

はしがき

近年我が国においてはライフスタイルの欧米化とともに、脂肪摂取量の急激な増加と食物繊維の急激な減少といった食生活の変化が生じ、消化器病の領域ではコレステロール胆石症の増加を引き起こしている。特に近年の日本では、疫学上胆石保有率が急速に増加してきたと言われており、その多くはコレステロール胆石症の増加とされている。コレステロール胆石の成因は多段階かつ多因子的であり、(1) 肝脂質代謝異常とコレステロール過飽和胆汁生成、(2) 胆汁中コレステロール存在様式の不安定化とその結晶析出動態の亢進、(3) 胆嚢収縮機能異常に伴うコレステロール結晶の胆嚢からのクリアランスの低下と胆石への成長の三段階が重要であるとされてきた。

一方最近の研究では、胆嚢ムチンはコレステロール結晶析出を促進するのみでなく、胆嚢壁内面にムチンゲル層を形成することでコレステロール結晶成長の土壌となる。従って、胆石形成の病態には、胆嚢粘膜組織におけるアラキドン酸代謝の異常またこれに関わる粘液糖蛋白(ムチン)過分泌の関与がコレステロール過飽和胆汁生成以上に胆石形成の病態に重要であることが明らかになりつつある。

ムチンは主に上皮系細胞に発現され、高分子量(2万以上)、高糖含量(分子量の50%以上)という特徴をもつ糖蛋白質である。近年ではムチンの遺伝子構造も相次いで明らかにされている。しかしながら、コレステロール胆石症における胆汁中のムチン過剰発現の背景にあると考えられる胆嚢のアラキドン酸代謝ならびにムチン遺伝子発現の異常の詳細に関しては未だ不明である。

本研究では、コレステロール胆石症におけるアラキドン酸代謝の異常ならびにムチン過剰分泌の病態を解明する目的で、本症における胆嚢ホスホリパーゼA₂(PLA₂)の一連の酵素群に関する発現異常について分子生物学的手法を用いて解析し、また胆石形成に関わるムチンの遺伝子構造をMUC1よりMUC7より同定し、ムチン過剰発現の背景にあるムチン遺伝子発現の異常の解析を行った。さらに厚生省より難病に指定されている肝内結石症についても同様に解析を行った。

研究組織

研究代表者： 正田 純一(筑波大学臨床医学系・講師)

研究経費

平成 9 年度	2, 100 千円
平成10年度	500 千円
平成11年度	600 千円

研究発表

(1) 学会誌等

1. **Shoda, J.**, Osuga, T.: Hepatolithiasis and cholesterol and bile acid metabolism. *Gastroenterology* 110:963-965, 1996.
2. **Shoda, J.**, Miyamoto, J., Kano, M., Ikegami, T., Matsuzaki, Y., Tanaka, N., Osuga, T., Miyazaki H.: Simultaneous determination of plasma mevalonate and 7α -hydroxy-4-cholesten-3-one levels in hyperlipoproteinemia - Convenient indices for estimating hepatic defects of cholesterol and bile acid syntheses and biliary cholesterol supersaturation. *Hepatology* 25:18-26, 1997.
3. **Shoda, J.**, Ueda, T., Ikegami, T., Matsuzaki, Y., Satoh, S., Kano, M., Matsuura, K., Tanaka, N.: Increased biliary group II phospholipase A_2 and altered gallbladder bile in patients with multiple cholesterol stones. *Gastroenterology* 112:2036-2047, 1997.
4. Sumazaki, R., Nakamura, N., **Shoda, J.**, Kurosawa, T., Tohma, T.: Gene analysis in delta-3-oxosteroid 5β -reductase deficiency. *Lancet* 349 (9048):329, 1997.
5. Matsuzaki, Y., Bouscarel, B., Le, M., Ceryak, S., Gettys, TW., **Shoda, J.**, Fromm, H.: Effect of cholestasis on regulation of cAMP synthesis by glucagon and bile acids in isolated hepatocytes. *Am J Physiol* 273:G-300-310, 1997.
6. Yoshida, T., Honda, A., **Shoda, J.**, Abei, M., Matsuzaki, Y., Tanaka, T., Miyazaki, H., Toshiaki, Osuga.: Short-term effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitor on cholesterol and bile acid synthesis in humans. *Lipids* 32:873-878, 1997.
7. Kano, M., **Shoda, J.**, Irimura, T., Ueda, T., Iwasaki, R., Urasaki, T., Kawauchi, Y., Asano, T., Matsuzaki, Y., Tanaka, N.: Effects of long-term ursodeoxycholate administration on expression levels of secretory low molecular weight phospholipase A_2 and mucin genes in gallbladders and biliary composition in patients with multiple cholesterol stones. *Hepatology* 28:302-313, 1998.
8. **Shoda, J.**, Kano, M., Asano, T., Irimura, T., Ueda, T., Iwasaki, R., Furukawa, M., Kamiya, J., Nimura, Y., Todoroki, T., Matsuzaki, Y., Tanaka, N.: Secretory low molecular weight phospholipase A_2 and their specific receptor in bile ducts of patients with intrahepatic calculi—factors of pathophysiological significance for chronic proliferative cholangitis. *Hepatology* 29:1026-1036, 1999.
9. Ikegami, T., Matsuzaki, Y., **Shoda, J.**, Kano, M., Hirabayashi, N., Tanaka, N.: The chemopreventive role of ursodeoxycholic acid in azoxymethane-treated rats: suppressive effects on enhanced group II phospholipase A_2 expression in colonic tissue. *Cancer Lett* 134:129-139, 1999.

10. Yoshida, T., Honda, A., Matsuzaki, Y., Shoda, J., Abei, M., Tanaka, N., Osuga, T.: Plasma levels of mevalonate and 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one in chronic liver disease. *J Gastroenterol and Hepatol* 14:150-155, 1999.
11. Tomida, S., Abei, M., Yamaguchi, T., Matsuzaki, Y., Shoda, J., Tanaka, N., Osuga, T. Long-term ursodeoxycholic acid therapy is associated with reduced risk of biliary pain and acute cholecystitis in patients with gallbladder stones: a Cohort analysis. *Hepatology* 30:6-13, 1999.
12. Honda, A., Salen, G., Shefer, S., Batta, A. K., Honda, M., Xu, G., Tint, G. S., Matsuzaki, Y., **Shoda, J.**, Tanaka, N. Bile acid synthesis in the Smith-Lemli-Opitz syndrome: effects of dehydrocholesterol on cholesterol 7 α -hydroxylase and 27-hydroxylase activities in rat liver. *J Lipid Res* 40:1520-1528, 1999.

(2) 口頭発表

1. 松崎 靖司, Bouscarel B, 正田 純一, 池上 正, 安部井誠人, 田中 直見:胆汁うっ滞時におけるUDCAシグナル伝達機構への影響. 第33回日本肝臓学会総会(名古屋), 4月, 1997.
2. 正田 純一, 上田 哲也, 池上 正, 加納 雅仁, 松崎 靖司, 安部井誠人, 田中 直見:多発コレステロール胆石症における胆嚢I型ホスホリパーゼA₂発現の異常と同ホスホリパーゼA₂が胆汁脂質組成に与える変化について. 第33回日本胆道学会総会(名古屋), 4月, 1997.
3. 加納 雅仁, 正田 純一, 松崎 靖司, 安部井誠人, 田中 直見:コレステロール過飽和胆汁の生成機序-食餌性コレステロール摂取過多と胆汁酸代謝および腸管胆汁吸収能の異常. 第33回日本胆道学会総会(名古屋), 4月, 1997.
4. 安部井誠人, 宮本 二郎, 池田 和穂, 清水美知緒, 池澤 和人, 正田 純一, 松崎 靖司, 田中 直見:魚油(エイコサペンタエン酸)のコレステロール胆石予防効果(第一報).胆石症患者の胆汁脂質組成, 結晶析出時間, 胆嚢収縮能に対する効果. 第33回日本胆道学会総会(名古屋), 4月, 1997.
5. 池田 和穂, 安部井誠人, 清水美知緒, 正田 純一, 松崎 靖司, 田中 直見:魚油(エイコサペンタエン酸)のコレステロール胆石予防効果(第三報).人工胆汁におけるコレステロール結晶析出能に対する影響. 第33回日本胆道学会総会(名古屋), 4月, 1997.
6. 正田 純一, 池上 正, 加納 雅仁, 浅野 徹, 松崎 靖司, 田中 直見:コレステロール胆石症における胆嚢I型ホスホリパーゼA₂(PLA₂)発現の異常と同ホスホリパーゼA₂が胆汁脂質組成に与える変化について. 第94回日本内科学会総会(大阪), 4月, 1997.
7. Tomita S, Abei M, Yamaguchi T, **Shoda J**, Matsuzaki Y, Tanaka N, Osuga T: Long-term effects of ursodeoxycholic acid in patients with cholecystolithiasis in comparison with the natural course. A cox proportional hazard model analysis. Annual Meeting of the American Gastroenterological Association (Washington D.C.), May, 1997.

8. Ikegami T, Matsuzaki Y, **Shoda J**, Hirabayashi N, Kano M, Tanaka N:
Chemopreventive role of ursodeoxycholate in animal colon cancer model: Suppressive effects on arachidonate metabolism through the modulation of enhanced group II phospholipase A₂ expression in colonic tissue.
Annual Meeting of the American Gastroenterological Association
(Washington D.C.), May, 1997.
9. Abei M, Shimizu M, Ikeda K, **Shoda J**, Matsuzaki Y, Tanaka N, Osuga T: Increased biliary phospholipids, prolonged nucleation time, and partial stone dissolution by long term administration of eicosapentaenoic acid (EPA) in patients with cholesterol gallstones.
Annual Association for the study of Liver Diseases (Washington D.C.), May, 1997.
10. Abei M, Ikeda K, Shimizu M, **Shoda J**, Matsuzaki Y, Tanaka N, Osuga T: Potency of phosphatidylcholine (PC) that contains fish oil (16:0-20:PC) in stabilization :
Comparizon with other common biliary PC or bile acid species in model.
American Association for the study of Liver Diseases
(Washington D.C.), May, 1997.
11. Ikegami T, Matsuzaki Y, **Shoda J**, Kano M, Ito S, Tanaka N: Modulatory effects of ursodeoxycholate on proinflammatory cytokine-induced group II phospholipase A₂ expression in human hepatoma cells.
American Association for the study of Liver Diseases (Washington D.C.), May, 1997.
12. Ito S, Matsuzaki Y, Ikegami T, Kimura T, **Shoda J**, Tanaka N: Cytokine profile of purified CD4 T lymphocytes and induction of hepatic murine model of primary biliary cirrhosis.
American Association for the study of Liver Diseases (Washington D.C.), May, 1997.
13. Kano M, **Shoda J**, Ueda T, Ikegami T, Matsuzaki Y, Asano T, Tanaka N:
Ursodeoxycholate (UDC) attenuates enhanced expression levels in gallbladder group II phospholipase A₂ (PLA₂-II) and reduces biliary protein and viscosity in patients with multiple cholesterol stones.
American Association for the study of Liver Diseases (Washington D.C.), May, 1997.
14. Matsuzaki Y, Bouscarel B, Ikegami T, Shoda J, Ceryak S, Kano M, Tanaka N, Fromm H: Expression of cholesterol 7 α -and 27-hydroxylases, two key enzymes for bile acid synthesis, in cholestatic hamster model.
American Association for the study of Liver Diseases (Washington D.C.), May, 1997.
15. Shoda J: Pathogenesis of hepatolithiasis in AGA Research Symposium
“Hepatolithiasis 1997: A tutorial for western physicians”
Annual Meeting of the American Gastroenterological Association
(Washington D.C.), May, 1997.
16. 正田 純一, 入村 達郎:胆嚢結石症に対する経口溶解療法の有用性に関する評価 - I I 型ホスホリパーゼ A₂ (P L A₂- I I) およびムチン遺伝子の解析より 第 3 9 回日本消化器病学会大会 (福岡) , 1 0 月, 1 9 9 7 .

17. 正田 純一, 田中 直見, 加納 雅仁, 浅野 徹, 池上 正, 松崎 靖司: 肝内結石症における異常胆汁生成機序の解明-肝コレステロール・胆汁酸代謝の異常ならびに胆道組織におけるI I型ホスホリパーゼA₂ (PLA₂) の発現異常の点より- 平成8年度厚生省特定疾患肝内結石症班会議, 1997
18. 佐藤巳喜夫, 松崎靖司, 千葉 俊也, 安部井誠人, 正田 純一, 田中 直見: 大腸癌肝転移に対する陽子線照射療法, 第95回日本内科学会総会(福岡), 4月, 1998.
19. 伊藤 進一, 松崎 靖司, 木村 武志, 池上 正, 正田 純一, 田中 直見: 動物モデルを用いたPBCの病態解析と病変制御, 第34回日本肝臓学会総会(横浜), 4月, 1998.
20. 本多 彰, 松崎 靖司, 正田 純一, 安部井誠人, 田中 直見: Smith-Lemli-Opitz症候群における過剰なコレステロール合成系フィードバック阻害のメカニズムに関する検討, 第34回日本肝臓学会総会(横浜), 4月, 1998.
21. 池上 正, 松崎 靖司, 正田 純一, 加納 雅仁, 伊藤 進一, 田中 直見: 炎症性サイトカイン誘導性group-II phospholipase A₂発現に対するウルソデオキシコール酸(UDCA)の抑制効果, 第34回日本肝臓学会総会(横浜), 4月, 1998.
22. 浅野 徹, 正田 純一, 加納 雅仁, 上田 哲也, 入村 達郎, 古川 正人, 松崎 靖司, 田中 直見: 肝内結石症の発生, 進展にかかわる低分子ホスホリパーゼA₂ (PLA₂) とムチン遺伝子の発現と変動, 第34回日本胆道学会総会(横浜), 4月, 1998.
23. 清水美知緒, 安部井誠人, 松崎 靖司, 池田 和穂, 正田 純一, 田中 直見: 培養胆嚢上皮細胞におけるアラキドン酸誘発ムチン分泌に対するエイコサペンタエン酸の抑制効果: 魚油の胆石予防機序の解析(第4報), 第34回日本胆道学会総会(横浜), 4月, 1998.
24. Shimizu M, Abei M, Matsuzaki Y, Ikeda Y, Shoda J, Tanaka N, Osuga T, Lee SP: Eicosapentaenoic acid inhibits arachidonic acid-induced prostaglandin E₂ synthesis and mucus glycoprotein secretion in cultured dog gallbladder epithelial cells. Annual Meeting of the American Gastroenterological Association. (New Orleans), May, 1998.
25. Kano M, Shoda J, Ueda T, Iwasaki R, Irimura T, Urasaki T, Kawauchi Y, Asano T, Matsuzaki Y, Tanaka N: Effects of long-term ursodeoxycholate administration on expression levels of secretory low molecular weight phospholipase A₂ and mucin genes in patients with multiple cholesterol stones. Annual Meeting of the American Gastroenterological Association (New Orleans), May, 1998.
26. Abei M, Kawano H, Yano T, Mizuguchi K, Shoda J, Matsuzaki Y, Tanaka N, Osuga T: Effects of eicosapentaenoic acid on biliary lipids and gallstone formation in cholesterol fed hamsters: comparison with other fatty acids. Annual Meeting of the American Gastroenterological Association (New Orleans), May, 1998.

27. Asano T, Kano M, Shoda J, Ueda T, Iwasaki R, Irimura T, Urasaki T, Kawauchi Y, Matsuzaki Y, Tanaka N:
Enhanced expression of secretory low molecular weight phospholipase A₂ and altered expression of mucin genes in affected intrahepatic bile ducts with hepatolithiasis.
Annual Meeting of the American Gastroenterological Association
(New Orleans), May, 1998.
28. Itoh S, Matsuzaki Y, Kimura T, Ikegami T, Shoda J, Tanaka N:
Suppression of PBC-like hepatic lesions in murine GVHR model by antibodies against adhesion molecules.
Annual Meeting of the American Gastroenterological Association
(New Orleans), May, 1998.
29. Ikegami T, Matsuzaki Y, Itoh S, Shoda J, Kano M, Tanaka N:
Mechanisms of suppressive effect of ursodeoxycholic acid on interleukin-6-induced group II phospholipase A₂ expression in Hep G2 cells.
Annual Meeting of the American Gastroenterological Association.
(New Orleans), May, 1998.
30. Matsuzaki Y, Chiba T, Saito Y, Doy M, Itoh S, Asaoka H, Shoda J, Tanaka N:
The relationship among HBV genome integration, p53 gene mutation, telomerase activity and genetic instability in HBsAg-negative and anti-HCV positive hepatocellular carcinoma in Japan.
Annual Meeting of the American Gastroenterological Association.
(New Orleans), May, 1998.
31. 池上 正, 松崎 靖司, 正田 純一, 加納 雅仁, 田中 直見:
シンポジウム 消化器癌発生を修飾する内的環境因子, 胆汁酸と大腸発癌: Group II PLA₂ 発現を介したアラキドン酸カスケードへの関与について. 第9回日本消化器癌発生学会(宇都宮), 9月, 1998.
32. 池田 和穂, 安部井誠人, 清水美知緒, 松崎 靖司, 正田 純一, 田中 直見:
胆汁中各種胆汁酸のコレステロール結晶析出性に対する影響.
第40回日本消化器病学会大会(東京), 10月, 1998.
33. 正田 純一, 加納 雅仁, 入村 達郎, 上田 哲也, 浅野 徹, 宮原 直樹, 池上 正, 松崎 靖司, 田中 直見: 多発コレステロール胆石症における胆嚢IIA型ホスホリパーゼA₂ およびCystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulatorの発現異常とその意義において 第40回日本消化器病学会大会(東京), 10月, 1998.
34. 加納 雅仁, 正田 純一, 入村 達郎, 上田 哲也, 浅野 徹, 宮原 直樹, 松崎 靖司, 田中 直見: 多発コレステロール胆石症における胆嚢IIA型ホスホリパーゼA₂ およびCFTR 発現異常とその意義について. 第32回日本肝臓学会東部会(札幌), 12月, 1998.
35. 浅野 徹, 正田 純一, 加納 雅仁, 上田 哲也, 入村 達郎, 古川 正人, 松崎 靖司, 田中 直見, 神谷 順一, 三村 雄次: 肝内結石症の発生, 進展に係わるホスホリパーゼ A₂, CFTR及びムチン遺伝子の発現と変動. 第32回日本肝臓学会東部会(札幌), 12月, 1998.

36. 正田 純一, 加納 雅仁, 浅野 徹, 松崎 靖司, 田中 直見:
肝内結石症の発生, 進展にかかわる分泌型低分子ホスホリパーゼ A_2 およびムチン遺伝子の発現について厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班 平成9年度班会議(名古屋), 1998.
37. 正田 純一, 加納 雅仁, 浅野 徹, 松崎 靖司, 田中 直見, 伊藤 晃成, 鈴木 洋史, 杉山 雄一, 宮崎 浩, 古川 正人, 神谷 順一, 二村 雄次: 肝内結石症における異常肝胆汁の生成と疾病肝における肝内および胆管側膜輸送蛋白の発現異常について 厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班 平成10年度班会議(名古屋), 1999.
38. 正田 純一, 加納 雅仁, 浅野 徹, 上田 哲也, 入村 達郎, 古川 正人, 松崎 靖司, 田中 直見, 神谷 順一, 二村 雄次: 肝内結石症の発生, 進展にかかわる分泌型低分子ホスホリパーゼ A_2 , 同受容体およびムチン遺伝子の発現と変動について 第35回日本肝臓学会総会(東京), 6月, 1999.
39. Kano J, Shoda J, Itoh K, Suzuki H, Sugiyama Y, Miyazaki H, Kamiya J, Nimura Y, He B-F, Matsuzaki Y, Tanaka N: The molecular expression levels of intracellular carriers and canalicular membrane transporters of cholesterol, phospholipid and bile acid in the liver of patients with intrahepatic calculi. American Association for the study of Liver Diseases (Orlando), May, 1999.
40. Asano T, Shoda J, Kano M, Ueda T, Iwasaki R, Furukawa M, Kamiya J, Nimura Y, Todoroki T, Matsuzaki Y, Tanaka N: Secretory low molecular weight phospholipase A_2 (sPLA $_2$) isoforms and their receptor in bile ducts of patients with intrahepatic calculi - factors of pathophysiological significance for chronic proliferative cholangitis. American Association for the study of Liver Diseases (Orlando), May, 1999.
41. Shoda J, Kano M, Itoh K, Suzuki H, Sugiyama Y, Miyazaki H, Todoroki T, Nimura Y, Furukawa M, Matsuzaki Y, Tanaka N: The molecular expression levels of canalicular membrane transporters of bile acid in the liver of patients with obstructive jaundice undergoing biliary drainage. American Association for the study of Liver Diseases (Orlando), May, 1999.
42. Asano T, Kawamoto T, Shoda J, Irimura T, Kano M, Todoroki T, Ueda T, Tanabe T, Matsuzaki Y, Tanaka N: The molecular expression levels of phospholipase A_2 (PLA $_2$) and cyclooxygenase (Cox) isoforms in human biliary carcinomas and their biological significance. American Association for the study of Liver Diseases (Orlando), May, 1999.
43. Shimizu M, Abei M, Matsuzaki Y, Shoda J, Tanaka N, Osuga T, Lee SP: Types of fatty acids modify responses of gallbladder epithelial cells to lysophosphatidylcholine or lipopolysaccharide *in vitro*. American Association for the study of Liver Diseases (Orlando), May, 1999.
44. Kawamoto T, Asano T, Shoda J, Todoroki T, Irimura T, Tanaka N, Fukao T: Immunohistochemical expressions of cyclooxygenase (Cox) isoforms and siallated MUC1 mucins in human gallbladder carcinoma. American Association for the study of Liver Diseases (Orlando), May, 1999.

45. 正田 純一, 松崎 靖司, 田中 直見: コレステロール過飽和胆汁生成機序における胆嚢・小腸の生理運動機能の異常とそれらの役割
第41回日本消化器病学会大会, 10月, 1999.
46. 正田 純一, 田中 直見, 入村 達郎: 肝内結石症における異常肝胆汁生成の病態解析 - 低分子ホスホリパーゼA₂とムチン遺伝子の発現と変動
第3回日本肝臓学会大会, 10月, 1999.
47. Shoda J, Tanaka N: The molecular expression levels of intracellular carriers and canalicular membrane transporters of cholesterol, phospholipid and bile acid in the liver of patients with intrahepatic calculi, and etiological significance. International Symposium II "Jaundice and Cholestasis - Recent advances in basic science and clinical implication -" 日本消化器関連学会週間, 10月, 1999.

(3) 出版物

1. 田中 直見, 正田 純一, 加納 雅仁, 浅野 徹, 池上 正, 松崎 靖司: 肝内結石症における異常肝胆汁生成機序の解明 - 肝コレステロール・胆汁酸代謝の異常ならびに胆道組織におけるI型ホスホリパーゼA₂ (PLA₂) の発現異常の点より - 厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班 平成8年度研究報告書 p p 37 - 45.
2. 田中 直見, 正田 純一, 加納 雅仁, 浅野 徹, 松崎 靖司, 轟 健, 入村 達郎, 古川 正人, 三村 雄次, 神谷 順一. 肝内結石症の発生, 進展にかかわる分泌型低分子ホスホリパーゼA₂とムチン遺伝子の発現. 厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班 平成9年度研究報告書 p p 23 - 25.
3. 田中 直見, 正田 純一, 加納 雅仁, 浅野 徹, 松崎 靖司, 伊藤 晃成, 鈴木 洋史, 杉山 雄一, 宮崎 浩, 古川 正人, 神谷 順一, 三村 雄次. 肝内結石症における異常肝胆汁の生成と疾病肝における肝内および胆管側膜担送蛋白の発現異常について. 厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班 平成10年度研究報告書 p p 44 - 48.
4. Matsuzaki, Y., Chiba, T., **Shoda, J.**, Tanaka, N., Okumura, T., Tsujii, H., Akine, Y.: The usefulness of proton irradiation for hepatocellular carcinoma: present status and future prospects. Hepatocellular Carcinoma. In: Progress in Hepatology, Volume 3. Yamanaka M and Toda G, eds. Elsevier Science. Amsterdam, The Netherlands.

研究成果報告

第一部 コレステロール胆石症における胆汁中 I I 型ホスホリパーゼ A₂ の測定とその意義

研究目的

コレステロール胆石形成の背景には、胆嚢あるいは胆管内のいずれにおいても、コ過飽和胆汁生成に加えてコ結晶析出動態の亢進が必要である（文献1, 2）。このコ結晶析出動態の促進因子の一つには、胆嚢、胆管組織の炎症に関連した胆嚢、胆管上皮より分泌される蛋白、とくにムチンの増加とそれによる胆汁中コ結晶析出動態の亢進が重要とされている（文献3）。I I 型ホスホリパーゼ A₂ (P L A₂) は炎症組織において大量に認められ（文献4）、I I 型 P L A₂ の炎症メデイエーターの役割が注目されている（文献5）。また炎症組織において組織より体液中へ分泌される特徴がある。そこで今回は各種胆嚢結石症における胆嚢胆汁中の I I 型 P L A₂ の酵素蛋白濃度の測定を行うことで胆嚢上皮における炎症の発生状況の病態を理解した。さらに I I 型 P L A₂ 酵素蛋白濃度と胆汁成分の変化、すなわち胆汁中リゾホスファチジルコリン量、総蛋白量、さらに胆汁粘度の変化と対比することで、コ結石形成過程における I I 型 P L A₂ の役割を検討した。

対象および方法

胆嚢結石39例（単発コレステロール石13例，多発コレステロール石13例，多発色素石13例）および対照15例より，手術時に胆嚢胆汁を採取した。胆汁中 I I 型 P L A₂ の酵素蛋白量は，抗ヒト脾臓 I I 型 P L A₂ モノクローナル抗体（文献6）を用いた radioimmunoassay 法にて測定した。胆汁中ホスファチジルコリン (PC) およびリゾホスファチジルコリン (LsoPC) は高速液体クロマトグラフ-質量分析計にて測定した。また胆汁中蛋白，ムチン量を反映すると考えられる胆汁粘度は capillary viscometer を用いて 37℃ にて測定した。

成績

胆嚢胆汁における I I 型 P L A₂ の酵素蛋白の胆汁濃度は，多発コレステロール石では対照ならびに単発コレステロール石に比して有意に高値であった。また胆汁中における I I 型 P L A₂ の酵素活性を予測する目的で胆嚢胆汁における LsoPC ならびに遊離アラキドン酸濃度を測定したところ，酵素蛋白量に平行して多発コレステロール石例で両者は高値を示していた。

さらに I I 型 P L A₂ の胆汁に与える生化学-物理学的変化について検討する目的で，胆汁中総蛋白濃度，粘液糖蛋白ならびに胆汁粘度を測定したところ，I I 型 P L A₂ の酵素蛋白量が増加している多発コレステロール石では対照に比して有意に高値を示した。

考察

本研究では各種胆嚢結石症例を用いて胆嚢胆汁中の I I 型 P L A₂ の酵素蛋白量の測定を行うことで胆嚢上皮における炎症の発生状況の病態を検討した。その結果，胆汁中 I I 型 P L A₂ は多発コレステロール石例で最も高値を示し，それに随伴して胆汁中 LsoPC ならびに遊離アラキドン酸濃度も有意に増加していることが明らかとなった。これら LsoPC ならびに遊離アラキドン酸は I I 型 P L A₂ の胆汁中 PC の代謝産物であると考えられた。LsoPC の増加は胆嚢上皮に対してその有する強い組織障害性の点より炎症を惹起し，また遊離アラキドン酸の増加はアラキドン酸カスケードの作動を刺激し粘液糖蛋白の分泌増加に関与するものと推測された。多発コレステロール石例における

胆汁中総蛋白濃度の高値は、炎症に基ずく胆嚢上皮の透過性の亢進による血中蛋白の胆汁中への流入により、また胆汁粘度の高値は血中蛋白の流入あるいは粘液糖蛋白の増加による胆汁成分の変化により説明可能であった。これらの胆汁成分の生化学-物理学的変化はコレステロール核析出時間の短縮を生じ、コ結晶析出動態の亢進の病態において重要な役割を演じていると考えられた。多発コレステロール石例は単発コレステロール石例に比して胆汁酸製剤による完全溶解後の再発率が高いことが報告されている（文献7）が、この背景の一つには胆汁中I I型PLA₂の増加に関連した胆嚢上皮の炎症ならびに粘液糖蛋白の過剰分泌の病態が重要であると推測された。

文献

1. Afdhal NH, Smith BF: Current concepts on the pathogenesis of gallstones. *View Dig Dis* 22:13-18, 1990.
2. Jungst D, Bazzoli F, Taroni F, et al. Cholesterol nucleation time in gallbladder bile of patients with solitary or multiple cholesterol gallstones. *Hepatology* 15:804-808.
3. Levy PF, Smith BF, LaMont JT: Human gallbladder mucin accelerates nucleation of cholesterol in artificial biles. *Gastroenterology* 87:270-275, 1984.
4. Frost S, Weiss J, Elsbach P, et al.: Structural and functional properties of phospholipase A₂ purified from an inflammatory exudate. *Biochemistry* 25:8381-8385, 1986.
5. Vadas P, Pruzabski W: Role of secretory phospholipase A₂. *Lab Invest* 55:391-404, 1986.
6. Matsuda Y, Ogawa M, Sakamoto K, et al.: Development of a radioimmunoassay of human group-II phospholipase A₂ and demonstration of postoperative elevation. *Enzyme* 45:200-208, 1991.
7. Villanova N, Bazzoli F, Taroni F, et al.: Gallstone recurrence after successful oral bile acid treatment: a 12-year follow-up study and evaluation of long-term postdissolution treatment. *Gastroenterology* 98:392-396, 1989.

以下の頁は著作権者の許諾を得ていないため、公表できません。

p. 11 ~ p. 22

p. 27 ~ p. 38

p. 43 ~ p. 53

p. ~ p.

p. ~ p.