日消外会誌　26（3）：970，1993年

研究速報

ラットセルレイン膵炎における柴胡桂枝湯のライソゾーム酵素動態に与える影響

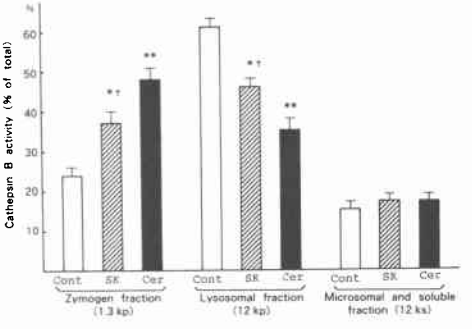
平野　鉄也　　真辺　忠夫

目的：ラットにおけるセルレイン膵炎では，cathepsin B が trypsinogen を活性化しうることより，その発症機序においてライソゾーム酵素による膵消化酵素の活性化が想定されている[1]．今回，漢方薬である柴胡桂枝湯（Saiko-keishi-to）のラットセルレイン膵炎での膵保護効果をライソゾーム酵素動態より検討した．

材料と方法：18匹の雄性 Wistar 系ラット（体重約250g）を以下の3群に分け実験を行った．(a) Saiko-keishi-to 群(SK)（n＝7）：1週間 SK の75mg/kg の用量を0.5ml の蒸留水に溶解させ，朝・夕（2回/day）胃ゾンデにて経口的に投与した．(b) Cerulein 群(Cer)（n＝6）；1週間0.5ml の蒸留水のみを，1日2回投与した．(c) Control 群(Cont)（n＝5）；CER 群と同様に蒸留水のみを1週間投与した．これらの前処置の終了後，16時間の絶食期間を置き（最後の SK や蒸留水投与より1時間後），pentobarbital sodium の腹腔内投与（30mg/kg）よる全身麻酔下，右側外頸静脈より上大静脈に挿管（PE-50）し静脈 line とした．SK 群と Cer 群ではセルレインの5μg/kg・hr の用量をヘパリン加（20U/ml）生理食塩水に溶解させ0.58ml/hr の速度で3.5時間投与した．Cont 群では生理食塩水のみを3.5時間投与した．この3.5時間の生理食塩水の投与終了後，全ラットをと殺した．開腹後，下大静脈より採血し，血清 amylase 値の測定用とした．約1/3量の膵組織を150℃にて48時間乾燥させ dry weight を測定し，摘出直後の重量と比較し，膵水分量を計算した．残りの膵組織は細胞分画法に用いた．5ml の5mM MOPS（3-(N-morpholino) propanesulfonic acid) buffer（pH 6.5）中にて homogenate とし，150×g（4℃，10分）の遠沈を加えた．この上澄に1,300×g（4℃，15分）の遠沈を加えチモーゲン課粒分画（1.3 KP）を得た後，さらに，この上澄に12,000×g（4℃，12分）の遠沈を加えライソゾーム分画（12KP）と最後の上澄（マイクロゾームと可溶性分画；12KS）を得た．これら各分画中でライソゾーム酵素として cathepsin B 活性を測定し全体の活性の％として表わし，ライソゾーム酵素の膵腺房細胞内での分布の指標とした．Amylase 活性は blue starch 法にて測定し，cathepsin B 活性は McDonald と Ellis の方法[2]にて測定した．統計学的検定には ANOVA と Tukey の方法[3]を用いた．

結果：Cer 群では血清 amylase 値が29±3U/ml と Cont 群（7±1）に比べ有意に（$p<0.01$）上昇したが，SK 群では17±2U/ml と Cer 群に比べ有意に（$p<0.02$）低値を示した．膵水分量も Cer 群（89±2％）は Cont 群（75±1％）に比べ有意に（$p<0.02$）上昇したが，SK 群（82±2％）は Cer 群より有意に（$p<0.05$）低値を示した．Cer 群では cathepsin B 活性が1.3KP で48±3％，12KP で35±3％と Cont 群（1.3 KP；24±2％，12KP；61±2％）に比べそれぞれ有意に増減し，ライソゾーム酵素の再分布を示唆させたが，SK 群（1.3KP；37±3％，12KP；46±2％ではこれらの変化は有意に抑制された（**Fig. 1**）．

Fig. 1 Effect of Saiko-keishi-to on subcellular distribution of cathepsin B activity in the rat caerulein-induced pancreatitis (means ± SEM) * $p<0.02$ and ** $p<0.01$ vs. Cont. + $p<0.05$ vs. Cer.



考察：柴胡桂枝湯に含有される柴胡と甘草は抗炎症作用・活性酸素産生抑制と消去作用を，また柴胡と桂皮には生体膜保護作用を有するといわれ，これらの作用により柴胡桂枝湯がセルレイン膵炎で膵保護作用を示すものと考えられた．今回の結果は，また，セルレイン膵炎の発症機序でのライソゾーム酵素と膵消化酵素の同一細胞内分画での共存の重要性とともに，膵炎発症の予防での柴胡桂湯の有用性をも示唆させた．

Key word: redistribution of cathepsin B in pancreatitis

文献：1) Steer ML, Meldolesi J: The cell biology experimental pancreatitis. N Engl J Med 316: 144—150, 1987　2) McDonald JK, Ellis S: On the substrate specificity of cathepsin B_1 and B_2 including a new fluorogenic substrate for cathepsin B_1. Life Sci 17: 1269—1276, 1975　3) Bartz AE: One-way analysis of variance. Edited by Bartz A E. Basic Statistical Concepts. Third edition, Macmillan, New York, 1988, p278—303

Effect of Saiko-keishi-to on Lysosomal Enzyme in the Rat Caerulein-Induced Pancreatitis

Tetsuya Hirano and Tadao Manabe. First Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University.

＜1992年12月9日受理＞別刷請求先：平野鉄也　〒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