

原 著

慢性膵障害に関する実験的研究

西 沢 一 好

信州大学医学部第二内科学教室 (主任: 小田正幸教授)

EXPERIMENTAL STUDIES ON CHRONIC PANCREATIC INJURY

Kazuyoshi NISHIZAWA

Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,
Shinshu University
(Director: Prof. Masayuki ODA)

Key words: 慢性膵炎 (chronic pancreatitis), アジュバント (adjuvant),
セクレチン (secretin), 抗膵抗体 (pancreatic antibodies)

I 緒 言

慢性膵炎はその定義が統一されておらず, 病因, 病型および診断基準などの面でも国や学者により若干の見解の相違がみられるのが現状である。1963年 Marseilles のシンポジウム¹⁾で慢性膵炎組織学的基準が示され, またわが国においては, 昭和46年の日本膵臓病研究会で臨床的診断基準試案²⁾が示されて, 次第にその概念が明確になって来ているが, 特にその成因に関してはまだ不明な点が多いと云わざるを得ない。したがって, この方面でさらに検討されるべき余地が残されている。

実験的にヒトに類似の慢性膵炎が実証されるならば, その方面での研究は一段と進歩し病態生理から診断学にいたるまで大いに役立つはずである。

私は, 上述の点に関して実験的に追求する目的でまず, 膵管内圧の上昇, 膵組織の一部の壊死, 膵管あるいは血管のねじれに相当する処置を単独あるいは組合せにおいて試み, さらに膵細胞の変性, 壊死を機転として免疫学的機構が本症の成因に関与する可能性を考え, 主にこゝに重点をおいて以下の実験をおこなった。

II 実験材料および方法

A 実験 I

雑種成犬 (体重10~15kg) を用い表1のような実験

群にし, 各群5頭とした。麻酔はミンタール (Pentobarbital sodium, 田辺) を25mg/kg静注し, 実験期間は40日とし, 手術を要するものは術後の回復期約1週間をおいて, その後40日とした。開腹手術は可及的無菌的におこなった。

(1) 膵管不完全閉塞は内径0.8mmのビニール管を主膵管に挿入し, 十二指腸漿膜側で主膵管の外から2ヶ所で結紮して作製した (図1)。

(2) Secretin (エーザイ) は1単位/kg, 週2回, 皮下へ注射した。

(3) Lecithin (和光) は Owolecithin を用い少量の tween 80 (和光) を加えて生食水に溶解 (1%) し, その1mlを膵管内にゆっくり注入した。しかし, 注入圧は測定しなかった。

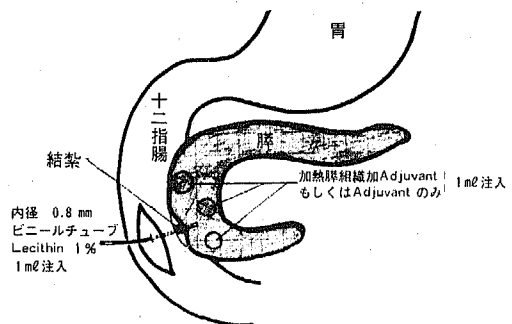


図1 手術術式

表 1 実験 I 処 置 群

I	a. 臍管不完全閉そく
	b. 臍管不完全閉そく + セクレチン注射
	c. 臍管不完全閉そく + レンチン注入
II	a. 臍組織一部 III° 火傷
	b. 臍火傷 + Freund's Adjuvant 腎筋内注射
	c. 変性臍組織加 Adj. 腎筋内注射
III	a. Fr. Adj. 臍内注入
	b. 変性臍組織加 Adj. 臍内注入
	c. 流パラ臍内注入
	d. 臍切断; 臍尾 Adj. 注入
IV	a. 臍管不完全閉そく + リンパ液注入
	b. リンパ液臍内注入
	c. リンパ液 + 流パラ臍内注入
	d. リンパ液上清 + 流パラ臍内注入
	e. 沈 渣 (リンパ球) + 生食水 + 流パラ臍内注入

(4) 臍の火傷は電気メスを用いた。Freund's adjuvant (Difco Laboratories) は 1ml を週 1 回腎筋内に注射した。

(5) 変性臍組織は、正常犬臍を摘出後たぐちに臍重量 1g に 10ml の生食水でホモジネートし、4,000 r. p. m., 15 分間冷凍遠沈後、臍組織酵素を非活化すると同時に加熱変性させるために 60°C, 30 分間処理し生食水と 1:1 で混合した。さらに、変性臍組織と Freund's adjuvant を等量に加えたもの 1ml を腎筋内に注射した。

(6) 臍内直接注入には図 1 に示したごとく、Freund's adjuvant, 流パラ, 変性臍組織と Freund's adjuvant を等量に混じったもの、乳糜をそれぞれ 1ml を 3 ケ所に分けて直接注入した。

(7) 臍切断の実験には電気メスを用いて、臍体部で 2 分した。このときそれぞれの部分に Freund's adjuvant 0.5ml を注入して腹部を閉じた。

(8) リンパ液 (乳糜) は、脂肪、蛋白の豊富な食餌を与えて 1 時間後に胸管より採取したぐちに実験に用いた。流パラとは 1:1 に混合してけんだく液としてから 1ml を 3 ケ所に分けて臍内に注入した。

(9) 乳糜にヘパリンを加え、3,000 r. p. m., 30 分遠沈し、上清と沈渣とに分離し、上清は流動パラフィンと等量に混和し、1ml を同様に臍内に直接注入、また沈渣は生食水で 3 回洗いリンパ球のみと考えられるものと流パラと等量に混和し、その 1ml を臍内に注入した。

B 実験 II

体重 (処置開始時) 約 120g の雄性ウイスター系ラットを用い表 2 のような実験群に分けた。各群 6~12 匹とし、実験期間は処置開始後 40 日とした。

(1) dl-ethionine (Nakarai Chemical) は内藤³⁾にならい 0.001M 苛性アルカリ溶液に 1ml 中エチオニン 20mg の割合に溶解し、少量の 3% 塩酸で PH 6.7~7.0 に調整したものを使用した。

使用時 30°C に加温し、75mg/体重 100g を腹腔内に隔日に 3 回注射した。

(2) エチオニン 3 回投与後 Freund's adjuvant を背皮下に 1ml, 週 1 回, 3 週間注射した。

(3) 臍ホモジネートの作製は、臍摘出後たぐちに臍重量 1g に 10ml の生食水でホモジネートし、ガーゼで粗な成分をこした。また貯蔵は -20°C に凍結貯蔵した。

(4) 腹水および肺炎臍組織は、Munoz⁴⁾の報告のごとく著者の実験中、すなわち Freund's adjuvant を腹腔内に注射する経過中に貯留した腹水を使用した。また肺炎臍ホモジネートは腹水を生じたラットの臍臓より作製した。彼の報告では、マウスの腹腔内に Freund's adjuvant を添加した抗原 1mg 宛 2 週間の間隔で注射すると、2~3 週を経て腹水を見、この腹水は動物を殺すことなしに注射器で吸引しうるといふ、かなりの抗体を含む腹水を得ることができるとした。

(5) Freund's adjuvant, 流動パラフィン, 臍ホモジネート, 腹水はそれぞれ体重 100g 当り 0.2ml を、

表 2 実験 II 処 置 群

a. エチオニン腹腔注入
b. Freund's Adjuvant 腹腔注入
c. 流動パラフィン腹腔注入
d. 正常臍ホモジネート腹腔注入
e. 肺炎臍ホモジネート腹腔注入
f. 腹水腹腔注入
g. 正常臍ホモジネート + 流パラ腹腔注入
h. 肺炎臍ホモジネート + 流パラ腹腔注入
i. 腹水 + 流パラ腹腔注入
j. エチオニン肺炎 + Adj. 背部皮下注射

また流バラとホモジネートを等量に混合した場合は体重100g 当り 0.4ml を腹腔に週2回、3週間注射し、その後3週間放置して頸椎を切断して殺した。

C その他

(1) 膵管造影; Vater 乳頭よりビニール管を挿入し、膵摘出前には60%ウログラフィン(シエーリング), 摘出後には硫バリゾルR(丸石)を稀釈して注入した。

(2) 血管造影; 硫バリゾルR 100ml にウログラフィン2ml を添加, 膵摘出前に腹部大動脈より注入して, microangiography をおこなった。

(3) 抗体の検索; 先に述べた正常犬膵ホモジネートと膵炎犬血清で Ouchterlony 法にて沈降反応をみた。

(4) Amylase 測定 (Somogyisaccharogenic 法); 血糖測定 (Somogyi 法) は動脈血で, 組織の染色は hematoxylin-eosin 染色, Azan-Mallory 染色を行った。

II 実験成績

A 実験 I

〔I a 群〕 膵管不完全閉そく; 対照として処置した群であるが全例肉眼的に変化がなく, 組織学的にも全く正常であった(写真1)。

また40日後開腹して, セクレチンを静注して, 膵液の流出状況を観察したが良好に流出した。

〔I b 群〕 膵管不完全閉そく+セクレチン注射; 肉眼所見では異常が認められないが, 組織では膵管周囲の結合織の増生があり, 一部小葉内にも伸びているが炎症性細胞浸潤はなく, 腺房細胞の壊死もみられない(写真2)。

〔I c 群〕 膵管不完全閉そく+レンチン注入; 肉眼的にやゝ硬度も増し, 帯黄褐色を呈した。組織ではI群の中で最も線維化は強く, 小葉間より小葉内に及び, 一部は腺房細胞をとりまき, 部分的な腺房細胞の変性を伴っている。また, 一部に膵管上皮の脱落, 膵管周囲の結合織の増殖がみられた(写真3)。

〔II a 群〕 膵組織火傷; 肉眼的には火傷部の治癒傾向はきわめて良好で, 薄い白い瘢痕を残すのみで, 組織学的には全く異常を認めなかった。

〔II b 群〕 膵火傷 + Adj. 筋注; 全例肉眼的には異常なく, 組織学的にも異常所見がみられなかった。1例のみ, 局所的に膵管周囲の線維増生と, 膵腺房細胞の壊死・細胞浸潤の像を認めた。

〔II c 群〕 変性膵組織加 Adj. 筋注; この群では, 肉眼的にも, 組織学的にも特に異常所見は見出されなかった。

1例のみ, 部分的に脂肪壊死と結合織の増生を認め, 結合織内に膵細胞が落ちこんでいるものがあつたが, 局所的であつた(写真4)。

〔III a 群〕 Adj. 膵内注入; 肉眼所見では帯黄褐色で硬度を増し, 萎縮も著明であり周囲と癒着もみられた。

また adjuvant 注入局所に相当して, 腫瘍形成が見られた例もあつた。腹水, 出血は見られなかった。

組織学的所見は, かなり広汎な壊死巣があり腺房細胞は島嶼状にとり残されている。線維化は高度であり, 膵硬変ともいふべき像を示した。また, 高度の線維症の部分と腺房細胞の壊死や炎症性細胞浸潤の混在が認められ, ヒトの慢性膵炎の組織像の定義¹⁾, すなわち, 「限局性ないし広汎な膵の不規則な硬化であり, これに膵外分泌組織の破壊, 消失, 膵管の拡張, 狭窄を伴い, また浮腫, 壊死, 膿瘍, 細胞浸潤がみられるが, 膵ラ氏島は比較的障害が軽い。」に類似している。

また, 一部に空胞が散見され, その周囲に特に炎症性細胞浸潤がみられた。

膵管は拡張し, 膵管上皮は変性・剝脱し, 膵管が閉塞しているものもあり, 管腔内に好酸性物質がみつめられる。血管の新生もみつめられる。ラ氏島は比較的多くのものが結合織のなかにみられた(写真5, 6)。

〔III b 群〕 変性膵組織加 Adj. 膵内注入; 肉眼的にも組織学的にも III a 群と同様であり, 壊死, 線維化, 炎症性細胞浸潤が混在している。やゝ炎症性細胞浸潤の像が強い印象であつた(写真7)。

〔III c 群〕 流バラ膵内注入; 肉眼的に流バラは膵の被膜下や葉間に滴状に残存していたが, 組織学的には5例とも異常所見を示さなかった(写真8)。

〔III d 群〕 膵切断; 膵尾 Adj. 注入; III a, III b 群で Freund's adjuvant を膵内に注入すると, 慢性膵障害がもたらされ, この変化は注入局所はもちろん, ほとんど膵全体に及ぶが, 組織内で連続性のものか非連続性のものか検討した。5例中3例は膵頭部に変化がみられなかったが, 2例は膵頭部にも III a, III b 群と同様の变化をみた。また, 逆に膵切断, 頭部に Freund's adjuvant を注入した群でも, 膵尾部に変化を来した例と変化を認めぬ例があり, 組織内で連続性のものか非連続性のものか, 確定結果は得られていない。

脾管造影を試みた例においても、主脾管、分枝脾管の不規則な拡張、閉塞が、脾全体に及ぶ例と、部分的な変化だけの例があった。

Ⅲ群において慢性脾障害例で、40日目に血糖、アミラーゼを測定し、Ouchterlony法で正常犬脾組織を抗原とした抗脾抗体を検討したが、血糖上昇例、高アミラーゼ症例は認めたが、血清に抗脾抗体は認められなかった。

血管系については、脾摘出前に造影剤を腹部大動脈より注入し、microangiographyをおこなった。正常例が樹枝状構造であるのに比べて、慢性脾障害例では小動脈の分布が少なく、中等大の動脈より直接細小動脈へ分岐し、樹枝状構造が失われている(写真9)。

〔Ⅳa群〕 不完全閉そく＋リンパ液注入；脾管不完全閉塞処置に加えて脾管内に犬乳糜を注入した群であるが、Ⅰa群と同様に肉眼所見、組織学的検索でも異常がなかった。

〔Ⅳb群〕 リンパ液脾内注入；脾内に直接乳糜を注入した群であるが、全例変化を認めない。

〔Ⅳc群〕 リンパ液＋流パラ脾内注入；乳糜と流パラを混じたものを脾内に直接注入した群であるが、肉眼的には流パラが脾被膜下や葉間にみられ、明らかに硬度も増して、軽度の萎縮もみられた。

組織では、腺房細胞の変性、壊死があり、炎症性細胞浸潤を認める。一部に結合組織の増生を伴っている。空胞も散見された。

これらの変化は、質的に Freund's adjuvant 脾内注入群とほぼ同様のものではあったが、より軽いものではあった(写真10)。

〔Ⅳd群〕 リンパ液上清＋流パラ脾内注入；リンパ上清(リンパ漿)と流パラを混じて、脾内に注入した場合にも、肉眼的にも組織所見でもⅣc群と同様所見が得られ、腺房細胞が変性、壊死におちいり、間質の結合組織が増生し、一部好中球を主とした炎症性の細胞浸潤がみられるが、Ⅳc群に比較してさらに軽度であり局所的であった(写真11)。

〔Ⅳe群〕 沈渣(リンパ球)＋生食水＋流パラ脾内注入；リンパ球と流パラの混合液を脾内に注入した群であるが、Ⅳd群と同質、同程度と考えられた(写真12)。

以上、実験Ⅰ各群の組織変化をまとめたものが表3である。

B 実験Ⅱ

〔a群〕 エチオニン；エチオニン3回投与、40日間

放置したものであるが、脾は肉眼的には著明な変化はみられなかったが、組織学的には全例に腺房細胞の萎縮があり、細葉構造にやゝ乱れがあったが、間質の線維化はない(写真13)。

〔b群〕 Freund's Adjuvant；やせて皮下脂肪も少なかった。12例中2例に腹水の貯留を認めた。

脾は全例肉眼的に帯黄褐色で、著明な硬化、萎縮を来とし、肝、脾、十二指腸、腹膜などと癒着しており、組織学的には脾実質細胞の変性、壊死と間質の線維化が著明であり、炎症性細胞浸潤に好酸球、形質細胞をまじえており、空胞も散見され、この部分を中心に Epithelioid cell がみられ、granulomaの形成がみられた。

これらの変化は、脾周囲脂肪組織において強かった。

また、脾管は上皮の脱落、拡張、閉塞像もみられ、血管の新生も著明であった(写真14)。

〔c群〕 流動パラフィン；脾は肉眼的に葉間に流パラの沈着が認められ、1例は周囲と軽度の癒着がみられたが、硬度は正常であった。癒着のみみられた例に脾周囲の腺房細胞の限局性の壊死、細胞浸潤がみられ、軽度の線維化がみられたが、他の例ではほとんど変化がないといえる(写真15)。

〔d群〕 正常脾ホモジネート；正常脾ホモジネートを腹腔に注入した群においては、全例肉眼的に変化がみられず、1例のみ組織学的に限局性の腺房細胞の壊死巣がみとめられたが、軽微であり、線維化はみられなかった。

〔e群〕 脾炎脾ホモジネート；2例に限局性の腺房細胞の壊死巣がみとめられたのみで、やはり全体的には、ごく軽微な変化と考えられた(写真16)。

〔f群〕 腹水；この群では、肉眼的には変化を示さず、1例に軽度の限局性の壊死巣が散見されたのみであった(写真17)。

〔g群〕 正常脾ホモジネート＋流パラ；c群と同様肉眼的に流パラの沈着がみられたが、組織変化は2例に限局性に脾周囲の腺房細胞の壊死、細胞浸潤、軽度の間質の線維化がみられたが、全体的にはほとんど著明な変化がみられなかった(写真18)。

〔h群〕 脾炎脾ホモジネート＋流パラ；脾炎脾ホモジネートと流パラの混合したものを腹腔に注入した群である。脾は肉眼的にもやゝ帯黄褐色で硬度も増しており、周囲との癒着もあった。組織変化では全例に脾周囲炎の型をとり、脾実質細胞の壊死を伴い、間質の線維化もみられ、線維は小葉内にも一部入りこんで

いる。また炎症性細胞浸潤もみられた。

しかし、Freund's adjuvant を注入したときにみられたような granuloma の形成はみられないし、程度もより軽度であった（写真19）。

〔i 群〕 腹水 + 流パラ；腹水と流パラを腹腔に注入した場合、h 群と同様の所見が得られた。しかし空胞が多い点より腺房細胞の変化が強いことから Freund's adjuvant 腹腔注入群に近い変化といえるかも知れない（写真20）。

〔j 群〕 エチオニン + Adj. 背皮下注射；エチオニンで急性腎障害をつくり、Freund's adjuvant を遠隔に注射して、エチオニン急性腎炎の回復に対する adjuvant の影響をみる目的であった。

腎は肉眼的に異常を認めず、組織学的には全例や腺房細胞の萎縮、細葉構造の乱れが増強された印象であるが、a 群との間に著明な差は認め難かった。

以上実験群Ⅱの組織変化をまとめたものが表4である。

表 3 実験Ⅰ 各群の組織変化のまとめ

実験処置群		腺房細胞 の 変性、壊死	間質の 線維化	腎管の 変 化	血管の 変 化	病 変 出現数
Ⅰ	a. 腎管不完全閉そく	—	—	±	—	0/5
	b. 不完全閉そく + セクレチン注射	—	±	±	—	5/5
	c. 不完全閉そく + レンチン注入	+	++	+	±	5/5
Ⅱ	a. 腎組織一部Ⅲ°火傷	—	—	—	—	0/5
	b. 腎火傷 + Adj. 筋注	±	—	—	—	1/5
	c. 変性腎組織加 Adj. 筋注	±	—	—	—	1/5
Ⅲ	a. Adj. 腎内注入	卅	卅	++	++	5/5
	b. 腎組織加 Adj. 腎内注入	卅	卅	++	++	5/5
	c. 流パラ腎内注入	—	—	—	—	0/5
	d. 腎切断；腎尾 Adj. 注入	++	++	+	+	2/5
Ⅳ	a. 不完全閉そく + リンパ液注入	—	±	+	—	0/5
	b. リンパ液腎内注入	—	—	—	—	0/5
	c. リンパ液 + 流パラ腎内注入	++	+	+	±	5/5
	d. リンパ上清 + 流パラ腎内注入	+	+	+	±	5/5
	e. 沈渣(リンパ球) + 生食水 + 流パラ腎内注入	+	+	+	±	5/5

表 4 実験Ⅱ 各群の組織変化のまとめ

実験処置群		腺房細胞の 変性、壊死	間質の 線維化	腎管の 変 化	血管の 変 化	病 変 出現数
a.	エチオニン	+	±	—	—	10/12
b.	Freund's Adjuvant	卅	卅	+	+	12/12
c.	流動パラフィン	±	+	±	±	1/10
d.	正常腎ホモジネート	±	±	—	—	1/10
e.	腎炎腎ホモジネート	±	±	—	—	2/10
f.	腹 水	±	±	—	—	1/10
g.	正常腎ホモ + 流パラ	±	+	±	±	2/10
h.	腎炎腎ホモ + 流パラ	++	++	+	+	10/10
i.	腹 水 + 流パラ	++	++	+	+	10/10
j.	エチオニン + Adj. 背皮下注射	+	+	—	—	6/6

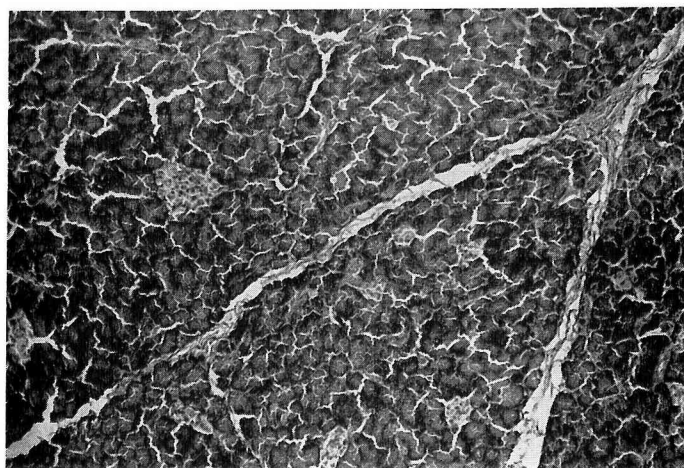


写真 1

I a 不完全閉そく

H. E. 100×

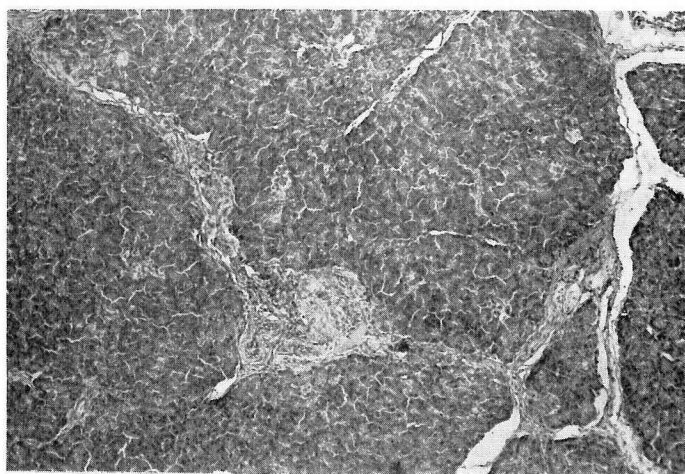


写真 2

I b 不完全閉そく + セクレチン
注射

H. E. 100×

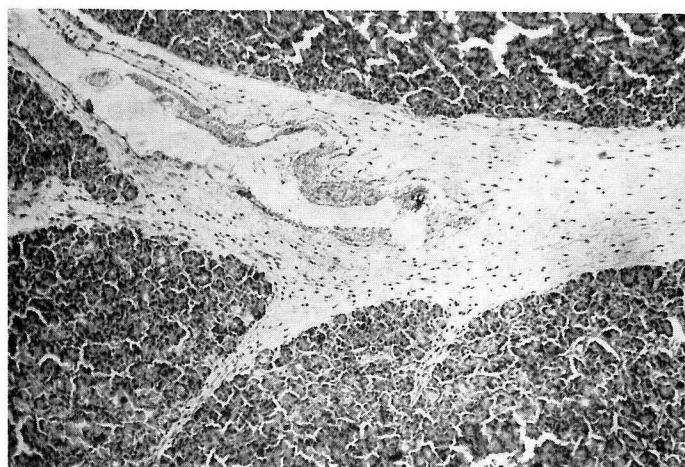


写真 3

I c 不完全閉そく + レシチン注
入

H. E. 100×

写真 4

Ⅱc 変性腎組織加 Adj. 筋注
H. E. 100×

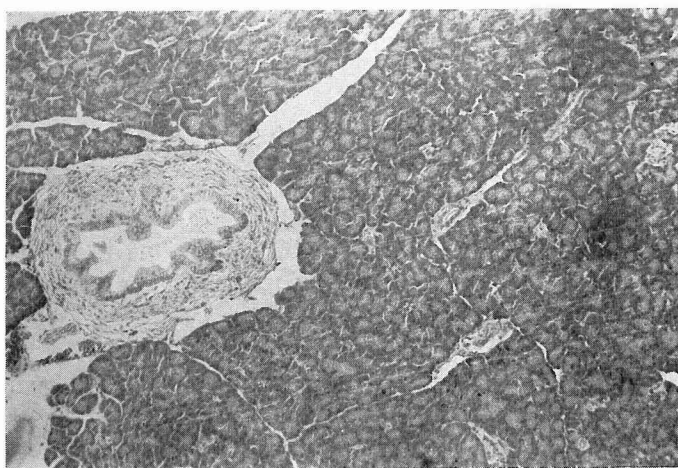


写真 5

Ⅲa Fr. Adj. 腎内注入
H. E. 100×

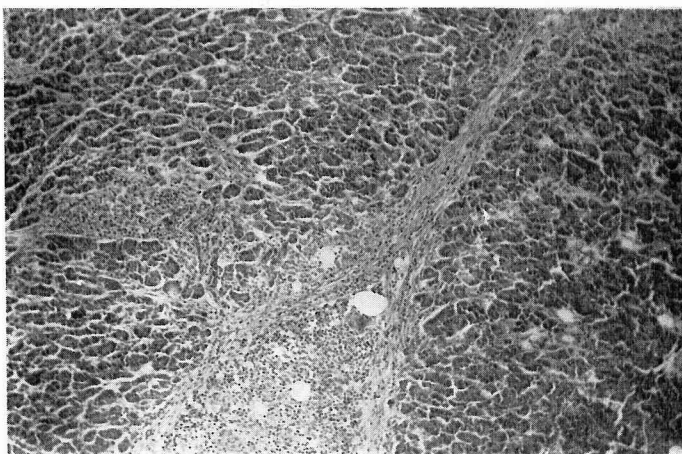


写真 6

Ⅲa Fr. Adj. 腎内注入
Azan 100×



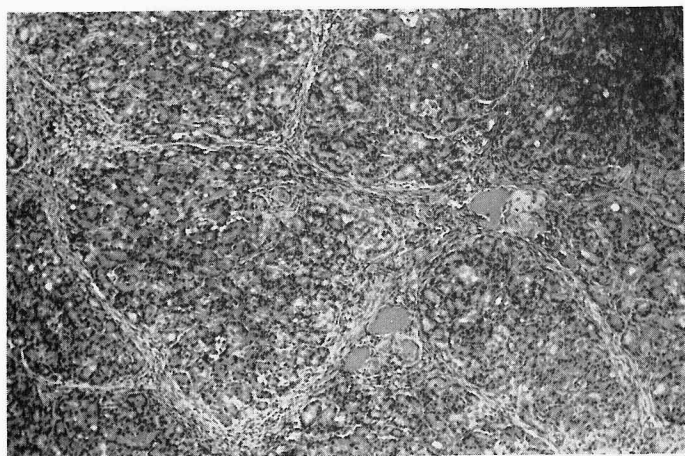


写真 7

Ⅲ b 変性膵組織加 Adj. 膵内注入
H. E. 100×

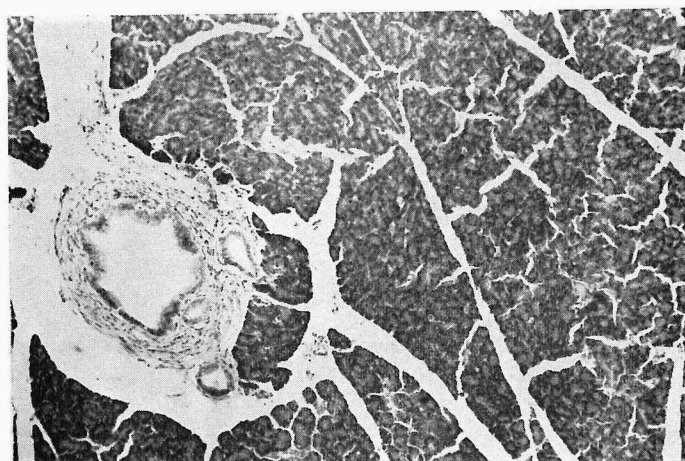


写真 8

Ⅲ c 流ベラ膵内注入
H. E. 100×

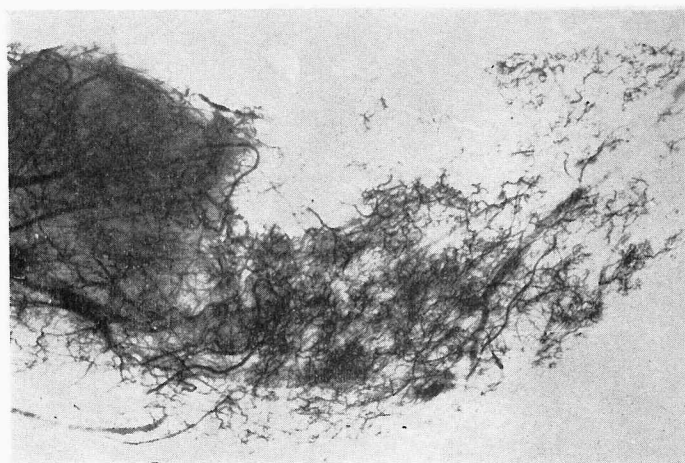


写真 9

慢性膵障害犬血管造影

写真 10

Ⅳc リンパ液 + 流パラ脾内注入
H. E. 100×

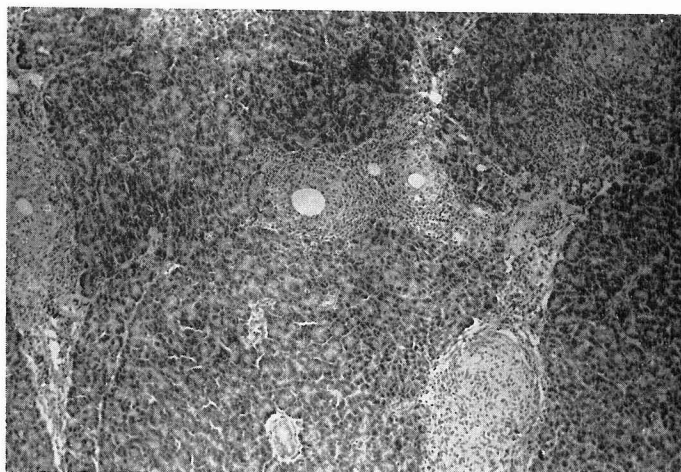


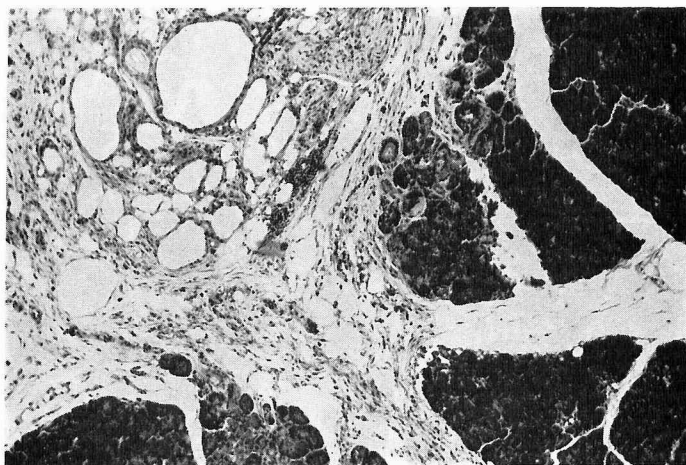
写真 11

Ⅳd リンパ漿 + 流パラ脾内注入
H. E. 100×



写真 12

Ⅳe リンパ球 + 流パラ脾内注入
H. E. 100×



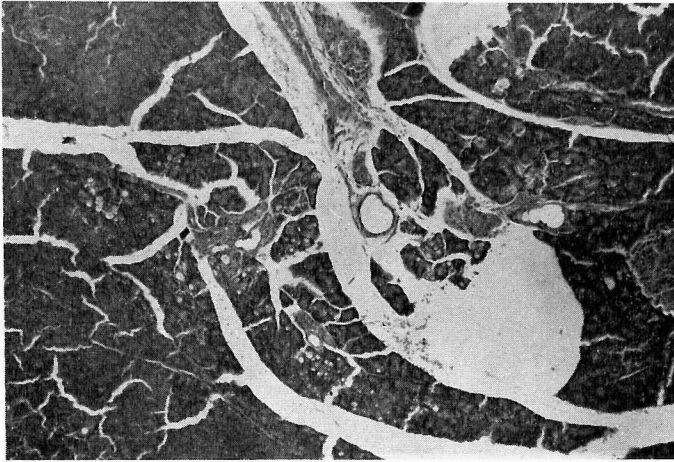


写真 13

a. エチオニン腹腔注入

H. E. 100×

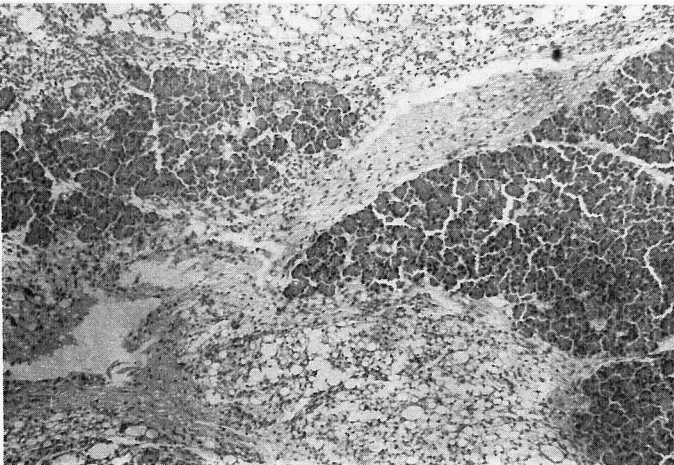


写真 14

b. Fr. Adj. 腹腔注入

H. E. 100×

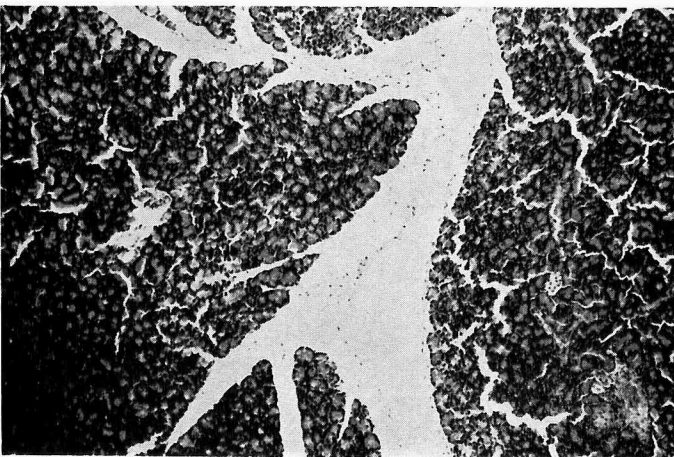


写真 15

c. 流パ^ラ腹腔注入

H. E. 100×

写真 16

e. 腎炎腎ホモネート腹腔注入
H. E. 100×

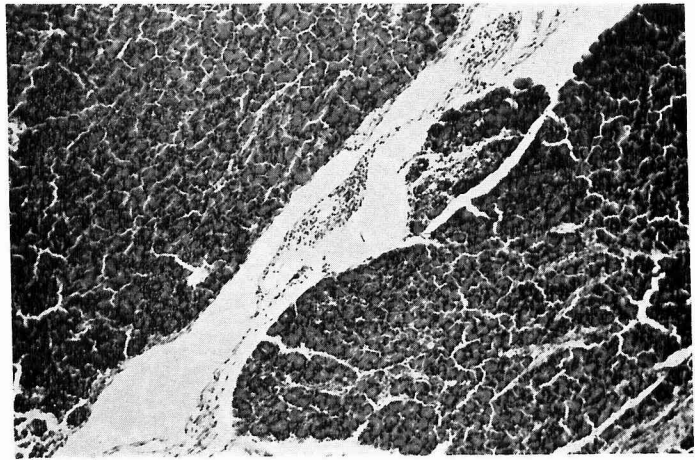


写真 17

f. 腹水腹腔注入
H. E. 100×

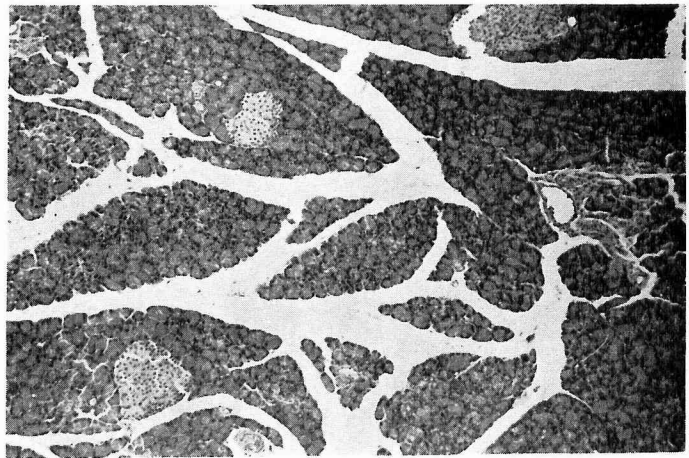
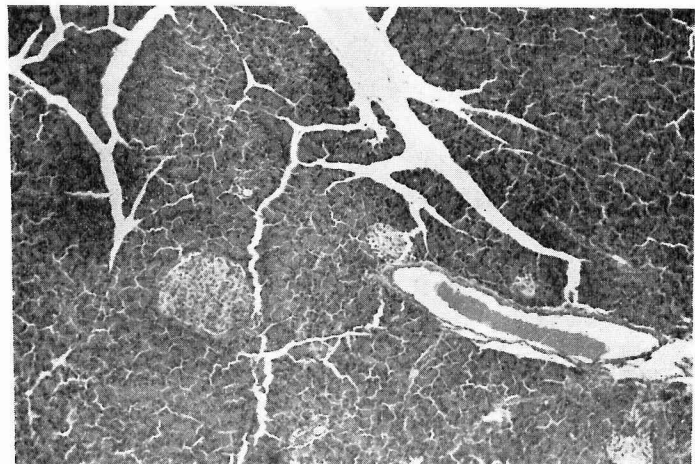


写真 18

g. 正常腎ホモ + 流パラ腹腔注
入
H. E. 100×



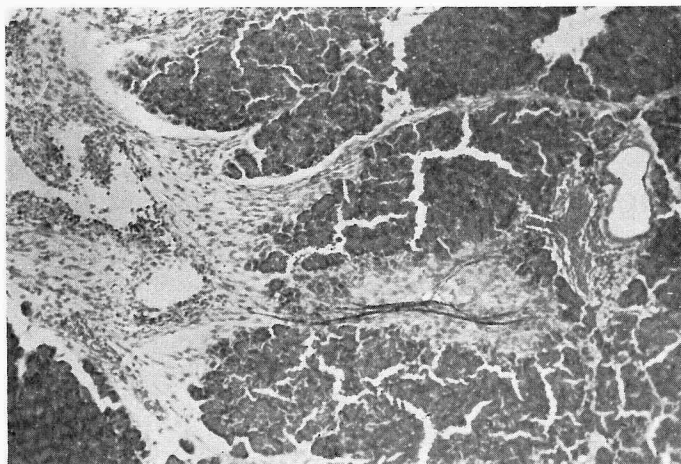


写真 19

h. 膵炎膵ホモ + 流パヲ腹腔注
入

H. E. 100×

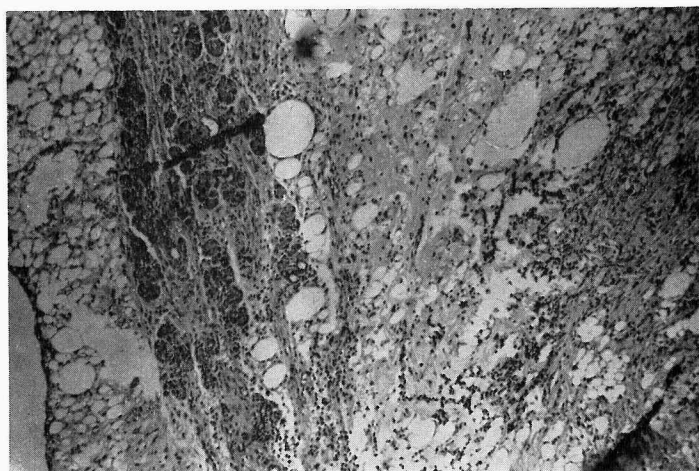


写真 20

i. 腹水 + 流パヲ腹腔注

H. E. ×100

IV 考 察

Dreiling & Janowitz⁵⁾は膵炎の成因を感染因子、機械的因子、代謝性および栄養性因子、血管因子、毒性およびアレルギー性因子、外傷性因子をあげているが、慢性膵炎に関する諸家の臨床的な成因をみると、Comfort (USA), Herfort (Prague) らは胆道疾患に、Marks (S. Africa), Sarles (Marseilles), White (USA), Howard (USA) らはアルコール過飲にその原因があるとしている⁶⁾。

わが国では山形ら⁷⁾は急性膵炎、胆石症、寄生虫、胃十二指腸潰瘍等をあげ、小田ら⁸⁾は、胆石症または胆道疾患 (32.6%), アルコール性⁹⁾ (21.5%), 急性膵炎 (11.8%), 特発性 (13.9%), その他の順であったとしている。以上のように胆道疾患、アルコール過飲、急性膵炎の反覆が臨床的な慢性膵炎の成因の主流といえる。

さて、膵炎の発生に関する説明として1901年 Opie¹⁰⁾はいわゆる Common channel theory を提唱し胆汁が膵管内に逆流して膵炎をおこすとし、Archibald¹¹⁾は Oddi 筋の痙攣による共通管の可能性を示唆し、以来管内性に膵炎が発生することが臨床的にも、実験的にも事実と思われるが、その機構に関してはなお不明の点も多い。

次に諸家の実験膵炎をみると、一般的には膵炎を作成する場合、胆汁を高圧で膵管内に注入すればよいことは明らかな事実であるが¹²⁾¹³⁾、この場合注入圧の問題と胆汁に膵炎発生の原動力があるかという点が疑問とされている。

犬の膵管内圧は300mmH₂O前後であり500mmH₂O以上の圧が加わると膵管の破綻がおこるといわれ¹⁴⁾、低圧で胆汁を注入した場合には急性膵炎がおきないとされている¹⁵⁾¹⁶⁾。したがって膵炎発生には胆汁の逆流と膵管内圧の高度上昇という条件が必要となるが、Konok ら¹⁷⁾は膵管上皮細胞はその分泌物である粘液層で被われており、膵管内容と膵実質細胞との間に Protective barrier としての作用を有しており、正常胆汁、トリプシンを注入した場合変化がおこらないが大腸菌感染胆汁にその粘液溶解作用、細胞毒性があるとしており、水本ら¹⁸⁾はムコ多糖分解酵素である β -glucuronidase と胆汁とを混合して低圧で膵管に注入した場合でも膵管上皮の破綻を来し膵炎をおこすとし、必ずしも高圧での注入を要しないことを示唆している。

一方、obstruction-hypersecretion の実験として Edlund¹⁹⁾はラットで総胆管を結紮して cecekin で胆汁排泄を刺激すれば膵管系に胆汁の逆流がおこりこれが出血性膵炎の initiating factor となると推定し、Hermann ら²⁰⁾は膵管不完全閉塞とセクレチン週2回注射で実験的に慢性膵炎を作成し得ると報告している。

また、膵炎の発生には膵酵素の活性化が必要とされ²¹⁾、Elliotto²²⁾は胆汁と膵液との接触が条件であるとする実験をしているが、McCutcheon²³⁾は、十二指腸液逆流がその原因であるとし以下の実験で説明している。すなわち犬に閉鎖十二指腸係蹄を作るとヒトに類似の急性膵炎を作成できるが、この際に膵管を結紮すると防止されることから十二指腸液の逆流が膵炎の原因で、十二指腸液に接触して活性化された膵液が膵管内に逆流する要があるとしている。

また一方、Schmidt & Creutzfeldt²⁴⁾²⁵⁾は活性トリプシンやその血液混合物、リパーゼなどをラットの膵管内に注入しても激症の膵炎を作り得ないが、lysolecithin やその生成にあずかる phospholipase A を胆汁酸と共に注入すると激症の膵炎を作り得ることや、正常の膵に存在する lecithin が膵炎ではすべて lysolecithin に転換していることから膵外分泌液中に豊富に存在する phospholipase A の重要性をとりあげており (図2)、本庄ら²⁶⁾²⁷⁾も牛膵より抽出せる phospholipase A を犬膵管内に注入して膵炎を作成している。

以上述べたような点から実験 I a 群は obstruction のみ、I b 群は obstruction-hypersecretion、I c 群は obstruction+レンチンに相当する処置を意味するが、実験 I a 群は不完全閉塞のみならず、乳頭不全の状態²⁸⁾²⁹⁾にもなり十二指腸内圧の上昇により十二指腸内容は容易に膵管内に逆流し得ると考えられるが、この実験条件下のみでは慢性膵炎の成因として十分なものとはなり得ず、I b 群のように Hermann ら²⁰⁾に準じてセクレチンを注射した場合、膵線維症が認められ一部小葉内にも伸びているが、炎症性細胞浸潤はなく、腺房細胞の壊死もみられない。このことから膵管内圧の上昇は膵管周囲の結合組織の増生をもたらし、長期にわたるときには小葉内にも線維化はすゝむものと考えられるが、これらの変化が長期におよんでも膵線維症にとどまり、ヒトの慢性膵炎の組織像とはやはり異なると思われる。

I c 群の目的は急性膵炎を作成することではないの

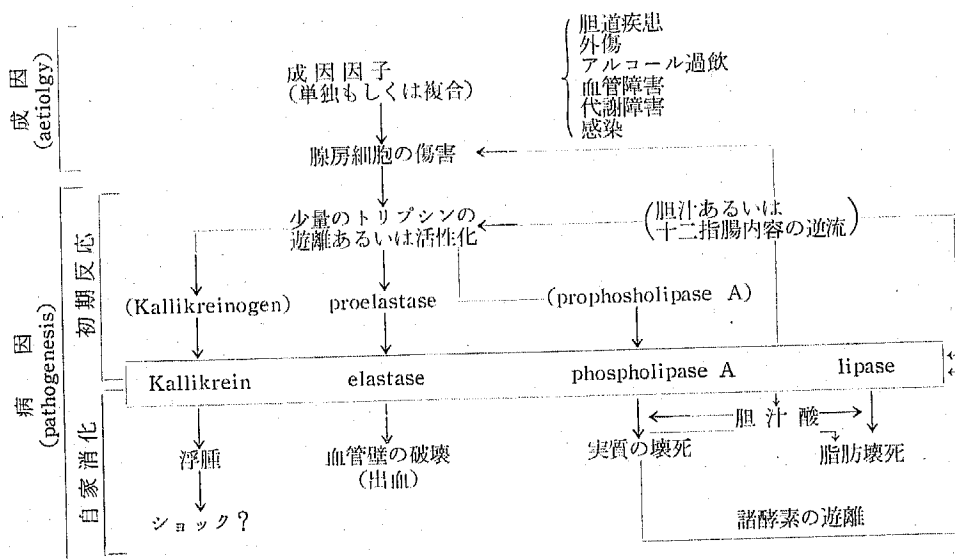


図2 膵炎の成因および病因の模式図
(Creutzfeldt & Schmidt)

で lysolecithin は用いなかったが I 群の中でもっとも繊維化が強かったが、やはり膵線維症にとどまりヒトの慢性膵炎のごとき炎症性細胞浸潤は伴わなかった。

炎症の存続が慢性膵炎の進展に関与することは当然のことといわねばならないが、I 群の実験ではこの点炎症性反応がすでに消退している。

II a 群は壊死組織を長期に存続させる目的で火傷をつくったが、やはり治癒に向ってしまった。これに連隔に Freund's adjuvant を投与することによって膵での反応に影響を与えるか否かを検討したが II b 群の結果は否定的であり、II c 群では膵以外の部に変性膵組織を Freund's adjuvant と混じて注射した場合血中に変性膵組織に対する抗体を生ずることを予想し、この抗体が膵組織に影響するかどうかをみたが、膵組織にはほとんど変化がみられず、また流血中の抗体も証明されなかった。

生体に免疫抗体の産生を増強させ、持続させるために抗原とともに adjuvant を加えて動物に注射することは周知の操作であるが、adjuvant のみを注入した場合でも、あたかも異種蛋白の注入時に類した感作的状态がひきおこされ体内に入った adjuvant と生体組織の相互作用によって多分に変形された抗原抗体反応がひきおこされると考えられ、いわゆるアジュバント病の報告もみられる³⁰⁾³¹⁾

Thal³²⁾³³⁾はウサギ、犬を用いて膵ホモジネート

と Freund's adjuvant を皮下または筋肉内に注射して感作し、さらに臨床例においても慢性膵炎、膵癌、cystic fibrosis, SLE, などの症例で流血中の抗膵抗体を認めたと報告しており、Fonkalsrud³⁴⁾も慢性膵炎、膵癌例に抗膵抗体を証明し、これらの患者の半数に circulating antigen を検出し、さらに抗犬膵ウサギ血清を静注し、正常ウサギ血清を静注した対照群に比し著明なアミラーゼとリパーゼの上昇をみているが、30日後の組織学的検索では変化をみとめていない。

ウィルス、細菌あるいは真菌などに直接膵障害作用をもつ場合のあることは臨床的にも実験的にも確実なことではあり、Thal³⁵⁾³⁶⁾³⁷⁾は細菌毒素を用いて Schwarzman 反応による出血性膵炎を実験的に作成しており、またこの際用いた staphylococcal toxin は毒性が強く、少量を膵実質内に1回注射して局所性の慢性膵炎をつくらせている。

しかしこれらを単一の感染として慢性膵炎と結びつけることは、頻度が低いこと、惹起したものが急性膵炎であることなどから困難と思われる。

急性膵炎のくり返しが慢性膵炎に発展するとした Comfort³⁸⁾の報告に対して、急性膵炎の既往のない慢性膵炎例の存在や、はじめから慢性膵炎として発症した症例の存在などから、急性膵炎のくり返しのみでは慢性膵炎にいたることは疑問とされている。

しかしながら微生物の侵入がくり返したときに条件が同一ということはなく、初回の侵入と2回目、あるいは2回と3回目はそれぞれ異った条件であり異った反応であることは留意されなければならない。

以上のように諸家の知見から慢性脾炎に自己免疫現象が関与するものもありうることは示唆されるが、著者の実験成績からは抗脾抗体が証明されず、たとえ抗脾抗体が証明されたとしても、実験的に慢性脾炎を作成できない現状では慢性脾炎をすべて自己免疫疾患と考えることは出来ないし、疑わしいと考える。

Freund's adjuvant 単独 (Ⅲa 群)、あるいは脾ホモジネートを Freund's adjuvant に混じて (Ⅲb 群) 脾内に直接注射した場合、ヒトの慢性脾炎に似た組織が得られ、incomplete adjuvant である流パラ (Ⅲc 群) では同様の処置にもかかわらず、脾に異常所見を示さなかった。したがって、こゝで得られた実験的慢性脾障害は Freund's adjuvant によってもたらされたものである。注入操作のときに周囲に急性脾障害が当然おこるが脾障害の慢性化の機転には complete adjuvant が要因となっていることがわかる。

Freund's adjuvant は流動パラフィンに結核菌のような抗酸性菌をうかべ、さらにラノリンのような乳化剤を加えたもので菌体成分にちがひがあると考えられている。

さらに菌体成分のうちでも adjuvant 効果は糖脂質 (lipopolysaccharide) に存在するという³⁹⁾。

Ⅲ群の結果から生体内において流動パラフィンに加えて complete adjuvant と等価にさせるものとして一つの試みに、リンパ液 (乳糜) をとりあげたが、脾がリンパ液の中に浮く鳥とも思えること、また胆道疾患と脾炎とのリンパ流を介しての関係を考えると⁴⁰⁾、リンパに何らかの役割が存在するものと考えたからである。

流パラとリンパ液を混じて脾内に直接注入した場合 (Ⅳc 群)、さきに述べたごとく Freund's adjuvant を脾内直接注入したと同様の変化がより軽度ではあるがおこった。この結果から流動パラフィンに乳糜を加えると実験的に慢性脾障害に関しては complete adjuvant と等価になることを見出した。

さらに、リンパ液のどの成分に adjuvant 作用が存在するのかを検討する目的で実験 Ⅳd 群、Ⅳc 群の実験を試みた。

ヒトの胸管リンパ流量は少なくとも1日に 1.5ℓ~2ℓありその蛋白濃度は血漿の55%~70%あり、多数のリ

ンパ球が含まれており、さらにカイロマイクロンを含み、この乳糜は99%トリグリセリドからなる中心部をリン脂質と蛋白からなる膜がとり囲んだものとされているが⁴¹⁾、この辺に菌体成分と共通の点があると考ええる。しかし著者の実験結果だけでは明確な結論は得られなかった。

エチオニン脾炎に関しては、小田⁴²⁾、内藤⁴³⁾、福永⁴⁸⁾らの詳細な実験があるが、ラットおよび犬に 20 mg/体重 100g を連日~隔日に長期反覆腹腔内に注射すれば3ヶ月前後で脾萎縮をきたし、細葉構造も原型を止めず高度の間質性線維増殖がおこりいわゆる脾硬化症にまで至るとし、エチオニンの臓器選択性と組織蛋白との結合性を介してエチオニンの利用を防ぐるとし、またトリブシン活性化増強も脾炎の成因上関連性があるとしている。

実験 a 群は急性エチオニン脾炎が40日後にどのように変化するかみたのであるが、やゝ細葉構造に乱れがあり、空胞変性がみとめられるが、間質の線維化はみられなかった。この場合 Freund's adjuvant を背皮下に注射することにより回復への程度の影響をおよぼすのか見たが (実験 j)、明確な脾の組織変化は得られなかった。このことは実験 Ⅱb 群と同様であった。

Freund's adjuvant を腹腔内に注射した場合 (実験 b) に、全例に脾実質細胞の変性壊死と間質の線維化が著明であり、炎症性細胞浸潤に好中球などをまじえており、空胞の部分を中心に epitheloid cell がみられ granuloma の形成がみられた。実験 I における Freund's adjuvant 脾内注入とは、同様の操作と考えられるが、granuloma の形成することより、また脾周囲より変化がおよぶことからやゝその性状を異にしており、異物反応としてのニュアンスが強い。このことは adjuvant の投与量、投与方法のちがひ、動物の種類による生体反応のちがひなどによると考えられる。

Geduldig ら⁴⁴⁾はマウス (13~21g) に 0.02ml の Freund's adjuvant 単独、あるいは脾ホモジネート加 adjuvant を週2回、3週間、鼠径部の皮下に注射して、間質性脾炎がおこり脾炎は脾周囲組織と脂肪組織に始まり肉芽的であったとし、さらに adjuvant を前大腿部皮下、背皮下に注射しても脾病変がおこらないが、腹腔、腹部皮下に注射した場合全例に脾病変がひきおこされたとしている。

Steiner ら⁴⁵⁾はウサギの皮膚に Freund's adjuvant

の各成分を注射しその反応をみている。

それによると oil fraction の48時間後の変化は限局性の壊死とその周囲の多核好中球の著明な浸潤であり, bacterial fraction で9日目の変化は限局性の炎症性の変化で epitheloid granuloma を形成し, 融合する傾向がみられるが壊死, 乾酪化はなく, complete Freund's adjuvant では24日後に lipid vacuole と強い細胞性反応がみられ, 大喰細胞と形質細胞がみられると述べている。

oil fraction である流パラのみ腹腔に注入した実験 c 群では1例に軽度の限局性の変化がみられたが, 他はほとんど変化がなかった。

Munoz ら⁴⁾は抗原加 Freund's adjuvant をマウスの腹腔注射で腹水の貯留をみたが腹水中には, 抗体を含めて種々の物質が存在することは当然予想される。

築山⁴⁶⁾は hepato-reno-cardio toxic factor が腹水中に存在しそれらはトリプシン, リパーゼ, アミラーゼであり, これら3者の混合物にその作用が強いとしている。

本庄, 宮崎⁴⁷⁾は膵酵素を後腹膜に注入することによってショックがおこることを示し, 石川⁴⁸⁾はトリプシン膵炎犬の腹水中にトリプシン, カリクレインなどのキニン形成酵素の活性が高いことを示し, 腹水中でキニンを形成し膵のみでなく他の腹腔臓器の血管透過性をも著しく高めることによって, 腹水中への血漿の異常な漏出を惹起していると推測している。

以上のような諸家の報告にみられるように腹水のみの注入でも膵に変化がくることが予想されたが, 注入後40日後の膵には明らかな変化がみられなかった。また正常膵ホモジネート, 膵炎膵ホモジネート単独で腹腔に注入した場合にも変化が得られず, 急性期の変化がおこったとしても40日後には良好に回復したと考える。

しかるに, 膵炎膵ホモジネート, 腹水に流動パラフィン混じて腹腔内に注射した場合 (実験 h, i 群) には, 膵実質細胞の変性, 壊死, 間質の線維化, 炎症性細胞浸潤が全例にみられた。この場合 Freund's adjuvant にみられた granuloma の形成はなく実験 IV c 群のリンパ液と流パラの混合物を膵内に注入した場合の変化と同様と考えられた。

これらの実験から慢性膵障害には, 1) 膵組織の一部に壊死の存在すること。2) 壊死による膵組織の炎症反応を存続させるか増強させるものの存在の2つのモメントが必要と考えられる。膵に壊死をもたらすものと

しては急性膵炎の成因のどれでもよいが, 膵組織の反応を存続させるものが膵炎慢性化に必要なものと考えられるが, リンパ液, 膵炎膵ホモジネート, 腹水と流動パラフィンの混液がその1つとしてそれぞれ認められるとすれば, 体内で流動パラフィンのような incomplete adjuvant の作用をもつものがあれば, 膵障害は慢性化する可能性があると思われる。

すでに結核や慢性腎炎の研究から体内で adjuvant 作用をもちうるものとして, 菌体成分とくに, リン脂質, ムコ蛋白などがあげられている。ヒトの慢性膵炎で生体内で adjuvant 作用を持つものが存在するか否かは今後の問題である。

V 結 語

(1) 膵管内圧の上昇, 膵組織の一部の壊死のみでは, 慢性膵障害を作成できなかった。

(2) Freund's adjuvant 単独または膵組織加 Freund's adjuvant を遠隔部に注射しても慢性膵障害を作成できず, また急性膵障害をも存続させなかった。

(3) Freund's adjuvant 単独または膵組織加 Freund's adjuvant を犬の膵組織内に直接注入することによりヒトに類似の慢性膵障害を作成しえた。また, ラットでも腹腔内に注入して同様の結果を得た。

(4) 慢性膵障害犬で抗膵抗体は Ouchterlony 法で証明出来なかった。

(5) 生体内で incomplete adjuvant である流動パラフィンと混じて complete adjuvant と等価にさせるものとして, リンパ液, 膵炎膵ホモジネート, 腹水にその可能性をみいだした。

このことから adjuvant あるいは adjuvant 的なものが膵炎の慢性化の要因に必要である可能性を示唆した。

(6) 慢性膵障害を実験的に作成し, その血管, 膵管の変化を示した。今後の基礎的研究および臨床診断の一助となりうるものとする。

本論文の要旨の一部は, 第56回日本消化器病学会総会, 第13回日本消化器病学会秋季大会で発表した。

稿を終るに臨み, 小田正幸教授の御指導と, 萩原洋三元助教授, 本間達二講師をはじめとする膵臓研究班の諸氏の御助言, 御協力に感謝します。

文 献

- 1) Sarles, H. : Proposal adopted unanimously by the participants of the symposium, Pancreatitis, Symposium, Marseilles, 1963
- 2) 日本膵臓病研究会 : 慢性膵炎の臨床診断基準に関する小委員会の記録概要. 1971
- 3) 内藤聖二 : エチオニンにおける実験的膵障害の研究. 東京医学雑誌, 66 : 53-67, 1958
- 4) Munoz, J. : Production in mice of large volumes of ascites fluid containing antibodies. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), 95 : 757-759, 1957
- 5) Dreiling, D. A., Janowitz, H. D. and Perrier, C. V. : Pancreatic Inflammatory Disease. A Physiologic Approach. pp. 37-77, Hoeber, N. Y., 1964
- 6) Creutzfeldt, W. and Schmidt, H. : Aetiology and pathogenesis of pancreatitis (current concepts). Scand. J. Gastroent., Suppl. 6 : 47-62, 1970
- 7) 山形敏一, 柳川一成, 安田恒夫 : 慢性膵炎の頻度, 特に消化器系疾患における地位. 日本臨床, 22 : 190-195, 1964
- 8) 小田正幸, 本間達二 : 第55回日本消化器病学会総会, シンポジウム(Ⅱ) 慢性膵炎. 慢性膵炎の成因および疫学. 日消会誌, 66 : 1009-1010, 1969
- 9) 長田敦夫 : アルコール性膵障害にかんする研究. 第1篇 アルコール膵炎にかんする臨床的研究, わが国における疫学調査を中心にして. 信州医誌, 18 : 1295-1307, 1969
- 10) Bockus, H. L. : Gastroenterology (Second ed.), III, pp. 949-982, W. B. Saunders Co., Philadelphia & London, 1964
- 11) Archibald, E. : The experimental production of pancreatitis in animals as the result of the resistance of the common duct sphincter. Surg. Gynec. Obstet., 28 : 529-549, 1919
- 12) Sum, P. T., Bencosme, S. A. and Beck, I. T. : Pathogenesis of bileinduced acute pancreatitis in the dog. Amer. J. Dig. Dis., 15 : 637-646, 1970
- 13) Rittenbury, M. S. and Hanback, L. D. : Snake antivenin. Effect on survival in experimentally induced hemorrhagic pancreatitis. Arch. Surg., 99 : 179-184, 1969
- 14) 5) より引用. 41-46
- 15) Fisher, B., Fisher, E. R. and Selker, B. : Further observations on the role of bile in the pathogenesis of pancreatitis. Surg. Forum., 4 : 406-412, 1954
- 16) Hansson, K. : Experimental and clinical studies in aetiological role of bile reflux in acute pancreatitis. Acta chir. scand. Suppl. 37, 5 : 1-102, 1967
- 17) Konok, G. P. and Thompson, A. G. : Pancreatic ductal mucosa as a protective barrier in the pathogenesis of pancreatitis. Amer. J. Surg., 117 : 18-23, 1969
- 18) 水本龍二, 倉塚 均, 吉良勝正, 本庄一夫 : 急性膵炎の発生と膵管上皮の変化, とくに膵管上皮 protective barrier について. 医学のあゆみ, 75 : 423-424, 1970
- 19) Edlund, Y. : The etiology and pathogenesis of acute pancreatitis. Schweiz. med. Wschr., 100 : 1174-1178, 1970
- 20) Harmann, R. E. and Davis, J. H. : The role of incomplete pancreatic duct obstruction in the etiology of pancreatitis. Surgery, 48 : 318-329, 1960
- 21) Dimbiloglu, M. E., Appert, H. E., Howard, J. M. and Pairent, F. W. : The relative tolerance of the dog to intravenous infusion of pancreatic juice. Surgery, 64 : 805-813, 1968
- 22) Elliott, D. W., Williams, R. D. and Zollinger, R. M. : Alterations in the pancreatic resistance to bile in the pathogenesis of acute pancreatitis. Ann. Surg. 146 : 669-682, 1957
- 23) McCutcheon, A. D. : A fresh approach to the pathogenesis of pancreatitis. Gut, 9 : 296-310, 1968
- 24) Schmidt, H., Creutzfeldt, W. and Habermann, E. : Phospholipase A ein möglicherweise entscheidender Faktor in der Pathogenese der akuten Pankreatitis. Klin. Wschr. 45 : 163-164, 1967
- 25) Schmidt, H. and Creutzfeldt, W. : The possible role of phospholipase A in the pathogenesis of acute pancreatitis. Scand. J.

- Gastroent. 4 : 39-48, 1969
- 26) 本庄一夫, 高三秀成, 小沢和恵 : 膵炎. 手術, 22 : 475-481, 1968
 - 27) 本庄一夫, 水本龍二, 小沢和恵 : 急性膵炎の病因. 綜合臨牀, 18 : 2779-2788, 1969
 - 28) Nardi, G. L. and Acosta, J. M. : Papillitis as a cause of pancreatitis and abdominal pain ; role of evocative test, operative pancreatography and histologic evaluation. Ann. Surg. 164 : 611-621, 1966
 - 29) Legge, D. A., Hoffman, H. N. and Carlson, H. C. : Pancreatitis as a complication of regional enteritis of the duodenum. Gastroent., 61 : 834-837, 1971
 - 30) 三好和夫, 宮岡輝夫, 小林泰雄, 板倉利達, 西条一夫, 東原正幸, 白神 貞, 大野文俊 : 人体における Adjuvant 加遷延感作を思わせる高 γ グロブリン血症, 乳房形成術の後にみられた障害. 日本医事新報, No. 2122 : 9-14, 1964
 - 31) 三好和夫, 宮岡輝夫, 上島宏一, 川井尚臣, 多田嘉明, 岡 耕一 : 人体 Adjuvant 病としての肺肺症. 日本医事新報, No. 2170 : 6-11, 1965
 - 32) Thal, A. P., Egner, W. and Murray, M. J. : Circulating antibodies in chronic pancreatic disease. Surg. Forum, 10 : 240-243, 1959
 - 33) Thal, A. P., Murray, M. G. and Egner, W. : Isoantibody formation in chronic pancreatic disease. Lancet, 1 : 1128-1129, 1959
 - 34) Fonkalsrud, E. W. and Longmire, W. P. : The occurrence of pancreatic antibodies and the experimental production of pancreatitis with pancreatic antiserum. Surgery, 50 : 134-142, 1961
 - 35) Thal, A. P. and Brackney, E. : Acute hemorrhagic pancreatic necrosis produced by local Shwartzman reaction. J. Amer. med. Ass. 155 : 569-574, 1954
 - 36) Thal, A. P. : Studies on pancreatitis. II. Acute pancreatic necrosis produced experimentally by the Arthus sensitization reaction. Surgery, 37 : 911-917, 1955
 - 37) Thal, A. P. and Molestina, J. E. : Studies on pancreatitis. III. Fulminating hemorrhagic pancreatic necrosis produced by means of staphylococcal toxin. Arch. Path. 60 : 212-220, 1955
 - 38) Comfort, M. W., Gambill, E. E. and Baggenstoss, A. H. : Chronic relapsing pancreatitis. A study of twenty-nine cases without associated disease of the biliary or gastrointestinal tract. Gastroenterology, 6 : 239-285, 376-408, 1946
 - 39) 山村雄一, 石坂公成 : 免疫化学 (8 版), 朝倉書店, 東京, 1963
 - 40) Weiner, S., Gramatica, L., Voegle, L. D., Hauman, R. L. and Anderson, M. C. : Role of the lymphatic system on the pathogenesis of inflammatory disease in the biliary tract and pancreas. Amer. J. Surg. 119 : 55-61, 1970
 - 41) 小谷正彦, 山下 昭 : リンパの生化学. 代謝, 9 : 7-13, 1972
 - 42) 小田正幸 : 第43回日本消化器病学会総会特別講演, 消化器系と代謝拮抗物質. 日消会誌, 55 : 1-11, 1958
 - 43) 福永 進 : エチオニン膵炎の成因に関する実験的研究. 日消会誌, 56 : 41-55, 1959
 - 44) Geduldig, M. M., Reubner, B. and Iber, F. L. : Pancreatic lesions in inbred mice produced by Freund's adjuvant. Gastroenterology 46 : 175-181, 1964
 - 45) Steiner, J. W., Langer, B. and Schatz, D. L. : The local and systemic effects of the Freund's adjuvant and its fractions. Arch. Path. 70 : 42-52, 1960
 - 46) Tsukiyama, Y. : Disturbances of the liver, kidney and heart in cases of acute pancreatitis. The 3rd World Congress of Gastroenterology. (Abstracts of papers) Tokyo, 249-250, 1966
 - 47) 本庄一夫, 宮崎逸夫 : 急性膵壊死. 日本臨牀, 22 : 90-96, 1964
 - 48) 石川浩一, 田島芳雄, 黒田 慧, 石原敬夫 : 急性膵炎の病態と治療. 日本臨牀, 28 : 124-136, 1970

(1974. 8. 7 受稿)