

## 第二部 多発コレステロール胆石症の胆嚢における分泌型低分子ホスホリパーゼA<sub>2</sub>およびムチン遺伝子の発現と胆汁酸組成に対するウルソデオキシコール酸長期投与の効果

### 研究目的

コレステロール胆石症における粘液糖蛋白の過剰分泌は、胆石形成過程における重要な病態因子である(文献1)。本症の胆嚢組織におけるムチン過剰発現の背景にあると考えられる、アラキドン酸代謝の活性化による炎症病態の進展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。分泌型低分子ホスホリパーゼA<sub>2</sub>(以下PLA<sub>2</sub>)は生体膜を構成するグリセリン脂質の2位のアシル鎖を加水分解する酵素であり、多岐に渡る生理活性を發揮するプロスタグランジン、ロイコトリエンのアラキドン酸由来のエイコサノイドや、血小板活性化因子、リゾボスファチジン酸の生理活性リン脂質産生の律速酵素であり、生体内における炎症の発生および進展を促進する点より、近年急速にその注目度が高まっている(文献2)。

最近我々はコレステロール胆石症のうち、多発結石例の胆嚢ならびに胆嚢胆汁において、分泌型低分子PLA<sub>2</sub>のうちIIAタイプのPLA<sub>2</sub>の発現が亢進しており、それらが胆嚢炎の病態の進展に深く関与していることを見出し報告した(文献3)。単発結石例に比較して、多発結石例では経口溶解剤による完全溶解後の再発率が高い事実(文献4)、有症状化が起こりやすい事実(文献5)、またさらにコレステロール結晶動態の亢進が起こっている事実は(文献6)、すべてが分泌型低分子PLA<sub>2</sub>の発現増加による胆嚢炎の増悪に関連していると考えられる。

ウルソデオキシコール酸はコレステロール胆石症の経口溶解剤として注目を集めてきた(文献4)が、現在では臨床医学の分野におけるその有用性は、コレステロール胆石症のみならず消化器疾患の多岐にわたり認められ報告されている。さらにコレステロール胆石症に限定すれば、ウルソデオキシコール酸の長期投与は胆石の完全溶解率は低値であるが、胆石の有症状化を防止すること(文献7)、胆汁中粘液糖蛋白の分泌を低下させることより(文献8)考えて、その有用性に関しては再評価の時期にきている。

本研究では、分泌型低分子PLA<sub>2</sub>の酵素群(IIA型、V型、およびX型)およびムチン遺伝子(MUC1-MUC6)のコレステロール胆石症患者の胆嚢における発現と変動を分子生物的手法にて解析した。またウルソデオキシコール酸投与の有用性を、ウルソデオキシコール酸服用例の胆嚢におけるこれらの遺伝子発現の変動ならびに胆汁組成の変化より検討をおこなった。

### 対象および方法

対象は最近5年間に筑波大学附属病院にて胆嚢摘出術を受けた胆石症患者のうち、術前の4ヶ月間は無症候であり、経口胆嚢造影にて胆嚢が良好に造影された単発コレステロール胆石症32例、多発コレステロール胆石症48例、多発色素胆石症24例および肝胆道疾患を有しない対照24例とした。またこのうち、単発コレステロール胆石症32例中11例、多発コレステロール胆石症48例中19例、多発色素胆石症24例中7例に対しては、1日600mg、6~12ヶ月のウルソデオキシコール酸(UDC)の経口投与をおこなった。

胆嚢摘出時に胆嚢および胆嚢胆汁を採取し、胆嚢における分泌型低分子PLA<sub>2</sub>(IIA型およびV型PLA<sub>2</sub>)遺伝子の発現、プロスタグランジンE<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)濃度およびムチンコア蛋白遺伝子の発現を解析した。また、RIA法に胆嚢および胆汁中のIIA型PLA<sub>2</sub>濃度を測定した(文献9)。さらに胆汁組成について、胆汁脂質、遊離アラキドン酸濃度、総蛋白濃度、総ムチン濃度、コレステロール結晶析出時間、胆汁粘度の測定をおこない、それぞれの結果を比較検討した。

## 成績

胆嚢I I A型PLA<sub>2</sub>濃度 (ng/mg·protein) は、単発コレステロール胆石、UDC非服用者 (n=21) 1.7, UDC服用者 (n=11) 1.3, 多発コレステロール胆石、UDC非服用者 (n=29) 5.4, UDC服用者 (n=19) 2.7であり、多発コレステロール胆石症のUDC服用者では非服用者に比して有意に低下していた。

分泌型低分子PLA<sub>2</sub>mRNAの発現量 (%G3PDH) は、I I A型は単発コレステロール胆石、UDC非服用者 (n=11) 1.5, UDC服用者 (n=10) 1.7, 多発コレステロール胆石、UDC非服用者 (n=14) 3.0, UDC服用者 (n=14) 1.7であり、またV型PLA<sub>2</sub>では、単発コレステロール胆石、UDC非服用者 (n=21)  $10.5 \times 10^{-2}$ , UDC服用者 (n=11)  $9.6 \times 10^{-2}$ , 多発コレステロール胆石、UDC非服用者 (n=14)  $11.9 \times 10^{-2}$ , UDC服用者 (n=14)  $6.1 \times 10^{-2}$ であり、多発コレステロール胆石症のUDC服用者では非服用者に比して有意に低値であった。

I I A型およびV型PLA<sub>2</sub>の発現量に平行してPGE<sub>2</sub>濃度 (pg/mg·protein) も単発コレステロール胆石、UDC非服用者 (n=11) 211.6, UDC服用者 (n=10) 171.4, 多発コレステロール胆石、UDC非服用者 (n=14) 393.6, UDC服用者 (n=14) 190.7であり、多発コレステロール胆石症のUDC服用者では非服用者に比して有意に低下していた。

多発コレステロール胆石症の胆汁では、UDCの長期投与により総蛋白濃度、総ムチン濃度、遊離アラキドン酸濃度の低下、胆汁粘度の低下およびコレステロール結晶析出時間の延長を認めた。UDC服用者非服用者に比して総ムチン濃度の低下を認めたが、ムチン分子の産生に係わるMUC1~MUC6のムチンコア蛋白の遺伝子発現には有意な差を認めなかった。

## 考察

多発コレステロール胆石症では、胆嚢上皮の炎症ならびにムチン過剰分泌の病態因子の発現が亢進しており、これらの発現異常に関連した胆汁組成の変化は、胆汁酸製剤による経口溶解療法後の高頻度の再発、コレステロール結晶析出時間の著明な短縮、高頻度の胆道合併症を説明するものと考えられた。

UDCの長期投与により、多発コレステロール胆石症の胆嚢では胆嚢炎の病態因子であると考えられている分泌型PLA<sub>2</sub>の発現が軽減され、また胆嚢におけるPGE<sub>2</sub>濃度も低値であったことより、UDCの長期投与はアラキドン酸カスケードの活性化の抑制を介することで胆嚢上皮の炎症病態の改善をもたらすものと考えられた。このことよりUDCの長期投与においては、胆嚢上皮の炎症病態に関連した胆嚢上皮より胆汁中への蛋白ならびにムチンの分泌が軽減され、その結果、多発コレステロール胆石症の胆嚢胆汁では、総蛋白、総ムチン濃度の低下がおり、コレステロール結晶析出時間の延長ならびに胆汁粘度の低下が生じたものと考えられた。これらすべての胆汁組成の変化は、コレステロール胆石の形成過程におけるコレステロール結晶析出動態の亢進に対して抑制的に働くものと考えられた。

UDCの長期投与の有用性は、アラキドン酸代謝を介した胆嚢上皮の炎症ならびにムチン過剰分泌の病態を軽減することで、胆石症の有症状化とその進展を抑制することにあると考えられた。

## 文献

1. Afdhal NH, Smith BF: Current concepts on the pathogenesis of gallstones. *View Dig Dis* 22:13-18, 1990.
2. Frost S, Weiss J, Elsbach P, et al.: Structural and functional properties of phospholipase A<sub>2</sub> purified from an inflammatory exudate. *Biochemistry* 25:8381-8385, 1986.
3. Shoda J, Ueda T, Ikegami T, et al. Increased biliary group II phospholipase A<sub>2</sub> and altered gallbladder bile in patients with multiple cholesterol stones. *Gastroenterology* 112:2036-2047, 1997.
4. 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.
5. Juvonen T, Niemela J, Makela J, et al. Characteristics of symptomatic gallbladder disease in patients with either solitary or multiple cholesterol gallstones. *Hepatogastroenterology* 41:263-266, 1994.
6. 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.
7. Tomida S, Abei M, Yamaguchi T, et al. 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.
8. van Erpecum KJ, Portincasa P, Eckhardt E, et al. Ursodeoxycholic acid reduces protein levels and mucin-promoting activity in human gallbladder bile. *Gastroenterology* 110:1225-1237, 1996.
9. Matsuda Y, Ogawa M, Sakamoto K, et al.: Development of a radioimmunoassay of human group-II phospholipase A<sub>2</sub> and demonstration of postoperative elevation. *Enzyme* 45:200-208, 1991.