

|         |  |
|---------|--|
| 氏名(本籍)  | 清水美知緒(東京都)   |
| 学位の種類   | 博士(医学)   |
| 学位記番号   | 博甲第2395号   |
| 学位授与年月日 | 平成12年3月24日   |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当   |
| 審査研究科   | 医学研究科  |
| 学位論文題目  | Regulation of mucus glycoprotein secretion in the gallbladder epithelial cells with special reference to the effects of eicosapentaenoic acid (EPA); Mechanism of the preventive effect of fish oil on cholesterol gallstone formation<br>(胆嚢上皮細胞における粘液糖蛋白分泌の制御機構とエイコサペンタエン酸の効果; 魚油の胆石予防機序の解析) |
| 主査      | 筑波大学教授 医学博士 中井利昭   |
| 副査      | 筑波大学教授 医学博士 武藤弘  |
| 副査      | 筑波大学助教授 医学博士 奥田論吉  |
| 副査      | 筑波大学助教授 医学博士 轟健  |

### 論文の内容の要旨

#### (目的)

近年、食事の欧米化に伴って本邦でもコレステロール胆石症が増加し、医療経済的にもその予防が課題となってきた。胆嚢上皮から分泌されるムチン糖蛋白は、胆汁中コレステロール(Ch)結晶の析出、成長さらに凝集を促進させることから、その過剰分泌は胆石形成の大きな成因の1つである。最近、動物実験にて魚油(Eicosapentaenoic acid: EPA)の胆石予防効果が示されたが、その機序は明確にされていない。本研究ではムチン過剰分泌にEPAが関与しているかを、in vitroで検討した。

#### (対象と方法)

1. Odaらの樹立したイヌ胆嚢上皮細胞を用いて、ムチン刺激物質のムチン産生や培養液中への分泌に対する影響をみた。ムチン分泌の測定は、まず細胞を $[3H]$ -N-acetyl-D-glucosamineで24時間標識し、各種ムチン刺激物質を4時間添加し、培養液中と細胞内のムチンをそれぞれ10%トリクロロ酢酸/1%タンゲストリン酸液にて沈澱回収し、シンチレーションカウンターにて測定した。培養液中と細胞内のRI量の和よりムチン産生量を、両者のRIの比よりムチン分泌量をそれぞれ算出した。ムチン刺激物質としては、アラキドン酸(AA)、EPA、パルミチン酸、オレイン酸、リノール酸を用い、短期添加、Ch過飽和人工胆汁添加、長期添加の3つの添加法を検討した。
2. さらに、各種ムチン刺激やリゾフォスファチジルコリン(LPC)、リポポリサッカライド(LPS)等の胆嚢炎惹起因子の作用に対するEPAの影響も検討した。細胞内カルシウムは蛍光色素法にて、培養液中のPGE<sub>2</sub>、6-ketoPGF<sub>1</sub>αをEIA法にて測定した。

#### (結果)

1. 各種ムチン刺激物質投与実験では、いずれの脂肪酸も胆嚢ムチンの産生を増加させなかった。ムチン分泌に

については、AAのみが短期、長期添加のいずれでも有意に促進させた。EPAを前投与しておく、このAAによるムチン分泌促進（PGE<sub>2</sub>産生促進も）は有意に抑制された。人工胆汁添加実験でも、AA含有レシチンを含む場合は、ムチン分泌とPGE<sub>2</sub>産生促進がみられたが、EPA含有レシチンを含む場合は、これらが有意に抑制された。

2. ionomycin, 胆汁酸, PMAはいずれもムチン分泌を有意に促進したが、EPAの長期前添加は有意に抑制した。LPC, LPSも単独添加はムチン分泌を促進したが、EPAを長期前添加しておく、有意に抑制した。

#### （考察）

多価不飽和脂肪酸であるEPAが、胆石予防効果を有することが動物実験で報告されたがその機序についての検討成績は、今までみられなかった。今回の *in vitro* の検討でEPAはAAカスケードを介したムチン分泌を抑制すること、ionomycin, 胆汁酸, PMA等、細胞内Ca<sup>2+</sup>やCキナーゼ系を介したムチン分泌を抑制することが証明された。また、LPCの胆嚢惹起因子のムチン分泌促進作用も、EPAによって抑制されることが示された。これらの結果は、胆嚢上皮細胞に対するEPAの生理作用をはじめて明らかにするとともにEPAによる胆石予防機序の一端を明らかにしたものである。さらに、EPAは胆嚢炎惹起因子であるLPCによるPG産生をも抑制したことから、胆石の主要合併症である急性胆嚢炎の病態に抑制的に働くことも示唆された。今後、EPA摂取と胆石の発症頻度に関する疫学的研究など基礎面、臨床面合わせた研究の進展が必要である。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

胆嚢上皮から分泌されるムチン糖蛋白は、胆汁中コレステロール結晶の析出、成長さらに凝集を促進させることから、その過剰分泌は胆石形成の大きな成因の1つである。最近魚油（Eicosapentaenoic acid : EPA）が胆石予防効果を有することが動物実験で示されたが、その機序は明確にされていない。本研究では、イヌ胆嚢上皮細胞を用いての *in vitro* 実験で、EPAがムチン分泌を抑制することをはじめて明らかにした。さらに、EPAは胆嚢炎惹起因子であるリゾフォスファチジルコリン（LPC）によるPG産生を抑制することをも証明した。胆石生成機序および急性胆嚢炎の病態の一端を明らかにした価値ある研究と評価する。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。