

内因性膵 Prostaglandin のイヌ膵 内外分泌に及ぼす影響

袖山 治嗣
信州大学医学部第2外科学教室
(主任: 飯田 太教授)

Effects of Endogenous Prostaglandins on Pancreatic Endocrine and Exocrine Secretion in the Dog

Harutsugu SODEYAMA
Department of Surgery, Shinshu University School of Medicine
(Director: Prof. Futoshi IIDA)

The effects of endogenous prostaglandins on pancreatic secretion were investigated, using the isolated and perfused canine pancreas. PGE₂ production was increased following stimulation by 5×10^{-11} , 10×10^{-11} and 20×10^{-11} mol of CCK-8. 6-keto-PGF_{1 α} production was increased following stimulation by 10×10^{-11} and 20×10^{-11} mol of CCK-8. Insulin and glucagon release were stimulated with 10×10^{-11} mol of CCK-8. Indomethacin pretreatment totally abolished endogenous prostaglandin production but failed to suppress the insulin and glucagon responses. On the other hand, the amylase response to CCK-8 administration was accelerated by indomethacin pretreatment. Pancreatic exocrine secretion was increased following 0.3 to 10×10^{-11} mol of CCK-8, but was not affected by indomethacin pretreatment. Pancreatic exocrine secretion and release of insulin and glucagon were not stimulated by 500ng of PGE₂ and PGI₂. From the above results, endogenous and exogenous prostaglandins do not play an important role in pancreatic endocrine and exocrine secretion, but might have a cytoprotective effect against acinar cell damage by CCK-8. *Shinshu Med. J.*, 39: 81-90, 1991
(Received for publication September 20, 1990)

Key words: prostaglandin, cholecystokinin, pancreatic endocrine secretion, pancreatic exocrine secretion, cytoprotective effect

プロスタグランジン, CCK, 膵内分泌, 膵外分泌, 細胞保護作用

I 緒 言

Prostaglandin (以下PG) は脂肪酸の誘導体であり, 種々の臓器, 組織で生産されることが知られているが, Hamamdžic と Malik¹⁾, Marshall ら²⁾³⁾により膵においても産生されることが明らかとなった。膵の内外分泌に関するPGの作用については幾多の研究が見られるが, 不明な点も多い。

すなわち, 外因性PGの膵内分泌に対する作用に関

しては, 多くの報告があり, 一般的にはインスリン分泌への影響はブドウ糖濃度に依存する⁴⁾⁵⁾とされているが, これと反対の報告^{6)~9)}もある。

また, 外因性PGの膵外分泌に対する作用に関しては, PGE₂やPGI₂は膵外分泌を抑制する^{10)~14)}, PGE₂やPGI₂は膵外分泌に影響を与えない^{15)~18)}, 逆に膵外分泌を亢進させる¹⁹⁾²⁰⁾など様々な報告がある。

以上のごとく, 外因性PGの膵内外分泌に関する研究は比較的多いが, 内因性PGに関しては研究方法の

困難さもあって、報告はきわめてまれである。

一方、コレシストキニン（以下CCK）は十二指腸や上部小腸より血中に放出されるポリペプチドであり、胆嚢を収縮させ、膵の内外分泌を刺激することが知られている²¹⁾²²⁾。今回、膵内因性PGの膵内分泌および外分泌に及ぼす影響を臓器単位で把握するため、遊離膵灌流モデルを用い、CCK投与下に以下の実験を行った。

II 対象および方法

A 対象および実験方法

体重10ないし15kgの雑種成犬を使用し、ソジウムペントバルビタール（30mg/kg）静脈麻酔下に開腹した。

まず、幽門輪を結紮し、胃液の十二指腸への流入を防止した上で、十二指腸に切開を加え、主膵管に外径1.4mm、内径0.8mmのポリエチレンチューブを挿入した。総胆管にも同様にチューブを挿入しドレナージを行い、胆汁の膵内外分泌への影響を除外した。ヘパリン（初回量500U/kg、維持量200U/kg/hr）使用下にHashimotoら²³⁾の方法の変法により、胃十二指腸動脈、脾動脈を介する膵への血流を温存しつつ膵を胃、十二指腸および脾より遊離した。また、膵と周囲組織との間を連絡する血管および神経はすべて結紮、切離した。胃十二指腸動脈、脾動脈は根部で結紮し、カニューレを挿入し、左大腿動脈とY字管で交通させた。実験中、動脈血の採取およびCCK-8の動脈内注入（以下、動注）はこの部から行った。脾静脈は根部で結紮し、膵十二指腸静脈と大腿静脈を交通させ、実験中、静脈血の採取はこの部から行った。動脈送血にはperistaltic pump (Harvard Apparatus, USA) を使用した。実験中の流入動脈血量は一定の約18ml/minとし、定流量灌流法により実験を行った（図1）。

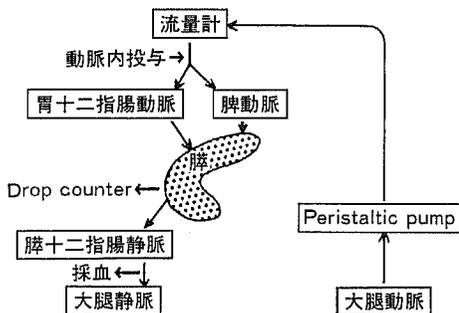


図1 遊離膵灌流実験モデル

実験1：まず、動脈血および静脈血を採取したのち、CCK-8の 5×10^{-11} mol, 10×10^{-11} mol, 20×10^{-11} mol生理食塩水溶液をそれぞれ動脈カテーテルから注入した。CCK-8動注後1, 3, 5および10分に静脈血を1分間分画採取し、 PGE_2 および PGI_2 (Prostacyclin)の安定代謝物である6-keto-PGF $_{1\alpha}$ の血中濃度を測定した。また、別の動物で、cyclooxygenase阻害剤²⁴⁾であるインドメサシン10mg/kgを末梢静脈からbolus injectionし、15分後に 10×10^{-11} molのCCK-8を動注した。前述と同様に採血し、 PGE_2 , 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ を測定した。以上の実験において各群7頭のイヌを使用した。

実験2： 10×10^{-11} molのCCK-8を動注し、実験1と同様に採血し、インスリンおよびグルカゴンを測定した。また、別の動物で、インドメサシン10mg/kgを末梢静脈から注射し、15分後からは前述と同様の実験を行った。以上の実験において各群7頭のイヌを使用した。

実験3：500ngの PGE_2 および PGI_2 をそれぞれ別個に動注し、実験1と同様に採血し、インスリンおよびグルカゴンを測定した。以上の実験において各群5頭のイヌを使用した。

実験4：実験2とまったく同じ方法で、 10×10^{-11} molのCCK-8刺激後ならびにインドメサシン前処置、CCK-8刺激後の静脈血中アミラーゼ値の測定を行った。また、別にインドメサシン単独投与群をもうけた。以上の実験において各群5頭のイヌを使用した。

実験5： 3×10^{-11} molのCCK-8および PGE_2 ならびに PGI_2 をそれぞれ500ng溶解した生理食塩水を別個に動注し、主膵管に挿入したチューブから排出される膵液量の変化をdrop counterで記録した。

実験6： 0.3×10^{-11} mol, 0.9×10^{-11} mol, 3×10^{-11} mol, 10×10^{-11} molのCCK-8をそれぞれ動注し、その直後から15分間に主膵管より排出される膵液を採取し、膵液量、膵液中のアミラーゼ値を測定し、膵液量とアミラーゼ値からアミラーゼ分泌量を算定した。また、インドメサシン10mg/kgを末梢静脈から注射し15分後に前述と同様の実験を行った。以上の実験において各群5頭のイヌを使用した。

実験1～6において合計58頭のイヌを使用した。

B 測定方法

血清中の PGE_2 , 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ はPowell²⁵⁾の方法で抽出し、ラジオイムノアッセイ法で測定した。ラジオイムノアッセイに使用した PGE_2 , 6-keto-PGF $_{1\alpha}$

およびその抗体は小野薬品（大阪）より提供をうけ、³Hで標識したPGE₂、6-keto-PGF_{1α}はNEN Reseach Products (Boston, USA) 製のものを使用した。

インスリンおよびグルカゴンの測定には、それぞれインシュリン・リアビーズ（ダイナボット、東京）およびグルカゴン・リアキット（ダイナボット、東京）を用いてラジオイムノアッセイ法で測定した。

血清および膵液中のアミラーゼ活性はCaraway²⁶⁾のヨードデンプン比色法を用いたアミラーゼキット（和光純薬、東京）で測定した。

なお、実験において動物に投与したCCK-8はベプチド研究所（大阪）から、インドメサシンはSigma社 (St. Louis, USA) から購入し、PGE₂およびPGL₂は小野薬品（大阪）から提供を受けた。

C 統計処置

測定値はすべて平均値±標準誤差で表示し、比較した。検定はStudent's t-testで行い、P<0.05を有意差ありとした。

III 結 果

実験1：CCK-8投与によるPGE₂および6-keto-PGF_{1α}の変化

CCK-8単独投与群ではCCK-8動注前の動、静脈血中のPGE₂値は表1に示すごとく、いずれの群においても動脈血よりも静脈血に有意（P<0.05）の高値を示し、3群の平均値は動脈血は116pg/ml、静脈血は430pg/mlであった。CCK-8、5×10⁻¹¹molの動注後には静脈血中PGE₂値は3分後に有意（P<0.05）の上昇を示した。CCK-8、10×10⁻¹¹mol、20×10⁻¹¹mol動注後にはPGE₂値は投与1分後より有意の上昇を示し、3分後に最高値となった。各時期のPGE₂値は投与したCCK-8の用量依存性に有意（P<0.01ないし0.05）の上昇を示した。

インドメサシン10mg/kg投与後、CCK-8投与前のPGE₂値は動静脈間で有意差はなく、また、静脈血PGE₂値はCCK-8単独投与群に比較し有意（P<0.05ないし0.01）の低値を示した。インドメサシン投与後CCK-8を10×10⁻¹¹mol投与してもPGE₂の増加はみられなかった（表1）。

6-keto-PGF_{1α}もPGE₂とほぼ同様の変化を示した。すなわち、表2に示すごとく、CCK-8単独投与群のCCK-8動注前の6-keto-PGF_{1α}値は、3群のいずれにおいても静脈血は動脈血より有意（P<0.05）が高く、3群の平均値は、動脈血の594pg/mlに対し、静脈血は1,575pg/mlであった。CCK-8、5×10⁻¹¹mol

表1 CCK-8動注によるPGE₂の変化およびインドメサシン前投与の影響

CCK-8投与量 (×10 ⁻¹¹ mol)	流入動脈血中PGE ₂ 値 (pg/ml)		膵十二指腸静脈血中PGE ₂ 値(pg/ml)			
	CCK-8投与前	CCK-8投与前	1分後	3分後	5分後	10分後
5	103±19	428±86	451±95	517±79	436±77	436±81
10	120±18	427±96	988±163 a	1,407±188 b	890±89 c	723±49 d
20	124±20	436±102	2,096±318	3,562±421	3,003±245	2,225±334
IND+10	110±15	123±20	104±16	102±22	98±16	90±14

各値は平均値±標準誤差、各群n=7、IND：インドメサシン10mg/kg

* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001

a : CCK-8、5×10⁻¹¹mol群および20×10⁻¹¹mol群の1分後値との間にそれぞれ有意差（P<0.05）あり

b : CCK-8、5×10⁻¹¹mol群および20×10⁻¹¹mol群の3分後値との間にそれぞれ有意差（P<0.01）あり

c : CCK-8、5×10⁻¹¹mol群および20×10⁻¹¹mol群の5分後値との間にそれぞれ有意差（P<0.01）あり

d : CCK-8、5×10⁻¹¹mol群および20×10⁻¹¹mol群の10分後値との間にそれぞれ有意差（P<0.01）あり

表2 CCK-8 動注による6-keto-PGF_{1α} の変化およびインドメサシン前投与の影響

CCK-8 投与量 ($\times 10^{-11}$ mol)	流入動脈血中6-keto-PGF _{1α} 値(pg/ml)		膵十二指腸静脈血中6-keto-PGF _{1α} 値(pg/ml)			
	CCK-8 投与前	CCK-8 投与前	1分後	3分後	5分後	10分後
5	580±98	1,495±326	1,602±247	1,473±225	1,491±334	1,572±279
10	642±104	1,596±404	3,023±491 a	3,564±476 b	4,009±385 c	2,894±496 d
20	560±107	1,633±269	3,960±575	6,049±653	6,367±480	4,728±426
IND+10	560±104	596±184	512±204	486±196	462±204	490±167

各値は平均値±標準誤差, 各群 n = 7, IND: インドメサシン10mg/kg,

* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001

a : CCK-8, 5×10^{-11} mol 群の1分後値との間に有意差(P<0.05)あり

b : CCK-8, 5×10^{-11} mol 群および 20×10^{-11} mol 群の3分後値との間にそれぞれ有意差(P<0.01および0.05)あり

c : CCK-8, 5×10^{-11} mol 群および 20×10^{-11} mol 群の5分後値との間にそれぞれ有意差(P<0.01)あり

d : CCK-8, 5×10^{-11} mol 群および 20×10^{-11} mol 群の10分後値との間にそれぞれ有意差(P<0.01)あり

表3 CCK-8 動注によるインスリンの変化およびインドメサシン前投与の影響

	流入動脈血中インスリン値(μ u/ml)		膵十二指腸静脈血中インスリン値(μ u/ml)			
	CCK-8 投与前	CCK-8 投与前	1分後	3分後	5分後	10分後
CCK-8	12.9±2.7	271±53	590±139	500±145	480±158	447±153
IND+CCK-8	13.4±2.6	254±33	560±176	445±110	408±72	372±65

各値は平均値±標準誤差, 各群 n = 5, CCK-8 : 10×10^{-11} mol, IND: インドメサシン10mg/kg, ** : P<0.01

動注後の静脈血中の6-keto-PGF_{1α} 値は有意の変化を示さなかったが, CCK-8, 10×10^{-11} mol, 20×10^{-11} mol 動注後の静脈血中6-keto-PGF_{1α} は1分後には有意 (P<0.05ないし0.01) の上昇を示し, 5分後に最高値となった。各時期の6-keto-PGF_{1α} 値は投与したCCK-8のほぼ用量依存性に有意 (P<0.05ないし0.01) の高値を示した。

インドメサシン10mg/kg 投与後, CCK-8 投与前の6-keto-PGF_{1α} 値は動脈静脈間で有意差はなく, また, 静脈血6-keto-PGF_{1α} 値はCCK-8 単独投与群に比較して有意 (P<0.01) 低値を示した。インドメサシン投与後CCK-8を 10×10^{-11} mol 投与した群でも6-keto-PGF_{1α} の増加は見られず, 各時期における6-keto-PGF_{1α} 値はCCK-8 単独投与群に比較し有意

(P<0.05ないし0.01) に低値を示した。インドメサシン10mg/kg を末梢静脈から bolus injection すると内因性PGの合成を25分間は阻害することが明らかとなった。

実験2: CCK-8 投与によるインスリン, グルカゴンの変化

CCK-8 単独投与群のCCK-8 動注前のインスリン値は, 表3のごとく, 静脈血値は動脈血値と比較して有意 (P<0.01) に高値であった。CCK-8, 10×10^{-11} mol 動注後, 静脈血インスリン値は上昇し, 1分後に最高値となったが, 投与前値との間に有意差はみられなかった。インスリン値はその後徐々に低下したが, 10分後にも投与前値に復さなかった。インドメサシン10mg/kg 投与後, CCK-8 投与前のインスリン値は

表4 CCK-8 動注によるグルカゴンの変化およびインドメサシン前投与の影響

	流入動脈血中グルカゴン値($\mu\text{u/ml}$)		膵十二指腸静脈血中グルカゴン値($\mu\text{u/ml}$)			
	CCK-8 投与前	CCK-8 投与後	1分後	3分後	5分後	10分後
CCK-8	132 \pm 15	571 \pm 89	1,148 \pm 183	823 \pm 197	712 \pm 157	679 \pm 115
IND+CCK-8	132 \pm 16	604 \pm 109	1,101 \pm 180	808 \pm 161	680 \pm 129	568 \pm 82

各値は平均値 \pm 標準誤差, 各群 n = 5, CCK-8: 10×10^{-11} mol, IND: インドメサシン 10mg/kg

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$

表5 PGE₂ および PGI₂ 動注によるインスリンの変化

	流入動脈血中インスリン値($\mu\text{u/ml}$)		膵十二指腸静脈血中インスリン値($\mu\text{u/ml}$)			
	PG 投与前	PG 投与後	1分後	3分後	5分後	10分後
PGE ₂ 500ng	21.6 \pm 5.4	494 \pm 59	405 \pm 80	444 \pm 91	441 \pm 107	466 \pm 90
PGI ₂ 500ng	27.9 \pm 3.8	592 \pm 110	420 \pm 61	486 \pm 66	471 \pm 97	531 \pm 78

各値は平均値 \pm 標準誤差, 各群 n = 5

** : $P < 0.01$

表6 PGE₂ および PGI₂ 動注によるグルカゴンの変化

	流入動脈血中グルカゴン値($\mu\text{u/ml}$)		膵十二指腸静脈血中グルカゴン値($\mu\text{u/ml}$)			
	PG 投与前	PG 投与後	1分後	3分後	5分後	10分後
PGE ₂ 500ng	86 \pm 20	539 \pm 92	494 \pm 61	499 \pm 102	606 \pm 141	584 \pm 142
PGI ₂ 500ng	146 \pm 21	949 \pm 224	1,158 \pm 347	1,225 \pm 271	859 \pm 167	879 \pm 147

各値は平均値 \pm 標準誤差, 各群 n = 5

* : $P < 0.05$

CCK-8 単独投与群のインスリン値とほぼ同様の値を示し、動脈血値と静脈血値との間には有意差 ($P < 0.01$) が認められた。インドメサシン投与後 CCK-8, 10×10^{-11} mol 動注した場合の静脈血中インスリン値は CCK-8 単独投与群と同様、1分後に最高値を示し、その後徐々に低下したが、いずれの時期のインスリン値も CCK-8 単独投与群との間に有意差を認めなかった (表3)。

CCK-8 単独投与群の CCK-8 の動注前のグルカゴン値は表4のごとく、静脈血値は動脈血値に比較して有意 ($P < 0.01$) に高値であった。CCK-8, 10×10^{-11} mol 動注後、静脈血グルカゴン値は上昇し、1分後に最高となり、CCK-8 投与前値との間に有意差 ($P < 0.01$) を認めた。グルカゴン値はその後低下したが、10分後にも投与前値に復さなかった。また、インドメサシン 10mg/kg 投与後、CCK-8 投与前のグルカゴン

値は CCK-8 単独投与群とほぼ同様の値を示し、かつ、動静脈間には有意差 ($P < 0.05$) が認められた。インドメサシン投与後、CCK-8, 10×10^{-11} mol 動注後の静脈血中グルカゴン値は CCK-8 単独投与群とほぼ同様の値を示した (表4)。

以上、実験1および2の成績から動脈血中 PGE₂ および 6-keto-PGF_{1 α} 値は CCK-8 投与により上昇するが、これはインドメサシン前投与により抑制されること、一方、インスリンおよびグルカゴン値も CCK-8 投与により上昇するが、インドメサシン前投与により抑制されないことが明らかとなった。

実験3: PGE₂ および PGI₂ 投与によるインスリン、グルカゴンの変化

表5のごとく、PGE₂ および PGI₂, 500ng 動注前の静脈血インスリン値は、動脈血インスリン値に比較して有意 ($P < 0.01$) に高値を示した。しかし、PGE₂

表7 CCK-8 動注によるアミラーゼの変化およびインドメサシン前投与の影響

	流入動脈血中アミラーゼ値(μu/ml)		膵十二指腸静脈血中アミラーゼ値(μu/ml)			
	CCK-8 投与前	CCK-8 投与前	1分後	3分後	5分後	10分後
CCK-8	1,108±175	1,255±268	2,437±610	4,504±1,300 a	3,571±898 b	3,418±853
IND+CCK-8	1,376±229	1,321±256	2,630±637	7,393±1,055	6,405±367	5,946±942
IND	882±233	1,264±244	1,288±316	1,297±227	1,419±287	1,437±390

各値は平均値±標準誤差, 各群 n=5, CCK-8: 10×10⁻¹¹mol, IND: インドメサシン10mg/kg

** : P<0.01, *** : P<0.001

a : IND+CCK-8 群の 3 分後値との間に有意差 (P<0.05) あり

b : IND+CCK-8 群の 5 分後値との間に有意差 (P<0.05) あり

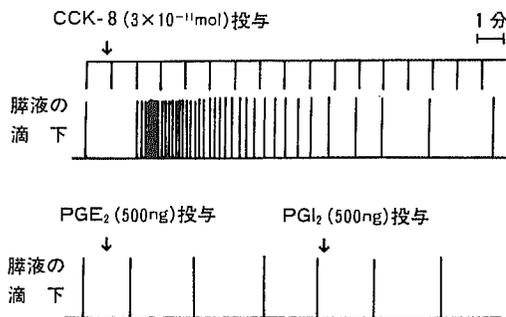


図2 CCK-8 (3×10⁻¹¹mol), PGE₂ (500ng), PGI₂ (500ng) 動脈投与による膵液産生量の経時的变化 (Drop counter を用いて記録)

および PGI₂ 動注後の静脈血インスリン値は変化を示さなかった。

表6のごとく, PGE₂ および PGI₂, 500ng 動注前の静脈血グルカゴン値は, 動脈血グルカゴン値に比較して有意 (P<0.05) に高値を示した。しかし, PGE₂ および PGI₂ 動注後の静脈血中グルカゴン値は変化を示さなかった。

以上の実験から, PGE₂ および PGI₂ 投与によっても静脈血中インスリンおよびグルカゴン値は上昇しないことが明らかとなった。なお, この実験中に血糖値の測定は行わなかった。

実験4: CCK-8 投与による静脈血アミラーゼの変化

CCK-8 単独投与群の CCK-8 動注前のアミラーゼ値

表8 CCK-8 動注およびインドメサシン前投与による膵液量およびアミラーゼ分泌量

CCK-8 投与量 (×10 ⁻¹¹ mol)	膵液量(μl/15分)		アミラーゼ分泌量(U/15分)	
	IND(-)	IND(+)	IND(-)	IND(+)
0	80±11		248±34	
0.3	150±27	162±28	297±59	246±58
0.9	360±62 a	342±58 b	1,812±450 c	1,604±540 d
3	712±136	666±87	9,332±1,058	8,420±1,443
10	852±224	755±140	10,472±1,820	9,362±2,040

各値は平均値±標準誤差, 各群 n=5

IND (-): インドメサシン非投与 (CCK-8 単独投与群)

IND (+): インドメサシン10mg/kg 投与後 CCK-8 投与群

a : CCK-8, 0.3×10⁻¹¹mol 群の IND (-) との間に有意差 (P<0.05) あり

b : CCK-8, 0.3×10⁻¹¹mol 群および 3×10⁻¹¹mol 群の IND (+) との間に有意差 (P<0.05) あり

c : CCK-8, 0.3×10⁻¹¹mol 群および 3×10⁻¹¹mol 群の IND (-) との間に有意差 (P<0.05および0.01) あり

d : CCK-8, 3×10⁻¹¹mol 群の IND (+) との間に有意差 (P<0.01) あり

は表7のごとく、動静脈間で有意差はみられなかった。CCK-8、 10×10^{-11} mol 投与後静脈血アミラーゼは上昇し、3分後で最高値を示したが、CCK-8投与前値との間に有意差は認められなかった。インドメサシン10mg/kg投与後、CCK-8投与前のアミラーゼ値はCCK-8単独投与群とほぼ同様の値を示し、かつ、動静脈間で有意差はみられなかった。CCK-8、 10×10^{-11} mol 動注後は静脈血アミラーゼ値は上昇し、3分後で最高値 ($P < 0.01$) を示し、以後低下したが、10分後にも有意 ($P < 0.01$) の高値を示した。インドメサシン単独投与群ではアミラーゼ値の有意の上昇はみられなかった(表7)。

以上の成績から、インドメサシン単独投与では、静脈血中アミラーゼ値に影響を与えないが、これをCCK-8に先だてて投与すると、CCK-8単独投与によるアミラーゼ上昇作用をより顕著にすることが明らかとなった。

実験5：CCK-8、 PGE_2 、 PGI_2 投与による膵液分泌量の変化

CCK-8、 3×10^{-11} mol、 PGE_2 500ng、 PGI_2 500ngの動注後の膵液量の経時的变化をdrop counterを用いて記録した典型例を図2に示した。図の上段に示すごとく、CCK-8動注1分後から膵液量が増加しはじめ、2~3分後に最高となり、その後徐々に減少し、15分後にはCCK-8投与前とほぼ同様の膵液量となった。また、図2下段に PGE_2 500ng動注およびその10分後に PGI_2 500ngを動注した場合の典型例を示した。 PGE_2 および PGI_2 動注による膵液量の変化は見られなかった。

実験6：CCK-8投与による膵液およびアミラーゼ分泌量の変化

CCK-8動注前の膵液量は表8に示すごとく、 $80 \pm 11 \mu l/15$ 分であり、またアミラーゼ分泌量は $248 \pm 34 U/15$ 分であった。

CCK-8、 0.3×10^{-11} mol、 0.9×10^{-11} mol、 3×10^{-11} mol、 10×10^{-11} molの動注により、膵液量、アミラーゼ分泌量のいずれも増加した。CCK-8、 0.3×10^{-11} mol、 0.9×10^{-11} mol、 3×10^{-11} molまではCCK-8の用量依存的に膵液量、アミラーゼ分泌量の増加が見られたが、CCK-8、 3×10^{-11} molと 10×10^{-11} molとの間には有意の増加はみられなかった。

インドメサシン10mg/kg投与後CCK-8の動注群では膵液量、アミラーゼ分泌量のいずれにおいてもCCK-8単独投与群との間に有意差を認めなかった

(表8)。

以上の実験から、CCK-8投与後15分間の膵液量、アミラーゼ分泌量はCCK-8の 3×10^{-11} molまでは用量依存的増加を示し、インドメサシン前投与はこれらの膵外分泌に影響を与えなかった。

IV 考 察

CCKは、セクレチン、Gastric releasing peptide (GRP)、Vasoactive intestinal peptide (VIP)と類型の膵外分泌亢進作用の他に、膵内分泌亢進作用も有することが報告されている²¹⁾²²⁾。

また、膵組織でPGが産生され、CCKが膵のPG産生を亢進させることは、ラット膵組織を用いた培養実験²⁷⁾や、マウスの膵組織の培養液中に放射性同位元素でラベルしたアラキドン酸を添加し、セルレイン(CCK)で刺激すると放射能を持つ PGE_2 が産生されるという実験³⁾で明らかにされている。

本研究はHashimotoら²³⁾の方法の変法で作成した遊離膵灌流モデルを用いて実験を行い、従来の報告³⁾²⁷⁾と同様にCCK-8の動注により膵より流出する静脈血中の PGE_2 、6-keto- $PGF_{1\alpha}$ 値がCCK-8の用量依存性に上昇することを明らかにした。

また、CCK-8動注により誘発された PGE_2 および6-keto- $PGF_{1\alpha}$ の産生は10mg/kgのインドメサシン前投与により完全に抑制された。インドメサシンはアスピリンなどと同様、アラキドン酸から PGE_2 、 PGI_2 などの前駆物質である PGG_2 が合成される過程で作用する酵素であるcyclooxygenase活性を阻害してPG産生を抑制する²⁴⁾ことが知られている。

一方、CCK-8刺激により、インスリンおよびグルカゴンも上昇ないし上昇傾向を示したが、これはインドメサシン前投与により著しい変化を示さなかった。これらの成績から内因性PGは膵のインスリン、グルカゴン産生に関与していないと考えられる。さらに、CCK-8動注後の静脈血中のインスリン値およびグルカゴン値がCCK-8投与1分後に最高値を示したのに対し、 PGE_2 は3分後、6-keto- $PGF_{1\alpha}$ は5分後に最高値を示したこともこの考えを支持する成績である。

以上はインドメサシンのPG抑制作用を利用して、内因性PGの膵内分泌に及ぼす影響を明らかにしたものであるが、このような研究は著者が調査した限りではみられない。しかし、外因性PGの膵内分泌に対する作用に関しては多くの研究がある。Johnsonら⁹⁾はラットのランゲルハンス島を用いた実験で外因性

PGE₁, PGE₂, PGF_{2α} は高濃度のグルコース存在下ではインスリン分泌を亢進させ、低濃度のグルコース存在下ではインスリン分泌に影響しないことを報告している。また Pekら⁹⁾はラットの遊離膵灌流モデルを用い外因性 PGE₁, PGE₂, PGF_{2α} はグルコースの存在しない時にはグルカゴン分泌を亢進させるがインスリン分泌には影響を与えないと報告した。これらの研究により P G のインスリン、グルカゴン分泌に対する作用はグルコース濃度に依存することが一般に認められている。しかし、一方では、PGE₂ の静注は妊婦の血清インスリン値を変化させないとの報告¹⁰⁾もあり、さらに、糖負荷試験におけるインスリン分泌に対しては PGE₁, PGE₂ の静注⁷⁾および PGE₂ 誘導体の経口投与⁸⁾は抑制的に作用するとの報告もある。さらに、過去の研究論文を検討し、PGE の血糖値の恒常性の保持に対する作用と、糖負荷によるインスリン分泌に対する作用は相反すると結論づけている報告⁹⁾もある。

本研究においても外因性 P G の膵内分泌に対する作用を確認するための実験を行った。その結果、PGE₂ および PGI₂ の動注により膵より流出する静脈血中のインスリン、グルカゴン値には明らかな変動はみられないという成績が得られた。Homma と Malik¹⁵⁾ はイヌの遊離膵灌流モデルを使用した実験で 30~100ng/kg の PGE₂ および PGI₂ の動注により用量依存性に膵血管は拡張し、血流量は増加したと報告している。今回著者が実験に用いた 500ng の PGE₂ および PGI₂ は Homma らのいう膵血管拡張作用および膵血流増加作用を示す量に相当すると考えられる。また、今回の検討における遊離膵灌流実験では、血糖値の測定は行わなかったが、血糖に関しては正常条件での実験であり、このことは他の実験犬で確認されている。以上の実験結果から、内因性 P G のみならず、外因性 P G も膵内分泌に影響を与えていないと言わざるを得ない。

つぎに、CCK-8 刺激により誘発される静脈血アミラーゼの上昇について述べる。膵内分泌に関する実験において膵内分泌を促進することが明らかにされた CCK-8, 10×10⁻¹¹mol を投与して静脈血中アミラーゼ値の変化をみた。その結果、アミラーゼ値は CCK-8 動注後 3 分で最高値を示したが、投与前値との間に有意差はみられず、また、インドメサシン前投与後、CCK-8 を動注した実験では血中アミラーゼ値の上昇はより顕著となり、有意の高値を示した。この成績は、インドメサシン単独投与では血中アミラーゼの上昇がみられないという事実と併せ考え、インドメサシンに

より内因性 P G 産生が抑制された結果、P G の細胞保護作用が低下し、CCK-8 の膵腺細胞障害が増強されたものと考えられる。CCK-8 の膵細胞障害については膵炎との関係で注目を浴び、検討されている。すなわち、ラットやマウスに作成した急性膵炎において CCK の合成アナログであるセルレインを極少量投与したり²⁸⁾²⁹⁾、少量の CCK-8 を投与する³⁰⁾と膵炎が増悪し、死亡率も上昇するとの報告がみられる。さらに、CCK 受容体の拮抗剤である proglumide の投与は重篤な急性膵炎に有効であると報告³⁰⁾されており、proglumide の誘導体としてより強力な CCK 拮抗作用を有する CR1409³¹⁾なども研究開発されている。CCK は急性膵炎の病態進展に重要な役割を演じているといえる。

また、Scheele ら³²⁾により、過剰な CCK 刺激は膵外分泌を抑制し血中のアミラーゼ値を上昇させ、電顕上形態学的な変化もあらわれることが証明されている。つまり、CCK の過剰刺激は膵腺細胞障害をひきおこし、膵十二指腸静脈血中のアミラーゼ値がその指標となる³³⁾と考えられている。さて、本実験において用いた CCK-8, 10×10⁻¹¹mol が犬の遊離灌流膵にとって過量か否かという問題が残るがこれについては後に触れる。

この実験モデルでは CCK-8, 10×10⁻¹¹mol は膵細胞障害をひきおこすと考えられるので、より少量の CCK-8 を投与して膵外分泌機能を検討した。その結果、CCK-8, 0.3×10⁻¹¹mol 動注ですでに膵液量ならびにアミラーゼ分泌量は増加し、以後 3×10⁻¹¹mol までは用量依存的に増加したが、3×10⁻¹¹mol と 10×10⁻¹¹mol との間には有意差はみられなかった。また、インドメサシン前投与後 CCK-8 投与群では、膵液量、アミラーゼ分泌量のいずれも CCK-8 単独投与群とはほぼ同様の値を示した。以上の結果から、内因性 P G は膵外分泌に対して重要な影響を与えていないと考えられた。また、CCK-8 を 3×10⁻¹¹mol から 10×10⁻¹¹mol へ増量しても膵外分泌の亢進は軽度であったことから、CCK-8, 10×10⁻¹¹mol は犬の遊離灌流膵にとって過剰刺激であることが示唆され、膵腺細胞障害を招来する量であると考えられた。

外因性 P G の膵外分泌に関する作用に関しても多数の報告がある。PGE₁, PGE₂, PGI₂ は膵外分泌を抑制すると主張する者¹⁰⁾⁻¹⁴⁾や、PGE₂ や PGI₂ は膵外分泌に影響を与えないとする者¹⁵⁾⁻¹⁸⁾、逆に膵外分泌を亢進させるという報告¹⁹⁾²⁰⁾がある。外因性 P G の膵外分泌に関する実験結果を比較する場合には動物種族の差、

実験方法の相違などに留意しなくてはならない。また、膵外分泌は膵血液量と関連つけて考える必要がある。Homma と Malik¹⁵⁾はイヌの遊離灌流膵を使用し、30~300ng/kg の PGE₂、PGI₂動注は膵血流量を増加させ、膵液分泌量を増加させる傾向にあると報告している。今回、PGE₂および PGI₂の動注量を500ng とし実験を行ったが、PG動注による膵液量の増加を認めなかった。本研究における灌流法は定流量灌流であり、Homma と Malik¹⁵⁾の pneumatic resistance を用いた定圧灌流法とは実験条件に差がある。このような実験条件の差が成績の差に関係していると考えられる。

今回の検討により、内因性PGはCCK-8による膵腺細胞障害に対し保護的作用を有することが示唆され

た。今後はこれに対する形態学的検討が必要と考えられる。

V ま と め

遊離膵灌流実験モデルを使用し、内因性PGの作用を検討した。その結果、膵内因性PGE₂、PGI₂は膵の内分泌および外分泌の調節には重要な役割を果たしていないが、CCK-8による膵腺細胞障害に対して保護的作用を有すると考えられた。

本論文の要旨は、第74回日本消化器病学会総会(昭和63年3月、仙台)において発表した。

文 献

- 1) Hamamdžić, M. and Malik, K. U. : Prostaglandins in adrenergic transmission of isolated perfused rat pancreas. *Am J Physiol*, 232 : E201-E209, 1977
- 2) Marshall, P. J., Dixon, J. F. and Hokin, L. E. : Evidence for a role in stimulus-secretion coupling of prostaglandins derived from release of arachidonoyl residues as a result of phosphatidylinositol breakdown. *Proc Natl Acad Sci USA*, 77 : 3292-3296, 1980
- 3) Marshall, P. J., Boatman, D. E. and Hokin, L. E. : Direct demonstration of the formation of prostaglandin E₂ due to phosphatidylinositol breakdown associated with stimulation of enzyme secretion in the pancreas. *J Biol Chem*, 256 : 844-847, 1981
- 4) Johnson, D. G., Fujimoto, W. Y. and Williams, R. H. : Enhanced release of insulin by prostaglandins in isolated pancreatic islets. *Diabetes*, 22 : 658-663, 1973
- 5) Pek, S., Tai, T. and Elster, A. : Stimulatory effects of prostaglandins E-1, E-2, and F-2-alpha on glucagon and insulin release *in vitro*. *Diabetes*, 27 : 801-809, 1978
- 6) Spellacy, W. N., Buhí, W. C. and Holsinger, K. K. : The effect of prostaglandin F_{2α} and E₂ on blood glucose and plasma insulin levels during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 111 : 239-243, 1971
- 7) Robertson, R. P. and Chen, M. : A role for prostaglandin E in defective insulin secretion and carbohydrate intolerance in diabetes mellitus. *J Clin Invest*, 60 : 747-753, 1977
- 8) Konturek, S. L., Mikos, E. M., Krol, R., Wierzbicki, Z. and Dobrzanska, M. : Effect of methylated prostaglandin E₂ analogue on insulin secretion in man. *Prostaglandins*, 15 : 591-602, 1978
- 9) Robertson, R. P. : Hypothesis PGE, carbohydrate homeostasis, and insulin secretion, a suggested resolution of the controversy. *Diabetes*, 32 : 231-234, 1983
- 10) Rudick, J., Gonda, M., Dreiling, D. A. and Janowitz, H. D. : Effects of prostaglandin E₁ on pancreatic exocrine function. *Gastroenterology*, 60 : 272-278, 1971
- 11) Bourry, J., Demol, P. and Sarles, H. : Interaction de la dimethyl prostaglandine E₂ et de l'ethanol sur la secretion pancreatique du rat. *Can J Physiol Pharmacol*, 57 : 152-156, 1979
- 12) Iwatsuki, K. and Chiba, S. : Effects of prostacyclin and prostaglandin E₂ on the secretion of pancreatic juice in the dog. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 9 : 495-498, 1982
- 13) Rosenberg, V., Biezunski, D., Gonda, M., Dreiling, D. A., Rudick, J. and Robert, A. : Influence of a synthetic prostaglandin analog on pancreatic secretion. *Surgery*, 79 : 509-514, 1976
- 14) Konturek, S. J., Tasler, J., Jaworek, J., Cieszkowski, M. and Pawlik, W. : Prostacyclin inhibits pancre-

- atic secretion. *Am J Physiol*, 238 : G531-G536, 1980
- 15) Homma, T. and Malik, K. U. : Effect of prostaglandins on pancreatic circulation in anesthetized dog. *J Pharmacol Exp Ther*, 222 : 623-628, 1982
 - 16) Homma, T. and Malik, K. U. : Effect of secretin and caerulein in canine pancreas : relation to prostaglandins. *Am J Physiol*, 244 : G660-G667, 1983
 - 17) Chauvelot, L., Heisler, S., Huot, J. and Gagon, D. : Prostaglandins and enzyme secretion from dispersed rat pancreas acinar cells. *Life Sci*, 25 : 913-920, 1979
 - 18) Heisler, S. : Effect of various prostaglandins and serotonin on protein secretion from rat exocrine pancreas. *Experientia*, 29 : 1234-1235, 1973
 - 19) Case, R. M. and Scratcherd, T. : Prostaglandin action on pancreatic blood flow and on electrolyte and enzyme secretion by exocrine pancreas *in vivo* and *in vitro*. *J Physiol (Lond)*, 226 : 393-405, 1972
 - 20) Gabryelewicz, A., Szalaj, W., Kinalska, I., Stasiewicz, J. and Langiewicz, J. : The effect of prostaglandin E₁ on exocrine pancreatic secretion (*in vivo* and *in vitro*). *Pol J Pharmacol Pharm*, 26 : 263-267, 1974
 - 21) Serrano-Rios, M., Hawkins, F. G., Escobar-Jimenez, F. and Rodriguez-Minon, J. L. : The effect of aminophylline on insulin release induced by secretin and cholecystokinin-pancreozymin in normal humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 38 : 194-199, 1974
 - 22) Rehfeld, J. F., Larsson, L. I., Goltermann, N. R., Schwartz, T. W., Holst, J. J., Jensen, S. L. and Morley, J. S. : Neural regulation of pancreatic hormone secretion by the C-terminal tetrapeptide of CCK. *Nature*, 284 : 33-38, 1980
 - 23) Hashimoto, K., Satoh, S. and Takeuchi, O. : Effect of dopamine on pancreatic secretion in the dog. *Br J Pharmacol*, 43 : 739-746, 1971
 - 24) Vane, L. R. : Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature*, 231 : 232-235, 1971
 - 25) Powell, W. S. : Rapid extraction of oxygenated metabolites of arachidonic acid from biological samples using octadecylsilyl silica. *Prostaglandins*, 20 : 947-957, 1980
 - 26) Caraway, W. T. : A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids. *Am J Clin Pathol*, 32 : 97-99, 1959
 - 27) Bauduin, H., Galand, N. and Boeynaems, J. M. : *In vitro* stimulation of prostaglandin synthesis in the rat pancreas by carbamylcholine, caerulein and secretin. *Prostaglandins*, 22 : 35-51, 1981
 - 28) Evander, A., Ihse, I. and Lundquist, I. : Influence of hormonal stimulation by caerulein on acute experimental pancreatitis in the rat. *Eur Surg Res*, 13 : 257-268, 1981
 - 29) Evander, A., Lundquist, I. and Ihse, I. : Influence of gastrointestinal hormones on the course of acute experimental pancreatitis. *Hepatogastroenterology*, 29 : 161-166, 1982
 - 30) Niederau, C., Liddle, R. A., Ferrel, L. D. and Grendell, J. H. : Beneficial effects of cholecystokinin-receptor blockade and inhibition of proteolytic enzyme activity in experimental acute hemorrhagic pancreatitis in mice. *J Clin Invest*, 78 : 1056-1063, 1986
 - 31) Makovec, F., Bani, M., Cereda, R., Chiste, R., Revel, L., Rovati, L. C., Setnikar, I. and Rovati, L. A. : Protective effect of CR 1409 (cholecystokinin antagonist) on experimental pancreatitis in rats and mice. *Peptides (Fayetteville)*, 7 : 1159-1164, 1986
 - 32) Scheele, G., Adler, G. and Kern, H. : Exocytosis occurs at the lateral plasma membrane of the pancreatic acinar cell during supramaximal secretagogue stimulation. *Gastroenterology*, 92 : 345-353, 1987
 - 33) Levitt, M. D. and Eckfeldt, J. H. : Diagnosis of acute pancreatitis. In: Go, V. L. W., Gardner, J. D., Brooks, F. P., Lebenthal, E., Dimango, E. P. and Scheele, G. A. (eds.), *The exocrine pancreas : Biology, pathology and diseases*, pp. 481-502, Raven Press, New York, 1986

(2. 9. 20 受稿)