は開放し胃液を体外へ導出させた。

上記の実験動物の飼育および実験は京都大学医学部附属動物実験施設で行われた。

III. 結 果

1) 慢性膵胃瘻犬による意識下実験

イヌの、(1) 空腹時における膵外分泌動態(図3)。

図2 慢性胆膵胃瘻犬作製に関する術中シエーマ

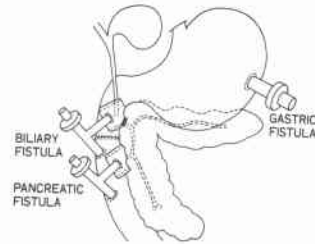


図3 空腹時膵外分泌の周期性変動

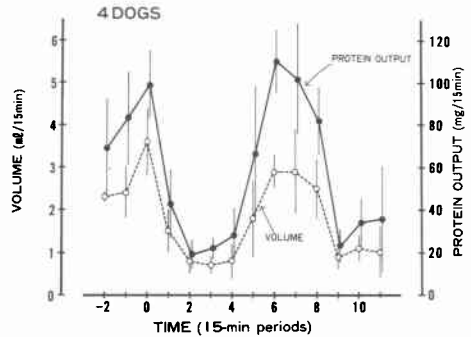


図4 十二指腸内オレイン酸注入の膵液量、膵重碳酸排出量、膵蛋白排出量、血漿 CCK 濃度に及ぼす影響

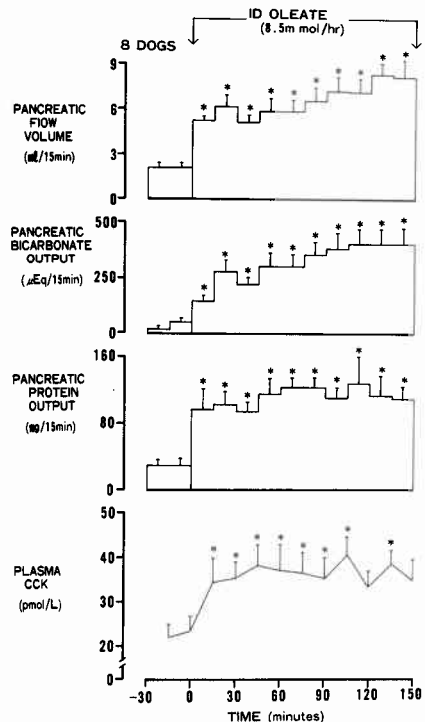


図5 GRPの膵蛋白排出量, 重碳酸排出量, 血漿CCK濃度に及ぼす影響

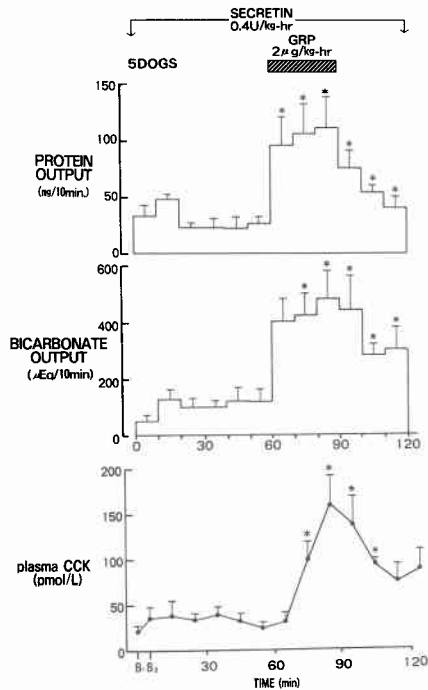
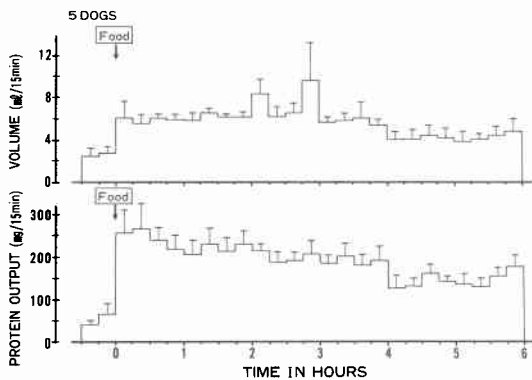


図6 食餌負荷の膵外分泌に及ぼす影響

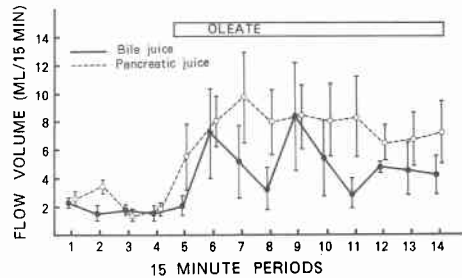


(2) 十二指腸内オレイン酸注入刺激による膵外分泌動態(図4), (3) gastrin releasing peptide 外因性刺激による膵外分泌動態(図5), (4) 食餌負荷後の膵外分泌動態(図6)に関する検討結果をそれぞれ示す。

2) 慢性胆膵胃瘻犬

通常イヌは術後1週間で食餌摂取が順調となり, 3週間経過後には実験に供用することが可能であった。また維持期間中, 胆道感染, 閉塞の徴候も認めなかつ

図7 十二指腸内オレイン酸注入の胆汁排出量, 膵液量に及ぼす影響



た。慢性胆膵胃瘻犬の術後2ヵ月生存率は71.4%であり, 長期生存犬は現在, 術後6ヵ月以上経過している。空腹時の膵液, 胆汁の分泌量は15分分画で, それぞれ1.7±0.4, 2.8±0.6mlであった。オレイン酸十二指腸内注入刺激後は, 膵液胆汁ともにすみやかに増量した。刺激前後の経時的変化を図7に示す。

IV. 考 察

消化器外科領域における実験的研究, 特に分泌臓器の生理的な, あるいは病態下の分泌動態に関する実験を行うには意識下で, 連続的にこれを観察できる実験モデルを用いる必要がある。しかしながら, 目的に合致するような慢性的な状態を動物で作ることは, 多くの場合極めて困難である。慢性膵瘻に関する研究は古くは, Thomasの膵瘻⁹⁾, Archambeauの体外シャントによる膵十二指腸空腸瘻¹⁰⁾, Preshawの膵瘻¹¹⁾などがある。これらはそれぞれの実験目的に応じて用いることにより有用であるが, 解剖生理学的あるいは長期維持ということに関して万全ではなかった。

Herrera¹⁾は新しいカニューラを考案することにより, 平常飼育時は膵液が十二指腸内に完全に流入するが, 実験使用時には膵液を100%体外に誘導採取できるモデルを報告した。このモデルにより, 生理的狀態に近い環境での実験が可能になり膵生理の研究は飛躍的に進歩した。われわれはHerreraの変法ともいえるビルロートI法形式で再建した慢性膵胃瘻犬を維持しており, このモデルを用いることにより種々の実験プロトコールにおける膵外分泌動態を検討した²⁾⁻⁸⁾。すなわち, 本モデルは方法の項で述べたごとく, (1) 空腹時, (2) 十二指腸内注入刺激前後, (3) 外因性刺激前後, (4) 食餌負荷刺激前後, といった種々の系において, 的確な膵外分泌動態の把握が可能である点に特徴がある。その成果として, イヌ空腹時においては膵外分泌に周期性変動が存在すること⁴⁾, 食餌負荷後長時

間におよぶ膵外分泌の促進と血漿コレステロキニン(CCK)との関連⁵⁾, オレイン酸十二指腸内注入刺激による膵外分泌促進と血漿CCKとの相関²⁾, 外因性に投与した gastrin releasing peptide の膵外分泌刺激作用⁷⁾, そして新しいペプチドであるニューロメジンCのイヌ膵外分泌刺激作用⁸⁾などが逐次あきらかとなってきたり, さらには外科的病態下の膵外分泌に関する検討⁹⁾をもなしている。

ところで, 例えばわれわれが目しているCCKの標的臓器が膵および胆嚢であると言われているごとく, 消化器臓器は互いに相関していると考えられており, 複数臓器の分泌動態を同時に観察することが可能であれば, さらにこの分野における研究の発展が期待される。胆道瘻のみについては Herrera のカニューラを使用した Debas¹²⁾ のモデルが報告されており, 技術的には作製可能であった。われわれは膵胃瘻犬作製維持の経験に鑑みて, 膵瘻と胆道瘻を同時に併設することは可能であると信じ, 慢性胆膵胃瘻犬の開発に着手した。

われわれが着目したのはイヌの膵管と胆管が別々の乳頭に開口しているという解剖上の特徴である。Nielsen ら¹³⁾は, イヌの膵管は十二指腸内で胆管開口部から平均28mm離れたところに開口し, またこれは幽門輪から平均8cm離れていると報告した。われわれもイヌの手術を通じ, 膵管と胆管が十二指腸内で3cm前後離れたところに開口していることを経験上確認している。したがって幽門を温存しつつ, 膵管と胆管を別々に含む十二指腸 pouch を作製することは理論的にも可能なことである。

われわれの作製した慢性胆膵胃瘻犬の2カ月生存率は71.4%であった。われわれはイヌの術後管理として長期絶食と中心静脈輸液を施行しており, 安定した生存を得ている。また最も恐れていた胆道感染あるいは胆道閉塞といった合併症の徴候はみられなかった。モデル作製の手術操作はかなり複雑であり, また術後管理も困難ではあるが, 消化器手術に携わる外科医にとってはさほど問題になるものではない。このような点から, われわれは, 消化器手術に習熟したわれわれ外科医こそが, 本モデルのような新しい動物実験モデルを開発維持し, 消化器実験外科の新境地を開拓してゆくべき適任者であろうと考えている。

慢性胆膵胃瘻犬を用いたオレイン酸十二指腸内注入刺激実験においては, 図に示したごとく膵液胆汁ともすみやかに増加し, 本モデルが生理的反応を十分に

表現しうる系であることが確認された。また本モデルはビルロートI法形式で再建してあるので, 食餌刺激に対しても生理的な反応が期待できると考えられる。また胆道の十二指腸 pouch にも乳頭が温存されており, 胆嚢を含む全胆道としての胆汁分泌について観察できるという利点がある。今後種々の実験を施行することにより, 本モデルは生理的および病態下の肝胆膵胃臓器相関機構の研究に極めて有用であると考えられた。

V. 結 語

慢性膵胃瘻犬は, (1) 空腹時, (2) 十二指腸内刺激前後, (3) 外因性刺激前後, (4) 食餌負荷前後の膵外分泌動態の観察検討に有用であった。慢性膵胃瘻犬作製維持の技術, 経験から慢性胆膵胃瘻犬を開発した。慢性胆膵胃瘻犬の作製後2カ月生存率は71.4%であり, また6カ月以上の長期生存を得た。十二指腸内オレイン酸刺激実験により慢性胆膵胃瘻犬が生理的な反応系を有することが確認され, 本モデルが今後肝胆膵胃臓器相関の研究に有用であると考えられた。

(本研究の一部は文部省科学研究費, 一般研究A-61440060の援助による。)

文 献

- Herrera F, Kemp DR, Tsukamoto M et al: A new cannula for the study of pancreatic function. *Appl Physiol* 25: 207-209, 1968
- 井上一知, 細谷 亮, 小切匡史ほか: 血中 Cholecystokinin-33の放出について。消化管ホルモ研究会編, 消化管ホルモン(VI), 医学図書出版, 東京, 1986, p136-144
- Inoue K, Fried GM, Wiener I et al: Effect of divalent cations on gastrointestinal hormone release and exocrine pancreatic secretion in dogs. *Am J Physiol* 248: G28-G34, 1985
- 小切匡史, 細谷 亮, 井上一知ほか: イヌ空腹時における膵外分泌動態と血中CCK, 膵臓 1: 37-43, 1986
- 小切匡史, 井上一知, 細谷 亮ほか: イヌ食餌負荷後の膵外分泌変動と血中CCK-膵液 exclusion の影響について。消化管ホルモ研究会編, 消化管ホルモン(VII), 医学書局出版, 東京, 1987, p583-588
- Kogire M, Inoue K, Hosotani R et al: Exocrine pancreatic secretion after 40% pancreatectomy in conscious dogs [abstract]. *Gastroenterology* 92: 1476, 1987
- 細谷 亮, 井上一知, 奥野資夫ほか: 意識下における Gastrin Releasing Peptide の膵外分泌に及ぼす影響-血中CCK, ppとの関連について。日消

- 病会誌 82 : 664—672, 1985
- 8) Hosotani R, Inoue K, Kogire M et al : Synthetic neuromedin C stimulates exocrine pancreatic secretion in dogs and rats. *Pancreas* 2 : 414—421, 1987
 - 9) Thomas JE : Symposium : Exocrine pancreatic function. Methods for collecting pancreatic juice. *Gastroenterology* 36 : 362—367, 1959
 - 10) Archambeau J, Greenlee H, Harper P et al : A modified total pancreatic fistula. *Proc Soc Exp Biol Med* 107 : 986—987, 1961
 - 11) Preshaw RM, Grossman MI : Stimulation of pancreatic secretion by extracts of the pyloric gland area of the stomach. *Gastroenterology* 48 : 36—44, 1965
 - 12) Debas HT, Yamagishi T : Evidence for a pyloro-cholecystic reflex for gallbladder contraction. *Ann Surg* 190 : 170—175, 1979
 - 13) Nielsen SW, Bishop EJ : The duct system of the canine pancreas. *Am J Vet Res* 15 : 266—271, 1954
-