

胆石症に合併する膵炎

—その発生機序に関する実験的，臨床的研究—

京都大学医学部外科学教室第2講座（指導：日笠頼則教授）

小 山 高 宣

〔原稿受付：昭和49年1月5日〕

Clinical and Experimental Studies on the Etiology of Pancreatitis with Cholelithiasis

by

TAKANOBU KOYAMA

The 2nd Department of Surgery, School of Medicine, Kyoto University.

(Director : Prof. Dr. YORINORI HIKASA)

The etiology of pancreatitis with cholelithiasis has not been elucidated, although the various theories were reported. It is well known that pancreatitis in patients with gallstones, especially cholesterol stones, is encountered more frequently in European than in Japanese, and that a more fat rich diet is taken in Europe than in Japan.

Recent studies of our laboratory showed that deficiencies and/or metabolic disturbances of essential fatty acids (EFA) play an important role on the formation of cholesterol stones, and that isolated pancreatic acinar cells from hamsters fed on a EFA deficient diet were more sensitive to the cytotoxic substances than the acinar cells of animals fed on a EFA rich diet in spite of no histological findings.

This study was started from these observations and will elucidate the etiology of pancreatitis from the new concept of ours that the high incidence of pancreatitis in patients with gallstones also is due to deficiencies and/or metabolic disturbances of EFA as the results of the following examinations.

1. The increased susceptibility to pancreatitis that is associated with cholelithiasis was studied at the cellular level. After human pancreatic tissue biopsied at operation was digested with enzyme solution containing pancreatin, collagenase, hyaluronidase, EDTA, and crystal trypsin, fresh living pancreatic acinar cells were suspended into a balanced salt solution. These cells were subjected to serial dilution cytotoxicity studies using crystal trypsin for cell counts were done on hemacytometer and cell death was determined by using a vital staining technique.

Isolated pancreatic acinar cells from cholelithiasis were more sensitive to the effect of trypsin than those from other diseases.

2. The biochemical analyses were performed on pancreas from hamsters fed on a non-lithogenic diet (i. e. EFA rich diet) for 4 weeks.

Fatty acids in total lipids were separated by saponification from one portion of the extracted lipids from those pancreas, and phospholipids from the other portion by using thin layer chromatography. The methylesters of these fatty acids were analysed in gas-liquid chromatography.

In the pancreas of animals fed on a lithogenic diet, compared to those of animals on a non-lithogenic diet, the following metabolic tendencies were observed ;

1) in fatty acids composition of total lipids,

Linoleic acid (18=2) and arachidonic acid (20=4) decreased remarkably, and, on the contrary, oleic acid (18=1) and eicosatrienoic acid (20=3) increased. The ratio of the sum of saturated fatty acids and oleic acid to EFA was also elevated remarkably.

2) in fatty acids composition of phospholipids,

This tendency was also observed, though it was not so remarkable as in total lipids.

3. In the clinical materials, the biochemical analysis was also performed on human pancreas biopsied at operation both in the cases of cholelithiasis and in those of other disease as control.

In the pancreas of patients with gallstones, linoleic acid and arachidonic acid decreased though the degree was not so remarkable as in animals. The ratio of the sum of saturated fatty acids and oleic acid to EFA was also more elevated than that in the cases of other diseases.

It might be indicated from these results¹⁾ that metabolic changes may occur in the pancreas or specifically acinar cells on the environment of dietary customs, especially as the result of taking excess of animal fats, and²⁾ that the structure of lipids in cell membranes may be changed, and³⁾ that the pancreas might be easily affected under such conditions as would be called "Predisposition to Pancreatitis" when certain toxic substances or inflammatory agents attack on the pancreas.

I. 緒 言

欧米に於ては急性膵炎の原因として胆道系疾患の与っている比率が、本邦に於けるそれよりもかなり高率であるとされている^{1)~6)} 併し本邦に於ても近年食餌の欧米化に伴い胆石症、就中コレステロール結石の占める割合が漸次増加する傾向にあり、それに伴って今後、本邦に於ても胆石症に合併する膵炎の増加する可

能性が大いに考えられる^{7)~9)}

従来、胆石症に合併する膵炎の発生機序に関しては諸説があり、Opieの提唱せる common channel theory^{1), 11)} や十二指腸液及び胆汁の逆流説等^{12)~15)} が重視されて来た。併し乍ら、そのみでは急性膵炎発症の原因としての胆石症の占める割合が、統計的に本邦と欧米とで著しく異っていることまでは到底説明し難い、

一方動物実験に於て、胆石、就中コレステロール結石では、食餌因子がその発生に重大な影響を及ぼしているという数多くの研究成績^{16)~18)}があり、教室に於ても、胆嚢を有するハムスターの如きを試験として、不可欠脂酸に比して飽和脂酸含量の大なるバター脂のような動物性脂質を豊富に含有した食餌の投与が、胆嚢内コレステロール結石の形成を促す事実を実験的に明らかにしている^{19)~27)}。

山崎は、前述のような臨床的事実に鑑み、ハムスターを実験的コレステロール結石を形成せしめるような食餌と、それを形成せしめないような食餌とで夫々一定期間飼育し、夫々の膵組織から膵腺細胞のみを遊離し、その細胞浮遊液を用いて、ニグロシンによる当該細胞の染色性の差異を利用して、特定膵侵害物質のそれが膜の抵抗性に及ぼす影響を検討し、コレステロール結石を形成せしめるような食餌が投与された試験の膵腺細胞の膜抵抗性はまた著しく減弱するに至っていることを明らかにした^{28)~29)}。

このような点から本研究に於て人体でも、コレステロール結石患者の膵腺細胞と、胆石症以外の患者の膵腺細胞との間に果たして当該細胞膜の膜抵抗性に著しい差異があるかないかを、特定侵害物質としてのトリブシンを用いて、比較検討するとともに、更に実験的にハムスターの胆嚢内にコレステロール結石を形成せしめるような食餌を投与した場合と、その形成をみないような食餌を投与した場合について、夫々当該試験の膵組織中の総脂質及びリン脂質を構成する各種脂酸の測定をも行った。また同時に臨床的にコレステロール結石患者と、それを有しない患者との夫々について、膵組織中の総脂質構成脂酸を併せ測定した。

II. 実験材料及び実験方法

実験：膵腺細胞の膜抵抗性の臨床的研究

当教室に入院したコレステロール結石患者と、それ以外の食餌性影響の殆んどないと考えられる患者で而も開腹術に際し、膵生検を要すると思われる症例のみを特に選び、病理組織学的検索に用いた残りの小膵切片を利用して実験を行った。

膵組織の小片は直ちに洗滌し、それに附着した血液や脂質片を可及的に除くが、この操作は少なくとも3回繰返し行う必要がある。次いで、洗滌後の膵組織を、Puck氏³⁰⁾液を入れた小シャーレ内で、約1mm³の大きさによく切れる眼科用剪刀で細切する。以上の操作後 Puck氏液 50ml. 0.02% EDTA 25ml. 1%パン

クレアチン液25ml. コラゲナーゼ5mg. 結晶トリブシン 5mg. ヒアルロニダーゼ 500単位よりなる消化酵素液25mlを50ml ピーカーに採り、その中に細切した膵組織を移し、37°C恒温槽の中で磁力式攪拌器で200r. p. m. 5分間攪拌する。次いでこれを清潔な4枚ガーゼで濾過し、濾液は棄て、ガーゼに残った残渣のみを更にもう一度同組成の消化酵素液中に添加、37°C, 200 r. p. m. で25分間磁力式攪拌器で攪拌する。これにより膵腺細胞は相互に遊離された状態となる。この液を金属メッシュ 150の濾斗で濾過し、その濾液を採取、遠沈試験管で4°C, 1000r. p. m. の条件で10分間、冷却遠心分離を行う。酵素液を含む上清を棄てて、細胞集団を含む沈渣のみを採取する。これに Hank氏液4:仔牛血清1の混合液30mlを加え、酵素作用を停止させた上、もう一度4°C, 1000r. p. m. で10分間、冷却遠心分離し、その上清を棄てる。沈渣に1mlのHank氏組織培養液を加えることによって目的とする細胞浮遊液が最終的に得られることになる(図1)。

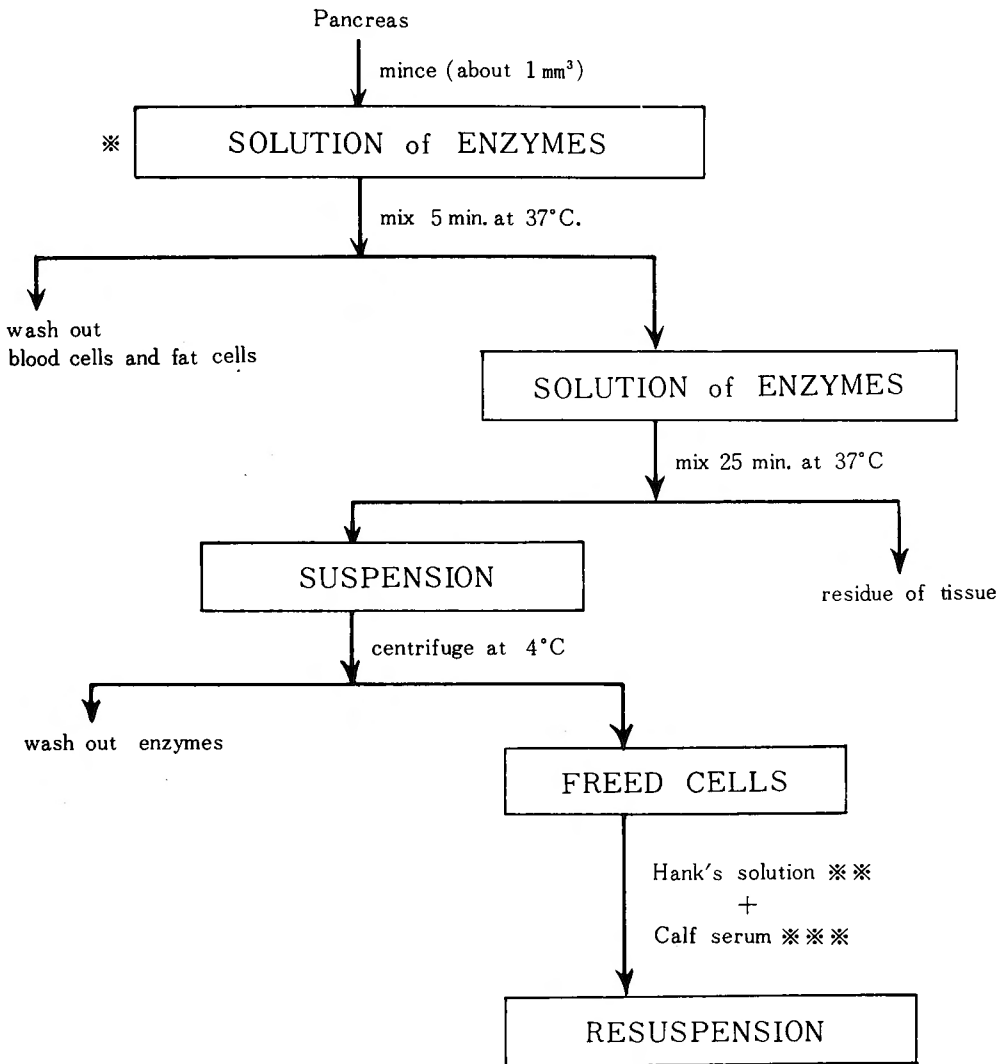
この細胞浮遊液を、梅毒血清検査用の分注盤に、特殊マイクロピペットで0.1mlづつ分注し、結晶トリブシンの倍数希釈液(10⁴ug/ml~1ug/ml)を各々0.1ml宛加えて、37°C, 20分間 incubate する。対照には生食水の0.1mlを各々加えた。

膵腺細胞の膵抵抗性の如何を判定するに当っては、0.3%ニグロシン液を0.04ml加え、2分以内に染色された細胞数を血球計算盤上で検鏡し、全細胞数に対する黒くニグロシンによって染色された細胞数の比率を算定することにより対処した。

実験2：実験的コレステロール結石形成試験に於ける膵組織の脂酸構成比の測定

実験的コレステロール結石形成食と、それを形成せしめない食餌で夫々飼育したハムスターの膵組織について、その総脂質構成脂酸比とリン脂質の構成に与っている構成脂酸比を算出し、比較検討した。

体重40~50gのハムスターを、まず何れも約一週間環境に慣れさせるために市販固型食で飼育した後、次のような種々の食餌に切り換え、更に一定期間飼育、実験に供した。即ち第1群は対照群となし、そのまま市販固型食を投与しつつつけた。第2群には不可欠脂酸であるリノール酸を充分に含有したゴマ油添加食を投与した。第3群にはリノール酸保有量は少ないが、低中級の飽和脂酸を豊富に含有したバター脂を添加した食餌を投与した。第4群にはリノール酸を全く含有しないMCT添加食を投与した、それ等食餌組成の詳細を記



※※ Hanks' Balanced Salt

Solution : 阪大微生物研究所

※※※ 阪大微生物研究所

※ Pucks' Sol. 50ml
 0.02% EDTA 25ml
 Hyaluronidase 500u.
 Collagenase 5mg
 Crystal Trypsin 5mg
 1% Pancreatin sol. 25ml

したのが表1である。試験ハムスターは1匹宛別個に底が金網からなるケージ中に入れ、糞食を避けた。また食餌及び水分の投与に際しては、それらを毎日新鮮なものに交換し、飼育室温も終始20~28℃に保ち、夫々の食餌によって4週間飼育した上、実験に供した。

Table 1. Composition of Experimental Diet.

	Butter fat diet	MCT diet	Sesame oil diet
*1 Glucose	50.0%	50.0%	50.0%
*2 Casein	20.0%	20.0%	20.0%
*3 Choline	0.5%	0.5%	0.5%
*4 Vitamins	1.0%	1.0%	1.0%
*5 Salt mixture	5.0%	5.0%	5.0%
*6 C. M. C.	3.5%	3.5%	3.5%
*7 M. C. T.	—	20.0%	—
*8 Butter	20.0%	—	—
*9 Sesame oil	—	—	20.0%

*1 注射用グルコース：第一製薬

*2 牛乳抽出カゼイン：半井化学薬品

*3 塩化コリン：半井化学薬品

*4 パンビタン末：武田薬品工業

*5 NaCl..... 4.6

NaH₂PO₄..... 9.2

K₂HPO₄..... 25.3

CaH₄(PO₄)₂·H₂O..... 14.3

Ca·lactate..... 36.9

MgSO₄..... 7.0

KI..... 2.6

100.0

*6 Carboxymethyl Cellulose

Sodium Salt：半井化学薬品

*7 Medium Chained Triglyceride

：小野薬品

*8 天然バター：雪印乳業

*9 半井化学薬品

臍組織の採取に当っては、試験をネンブタール麻醉下に開腹し、直ちにそれを全剥出し、生食中で附着した血液や脂質片をまず洗滌除去し、重量測定を正確に行った後、その一定量を採取、ガラス製ホモゲナイザーでホモゲナイズした上、Folch³¹⁾液（クロロフォルムメタノール2:1v/v）20ml中に約12時間室温下に静置した後、臍組織中の脂質を抽出した。次いでこの抽出液をグラスフィルターG₃で濾過し、脂質を含む濾液を30mlの遠沈用試験管に移し、濾液の1/5量に相当する0.02%塩化カルシウム液を添加、よく振盪した

後、10分間静置した上、2000r. p. m. 5分間遠沈し、それを完全に二層に分離せしめた上、上層のみを吸引除去した。脂質を含む下層は、ロータリーエバポレーターで60℃、減圧下に蒸発乾固させた後、それを再びFolch液10mlで溶解、試料とした。本試料の3mlを総脂酸の分析に当て、残り7mlを後述するような方法で薄層クロマトグラフ上に展開、リン脂質分割を分離させ、そのリン脂質分割のみを刷り採り、集め、その構成脂酸の分析に当てた。

1). 総脂質構成脂酸の分析に当っては、試料の3mlを10ml用共栓試験管に採り、溶媒を蒸発乾固させた上、これにエタノール性水酸化カリウム2mlを加え、乾固せる脂質を溶かして、30分間、60℃温浴中で鹼化を行う。鹼化後エチル・エーテル4mlを加え、次いで0.1N硫酸を加えて硫酸酸性となし、よく振盪混和後、静置する。下層の硫酸水層が透明となり完全に二層に分離した後、上層の脂酸を含有するエーテル層のみを金属性の細針をつけた注射器で吸引採取する。なお、血漿、副腎の総脂質構成脂酸も上記の方法で抽出、鹼化し、メチル・エステル化を行い、測定に供した。

2). 鹼化された脂酸は、まずジアゾメタン法³²⁾によりメチル・エステル化した後、ガスクロマトグラフィー法により分析した。メチル・エステル化に際しては、ジアゾメタン発生装置を用いて、発生したジアゾメタンガスを直接脂酸を含むエーテル溶液中に誘導し、液が黄色を呈するまでメチル・エステル化を行った。次いでこれを、窒素気流中で蒸発させ、再び少量の石油エーテルに溶解して、ガスクロマトグラフィー法により脂酸分析を行った。

3). ガスクロマトグラフィー操作条件。

① ガスクロマトグラフィー装置：島津製作所
GC-4 BM. PF型

② カラム：ガラス製、内径3mm、長さ2m.

③ 充填剤：

担体として Chromosorb W. mesh 60~80
液相、25% diethylene glycol succinate.
(和光純薬)

④ 測定条件

Carrier gas : N₂, Flow Rate 60ml/sec (6
kg/cm²G)

Colum Temp. 185℃, Inj. port. 210℃

Sensitive 10²MΩ. Range 8~256

Det. oven 230℃

Detector : hydrogn flame ionization detector

Air : 0.8kg/cm² H₂ : 0.8kg/cm²

- ⑤ Digital Integrator: ITG-2A(島津製作所)
Threshold : ∞uV, Delay : 0 sec.
Filter : (Digital 100, Noise M)
Peak Detector : 10μV/min.

- ⑥ 脂酸の同定には National Institute of Health Hormel Institute(U.S.A.) の標準脂酸を用い、保持比及び ECL を規準にして行った。

4). リン脂質を総脂質から分離³³⁾するに当っては、吸着剤Silica Gel G (Merk社製)を縦25cm, 横20cm, 厚さ3mmの透明ガラス板上に、厚さ0.5mmの薄層に拡げて作製した薄層クロマトプレートを作製使用した。このプレートを活性化(120°C, 100分)後、試料を適度に濃縮し、巾4mmの細線として、マイクロシリンジで負荷した。展開溶剤としては石油エーテル:エチルエーテル:酢酸(85:15:1)の混合溶剤を用い、展開溶剤の飽和した展開槽中で展開せしめた。展開後、薄層の溶剤の蒸発するのを俟って0.03%ローダミン6G, 95%エタノール液をまんべんなく噴霧し、紫外線下に標準物質のリン脂質とRf.を比較確認し、リン脂質分割部のみを刷り採り、それをFolch液で再び溶出し、シリカゲルをガラスフィルターで除去し、リン脂質成分のみを含んだ濾液を、前記1), 2), と同様の方法で鹼化並びにメチル・エステル化した。

実験3:胆石症患者の膵組織の総脂質構成脂酸の分析

さきに述べたように、当教室に入院したコレステロール結石患者と、それ以外の特別の食餌性影響を殆んどないと考えられる患者で、而も開腹術に際して膵生検を必要と思われた症例の切除膵切片の一部を実験材

料に使用した。

膵組織に附着する血液及び脂質片を速やかに生食水で洗滌し、それらを除去した後、その重量を正確に測定し、ホモゲナイザーでホモゲナイズし、Folch液でその含有脂質の抽出を行い、実験2と同様の方法で総脂質構成脂酸比をガスクロマトグラフィーで測定し、コレステロール結石患者の膵組織の総脂質構成脂酸比と、それ以外の患者のそれとを比較検討した。

Ⅲ. 実験成績

実験1

共同研究者、山崎は、ハムスターの生きた膵腺細胞を遊離する際に、Puck 氏液 50ml, 0.02% EDTA 25ml, 1%パンクレアチン 25ml, コラゲナーゼ5mg, ヒアルロニダーゼ 500 単位よりなる消化酵素液を使用しているが、人膵にこれを応用すると、腺細胞の遊離化が、ハムスターに比し長時間を要し、また得られた膵腺細胞浮遊液中に、既に死亡したそれが可成り多数混在し、最早実験の目的を達し得ない憾みがあるところから、著者は山崎の原法に工夫を加え次のような変法を考案、採用した。

既ち400mgの膵切片を材料とした場合、消化酵素液中に、トリプシンを添加しない場合には60分に亘る操作を行ってもその細胞収量は極めて悪く、また90分に亘り操作すると細胞収量が少いばかりでなく、既に死亡した細胞が比較的多く混在するようになることを知った。そこで、まず膵腺細胞の遊離に当たり、結晶トリプシンの10mgを加えてみたところ、このたびはその作用が強力すぎて、30分に亘る操作で、既に腺細胞は多数死亡するに至ることが判明した。ために著者は、結晶トリプシン5mgを加えて図1のごとく操作し、その結果表2の如く、殆んど死亡細胞の含まない、生きた新鮮な膵腺細胞を、而も実験を行なうに足

Table 2. 細胞収量の各種酵素による経時的関係

	Pancreatin EDTA Collagenase Hyaluronidase		(D)		(D)+Trypsin 5mg		(D)+Trypsin 10mg	
	alive	dead	alive	dead	alive	dead	alive	dead
15 min.			21×10 ⁴	0	86×10 ⁴	21×10 ⁴		
30 min.			458×10 ⁴	8×10 ⁴	398×10 ⁴	156×10 ⁴		
60 min.	18×10 ⁴	2×10 ⁴	586×10 ⁴	194×10 ⁴				
90 min.	96×10 ⁴	64×10 ⁴	Goast					

るだけの充分な量 (3~5×10⁶個), 採取する事に成功した。

このようにして得られた細胞浮遊液の一定量に, 生食水を夫々添加した場合の成績を対照として, 結晶トリプシン液 1~10⁴ug/ml を作用せしめた際の膵腺細胞に対する侵害度を測定した結果表3の如き成績を得た。

対照として行った膵腺細胞浮遊液に対する生食水添加の膵腺細胞に対する侵害作用は極く軽微で問題とするに足らないが, トリプシンの膵細胞の膜抵抗性に対する侵害作用は, コレステロール結石を有していた患者では, それを有していなかった患者のそれにくらべて著しく, 明らかにコレステロール結石患者の膵腺細胞の膜抵抗性は減弱して居り, その程度は侵害物質であるトリプシンの濃度が増大するに伴い益々顕著となる傾向を示した。この関係を一括図示したのが図2-2である。これは全くハムスターに於て山崎が行った実験成績ともよく一致した (図2-1)。

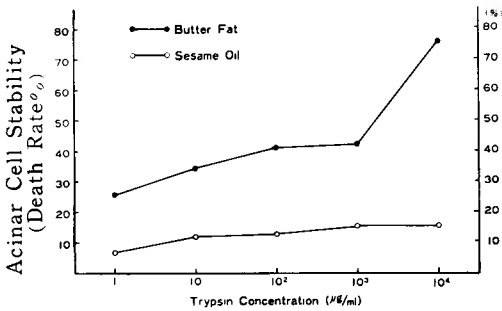


Fig 2-1 Membrane Stability of Pancreatic Acinar Cells (Hamsters)

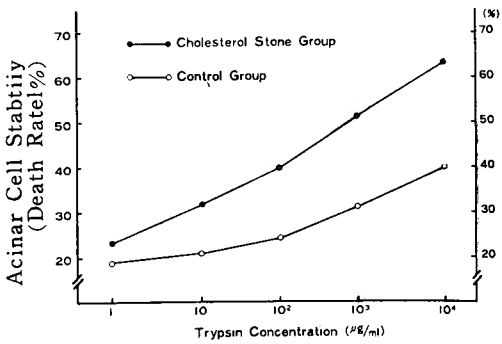


Fig 2-2 Membrane Stability of Pancreatic Acinar Cells (Human)

実験2

ガスクロマトグラフィーで得られた各脂酸の占める比率 (%) を求めてみると, 各食餌群の間に著しい相違点が認められた。即ち,

1) ゴマ油食群と固型食群では, その食餌中に不可欠脂酸を十分に含んで居り, ためにそれを極く僅かしか含んでいないバター食群, あるいは全くそれを含んでいない食群との間には, 膵, 副腎, 更には血漿中の総脂質脂酸構成比に於て著しい差異が認められた。それを表示したのが表4-1, 表4-2である。即ち, 4週間に亘る各食餌による飼育で既にバター食群及び MCT 食群では Octadecadienoic acids と Eicosatetraenoic acids のめ占る比率が夫々に低下し, それに反して Octadecenoic acids の占める比率が著しく増加し, また同時に固型食群やゴマ油食群では殆んど検出されない Eicosatrienoic acidsの増加していることが判明した。このようなパターンは, 従来から指

Table. 3. Stability of Pancreatic Acinar Cells to the Effect of Trypsin (Death Rate : %)

	Trypsin Concentration (ug/ml)					
	Saline	1	10	10 ²	10 ³	10 ⁴
Cholesterol Stone Group (n=7)	20.0±1.2**	24.2±1.8	30.8±1.6	36.5±3.2	46.2±4.0	62.4±3.7
Control Group* (n=5)	17.1±1.1	19.3±0.6	20.1±1.2	24.4±1.4	32.3±2.0	41.6±2.7
Bilirubin Stone Group (n=3)	15.0±0.7	22.2±3.0	23.0±1.0	31.9±2.2	38.6±0.2	46.6±1.4

* Control Group

** Standard Error of the Mean

- Ulcus vent. (2)
- Carcinoma vent. (2)
- I. T. P. (1)

摘されてきた「不可欠脂酸欠乏パターン」に相当するもので、就中このようなパターンはMCT食群の血漿に於て最も著明に認められた。併し、それに劣らず膵組織で同様のパターンが認められた(図3)。

2) 更に膵組織中のリン脂質分割のみを分離採取して、その脂酸構成比を全く同様に、ゴマ油食群、固型食群、バター食群及びMCT食群の各々について測定、比較、検討してみると、表5、図4に示すように、リン脂質分割についてみてもやはり実験的コレステロール結石の形成をみるバター食群、MCT食群ではOctadecadienoic acids と Eicosatetraenoic

acids の占める比率が夫々低下しているのに対して、Octadecenoic acids 及び Eicosatrienoic acids は共に顕著に増加していた。併し、その程度は総脂質についてみた場合より軽度ではあるが、総脂質構成脂酸比についてみた場合と同様にリン脂質分割のみについてみてもやはり明らかな不可欠脂酸欠乏パターンを示している。

3) 以上の成績を更に簡明に表示する意味で体内で他の栄養素からも合成し得る $C_8 \sim C_{18}$ 飽和脂酸及び

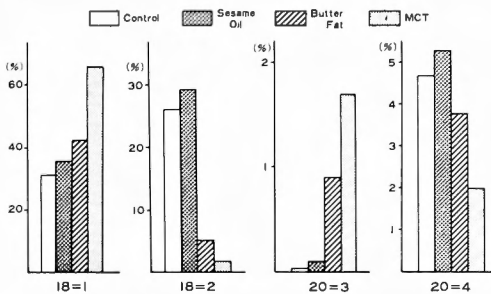


Fig 3 Fatty Acid Composition of Pancreas in Hamsters (Total Lipids)

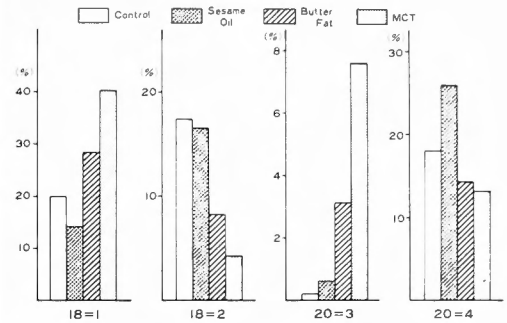


Fig 4 Fatty Acid Composition of Pancreas in Hamsters (Phospholipids)

Table. 4-1 Fatty Acid Composition of Pancreas in Hamsters (Total Lipids)

	Control diet group (n=10)	Sesame oil diet group (n=6)	Butter fat diet group (n=8)	MCT diet group (n=5)
C_{8-0}	(—)	(—)	$0.1 \pm (<0.1)$	$0.1 \pm (<0.1)$
C_{10-0}	Trace	(—)	$0.1 \pm (<0.1)$	$0.1 \pm (<0.1)$
C_{12-0}	Trace	Trace	$0.6 \pm (<0.1)$	$0.1 \pm (<0.1)$
C_{14-0}	$1.4 \pm 0.1^*$	1.7 ± 0.9	4.5 ± 0.4	$1.2 \pm (<0.1)$
C_{15-0}	$0.2 \pm (<0.1)$	$0.1 \pm (<0.1)$	$0.5 \pm (<0.1)$	Trace
C_{16-0}	25.5 ± 0.4	19.2 ± 1.7	27.6 ± 0.8	22.1 ± 0.6
C_{16-1}	0.9 ± 0.3	$0.3 \pm (<0.1)$	3.1 ± 0.4	1.9 ± 0.5
C_{17-0}	Trace	(—)	0.3 ± 0.1	(—)
C_{18-0}	4.9 ± 0.6	5.3 ± 0.8	5.5 ± 0.7	2.1 ± 0.4
C_{18-1}	31.1 ± 1.5	35.0 ± 0.9	43.9 ± 0.8	65.0 ± 1.2
C_{18-2}	26.1 ± 1.3	28.8 ± 2.4	5.0 ± 0.3	1.8 ± 0.4
C_{18-3}	2.7 ± 0.2	0.6 ± 0.1	2.5 ± 0.2	0.6 ± 0.1
C_{20-3}	Trace	$0.1 \pm (<0.1)$	0.9 ± 0.1	1.7 ± 0.3
C_{20-4}	4.7 ± 0.5	5.3 ± 0.4	3.8 ± 0.2	2.0 ± 0.2
C_{20-5}	$0.4 \pm (<0.1)$	Trace	0.6 ± 0.2	Trace
C_{22-5}	0.5 ± 0.1	$0.1 \pm (<0.1)$	$0.3 \pm (<0.1)$	Trace
C_{22-6}	1.0 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.2	$0.1 \pm (<0.1)$

* Standard Error of the Mean

Table. 4-2 Fatty Acid Composition of Plasma & Suprarenal Grand in Hamsters (Total Lipids)

	Plasma				Suprarenal Grand			
	Control diet group	Sesame oil diet group	Butter fat diet group	MCT diet group	Control diet group	Sesame oil diet group	Butter fat diet group	MCT diet group
C ₈₋₀	Trace	(-)	Trace	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
C ₁₀₋₀	0.1	(-)	Trace	Trace	0.1	Trace	0.1	Trace
C ₁₂₋₀	0.1	0.1	0.6	Trace	0.1	0.1	0.5	Trace
C ₁₄₋₀	0.3	0.1	3.3	1.6	1.0	0.5	5.2	0.9
C ₁₅₋₀	Trace	(-)	0.3	Trace	0.2	Trace	0.5	Trace
C ₁₆₋₀	22.6	18.9	28.9	26.5	22.9	14.5	26.1	18.2
C ₁₆₋₁	0.7	0.3	2.5	0.8	1.1	Trace	0.6	2.0
C ₁₇₋₀	0.2	0.1	0.4	Trace	0.1	Trace	0.1	0.2
C ₁₈₋₀	10.2	13.3	5.1	7.3	5.0		2.9	5.5
C ₁₈₋₁	19.4	18.8	43.0	48.3	35.6	48.5	53.0	65.5
C ₁₈₋₂	34.4	39.4	6.4	4.7	27.1	32.7	4.1	1.8
C ₁₈₋₃	1.3	0.6	2.8	0.9	3.3	0.7	3.0	1.2
C ₂₀₋₃	0.2	Trace	0.6	5.4	Trace	(-)	0.3	1.3
C ₂₀₋₄	4.0	7.8	2.5	3.1	3.2	2.6	2.2	1.9
C ₂₂₋₅	2.2	(-)	Trace	0.3	0.1	Trace	Trace	Trace
C ₂₂₋₆	3.1	0.1	2.0	1.1	0.3	Trace	Trace	Trace

Table. 5. Fatty Acid Composition of Pancreas in Hamsters (Phospholipids)

	Control diet group (n=10)	Sesame oil diet group (n=6)	Butter fat diet group (n=8)	MCT diet group (n=5)
C ₁₂₋₀	Trace (%)	(-) (%)	Trace (%)	Trace (%)
C ₁₄₋₀	Trace	Trace	0.2±(<0.1)	0.1±(<0.1)
C ₁₅₋₀	Trace	(-)	0.2±(<0.1)	Trace
C ₁₆₋₀	20.8±0.6*	21.3±0.3	23.9±0.8	18.4±0.4
C ₁₆₋₁	0.5±0.1	Trace	1.4±0.1	1.1±0.1
C ₁₇₋₀	0.1±(<0.1)	Trace	0.3±(<0.1)	0.3±(<0.1)
C ₁₈₋₀	9.6±0.8	14.3±0.2	10.9±0.9	8.6±0.2
C ₁₈₋₁	20.7±1.2	15.5±0.8	28.5±1.7	40.2±2.4
C ₁₈₋₂	17.5±1.9	16.6±0.4	8.0±0.3	4.3±0.8
C ₁₈₋₃	0.8±0.1	0.1±(<0.1)	0.5±(<0.1)	0.8±(<0.1)
C ₂₀₋₃	0.1±(<0.1)	0.3±(<0.1)	3.1±0.6	7.6±0.8
C ₂₀₋₄	18.2±1.5	25.7±0.5	13.9±1.4	13.4±1.7
C ₂₀₋₅	0.8±0.1	Trace	2.0±0.2	1.3±0.2
C ₂₂₋₅	2.8±0.3	0.1±(<0.1)	1.0±(<0.1)	0.1±(<0.1)
C ₂₂₋₆	4.8±0.4	1.0±0.3	2.9±0.3	1.7±0.3

* Standard Eronor. of the Mean.

Table 6. Fatty Acid Pattern of Pancreas in Hamsters

	Total Lipids		Phospholipids	
	S.F.A+Oleic/E.F.A	C ₂₀₋₃ /C ₂₀₋₄	S.F.A+Oleic/E.F.A	C ₂₀₋₃ /C ₂₀₋₄
Control Diet Group	2.05	0	1.40	0.005
Sesame Oil Diet Group	1.80	0.02	1.20	0.011
Butler Fat Diet Group	7.50	0.24	2.90	0.227
M.C.T. Diet Group	24.26	0.85	3.80	0.588

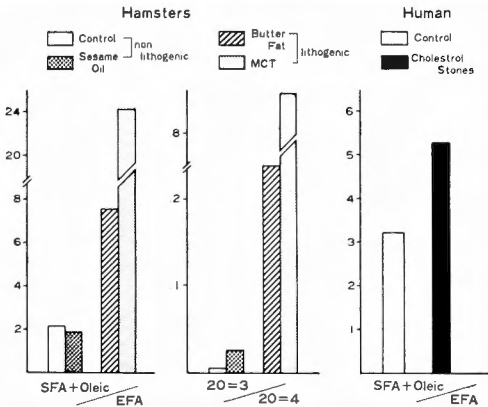


Fig 5 Fatty Acid Pattern (Total Lipids)

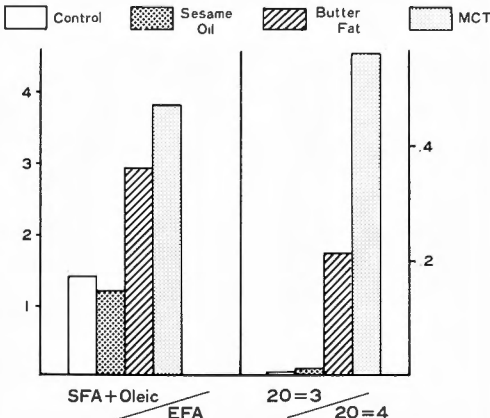


Fig 6 Fatty Acid Pattern of Pancreas in Hamsters (Phospholipids)

Octadecenoic acids の総和に対する不可欠脂酸の比を各群試験の膵組織中の総脂質及びリン脂質分割について求めてみたのが表 6、及び図 5、図 6 である。然るに、不可欠脂酸を十分に保有する食餌を投与されたゴマ油食群及び固型食群に較べて、それを食餌中に極く少量保有するか、あるいは保有しない食餌で飼育さ

れたバター食群及び MCT 食群ではそれが遙かに高値を示し、就中 MCT 食群で著しかった。リン脂質構成脂酸についてみても、全く同様の傾向が認められたが、唯その程度が総脂質についてみた際に較べ少々軽度であったに過ぎない(表 6, 図 6)。

また C₂₀₋₃/C₂₀₋₄ 比を求めてみると表 6, 図 5, 図 6 のごとくなる。

実験 3

開腹術に際して、膵生検により得られたコレステロール結石患者及び対照患者の膵小切片について、その総脂質構成脂酸比を求めてみたのが表 7 である。

即ちコレステロール結石患者の膵組織中の総脂質中に占める Octadecadienoic acids の割合は、動物実験に於ける程著明に低下していないか、対照群患者のそれに較べると明かに低値を示している。殊に Eicosatetraenoic acids についてみると更にその異

Table 7. Fatty Acid Composition of Human Pancreas (Total Lipids)

	Cholelithiasis Group	Control Group
C ₁₄₋₀	2.4 ± 0.1*	1.6 ± 0.1
C ₁₅₋₀	0.2 ± (<0.1)	0.1 ± (<0.1)
C ₁₆₋₀	26.4 ± 0.5	23.8 ± 0.7
C ₁₆₋₁	6.4 ± 0.6	3.6 ± 0.7
C ₁₇₋₀	0.1 ± (<0.1)	0.1 ± (<0.1)
C ₁₈₋₀	2.9 ± 0.4	7.6 ± 1.1
C ₁₈₋₁	40.8 ± 1.7	33.0 ± 2.1
C ₁₈₋₂	12.5 ± 1.1	17.5 ± 1.2
C ₁₈₋₃	2.0 ± 0.1	1.9 ± 0.1
C ₂₀₋₃	0.2 ± (<0.1)	0.9 ± 0.6
C ₂₀₋₄	1.4 ± 0.2	3.4 ± 0.3
C ₂₀₋₅	0.5 ± (<0.1)	1.5 ± 0.1
C ₂₂₋₅	0.3 ± (<0.1)	0.5 ± 0.1
C ₂₂₋₆	1.1 ± 0.1	3.1 ± 0.2

* Standard Error of the Mean

は顕著で、対照群患者に較べてコレステロール結石患者のそれは約40%低値を示していた。そして前述の動物実験成績同様、コレステロール結石患者の膵組織中の Octadecenoic acid は著しく増加し、コレステロール結石患者の膵組織は不可欠脂酸欠乏状態、乃至はそれが代謝障碍、殊に後者の状態下にあることを思わしめるパターンを呈していた(図7)。

これを動物実験に於ける成績と同様に、飽和脂酸と Octadecenoic acids の総和に対する不可欠脂酸の比として表せば表8、図5、図8のごとくなる。

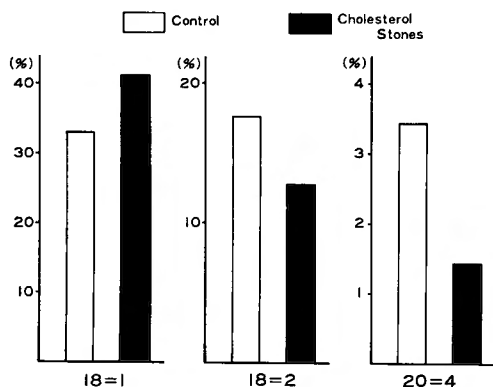


Fig 7 Fatty Acid Composition of Human Pancreas

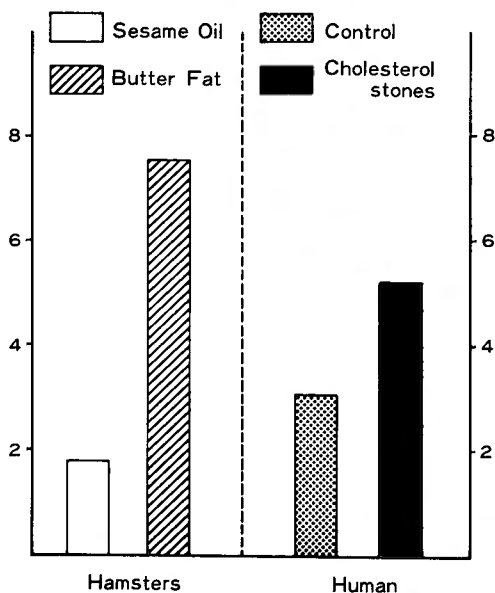


Fig 8 Fatty Acid Pattern (Total Lipids) SFA+Oleic/EFA

Table 8. Fatty Acid Pattern of Human Pancreas

	S.F.A + Oleic/E.F.A
Control Group	3.16
Cholelithiasis Group	5.24

Ⅳ. 考 按

1934年既に Dragstedt は、膵炎の発生と食餌としての脂質摂取との間には何等かの関連性があるのではないかということを描している。併し、最近では寧ろアルコールの摂取及び胆石の存在が膵炎の発生に最も重要な因子と一般に広く見做されるに至っている。胆石の存在をその原因と考える根拠は、common channel theory にみられるように、総胆管結石の嵌頓による胆汁の膵管内への逆流、あるいは胆嚢炎もしくは胆道炎に際して惹起される可能性のある感染胆汁や十二指腸液の逆流等にもとづくものである。また食餌としての脂質の摂取を問題としている学説にも、それが単に膵液の過剰分泌を促がすとする考え方にもとづくもので、その食餌中の質的、量的内容を問題とするものではない。

他方臨床的観察に於ても、欧米では急性膵炎の原因として胆道疾患の与っている比率が本邦に於けるそれよりもかなり高率ではあることが従来から指摘されて来た。併し、その真の原因は未だ解明されていないといつてよい状態である。

教室では従来から胆石症、就中コレステロール結石の成因として、食餌として摂取された脂質の質的内容が重要な役割を演じていることを、臨床的並びに基礎的に立証して来た。そこで本研究に於ても、胆石症、就中コレステロール結石に合併する膵炎も亦そのような体内脂質代謝異常と深い関連性を有し、両者の発生機序を一元性に論じ得られるのではないかと考え、実験に匡した。

さきに、共同研究者山崎は、実験的コレステロール結石形成食を投与した試獣の膵腺細胞に対するトリプシン等の特定膵侵害物質の膜抵抗性に対する影響を、それがコレステロール結石をみないような食餌を投与された対照群のそれに較べて著しく低下していることを、実験的に明らかにした(図2-1)。

そこで、このような事実が、果たして臨床的にも認められ得るかどうか、既ちコレステロール結石患者の膵腺細胞の、そのような特定の膵侵害物質に対する膜

抵抗性が、対照患者のそれよりも低下しているかどうかを検討してみた。然るに、予測したようにコレステロール結石を有しない患者の腍腺細胞の膜抵抗に較べて、コレステロール結石患者のそれは明らかに減弱しており、而もそこに作用させたトリプシンのような特定の腍侵害物質の濃度が上昇するに伴い、益々、両者の膜抵抗性の差異が顕著となることを立証し得たのである(図2-2)。

このことは胆石症、就中コレステロール結石患者では、何等かの腍侵害条件が加わると、そこに容易に腍炎が発生するに至るという *Predisposition* ともいふべき準備状態—素因が醸もし出されるに至っていることを物語るものといえよう。

犬に於て、過動物性脂質食の摂取が、腍腺細胞の膜抵抗性を減弱せしめるに至ることをさきに Haig^{35), 36), 37)} は実験的に立証、提唱している。即ち、Haig はその実験に際し、一種の動物性脂質であるラードを単に投与したというに過ぎず、投与脂質の質的問題には何等言及されることもなく、また考慮もしていない。

前述のように、共同研究者、山崎は、さきに教室先人が見出した実験的コレステロール結石形成食で飼育した試獣の腍腺細胞の膜抵抗性は、著しく低下していることを明らかに示したが、彼は、それら実験的コレステロール結石を形成せしめるような食餌中には、何れも不可欠脂酸が欠乏、乃至は極めて少く、ために一種の *Lipoprotein complex* である膜構造に著しい欠陥を来すに至っていたためと推測した。事実不可欠脂酸の投与は、実験的コレステロール結石の形成を阻止するばかりでなく、また同時に膜構造をも健全に保つためか、斯る試獣の腍腺細胞の膜抵抗性も亦、全く正常に保持されていることを立証している。

室家³⁸⁾ は肝スライスを以てする C^{14} 標識アセートからのコレステロール生合成能について実験的に匡し、実験的コレステロール結石形成食餌を試獣に投与する時、5週間を経ると、それが最高潮に達することを明らかにするとともに、それに一致して3~4週目に至ると実験的コレステロール結石の形成を試獣の胆嚢内にみるようになることを立証しているところから、本実験に於ても、実験開始後4週目の腍組織を摘出して、その総脂質並びにリン脂質分割構成脂酸比を検討した。然るに表4-1、図3に示すように、実験的コレステロール結石の形成をみる MCT 食群やバター食群では、*Octadecadienoic acids* と *Eicosatetraenoic acids* の占める比率が夫々著明に低下、それ

に反して *Octadecenoic acids* 並びに *Eicosatrienoic acids* のそれが著しく増加し、典型的な不可欠脂酸欠乏パターンというべき状態を呈していた。

このことは何も腍のみに限らず、表4-2に示すように、血漿総脂質や副腎のそれについて測定した構成脂酸比の上にもよく示されていた。

以上は腍組織の総脂質についてみた成績であるが、そのリン脂質分割のみについてみた脂酸構成比に於ても亦、コレステロール結石形成食餌を投与された試獣では、やはり有意の不可欠脂酸欠乏パターンを示していることを、本実験を施行することによって確認し得た(図4、図6)。

そこで、更にこのような事実が臨床的に、コレステロール結石患者の腍組織についても認められるかどうかを検討したが、その際にも図5、図7、図8、表7、表8に示すように、不可欠脂酸欠乏状態乃至は代謝障下にあると考えて然るべき結果を得た。

更に山崎がさきに行った実験成績と、本研究の実験成績にもとずいて、共同研究者、竹中³⁹⁾ が行った *in vivo* に於ける実験的腍炎惹起の成績によると、即ち試獣としてハムスターを使用、それにコレステロール結石の形成をみる不可欠脂酸欠乏食餌と、その形成をみない不可欠脂酸を充分に保有した食餌を夫々投与した上、それら試獣に実験的に腍炎を惹起せしめ得るような条件を負荷するという *in vivo* に於ける実験に際し、前者では顕著な出血性浮腫性腍炎が惹起せられ得たのに対し、後者では極めて僅微の変化に止まり、これといった著しい変化を腍に認め得なかったことは、以上の事実並びに考え方の妥当性をよく端的に裏付けているものと考えらる。

脂質は蛋白と共に、細胞の膜構成に重要な構成成分として与って居り、就中リン脂質、コレステロール及びコレステロール・エステルは、その主構成成分として与っていることは周知の如くである^{40)~43)}。食餌として摂取する脂質を構成する脂酸の種類が如何が、膜構成に与かるそれら脂質構成脂酸の上にもよく反映することは、さきに Walker 等^{49)~45)} の指摘したところであり、更に O'Brien⁴⁷⁾ や Van Deenen⁴⁷⁾ 等は、細胞膜の安定性は、*Lipoprotein* として膜構成に与かっている脂酸の種類如何に一部依存していることを明かにしている。これ等の事実から、体内不可欠脂酸の欠乏、乃至はその代謝障下は、細胞の膜構成に異常をもたらし、膜抵抗性の減弱を招来せしめるに至るであろうことは充分に推測され得ることである。

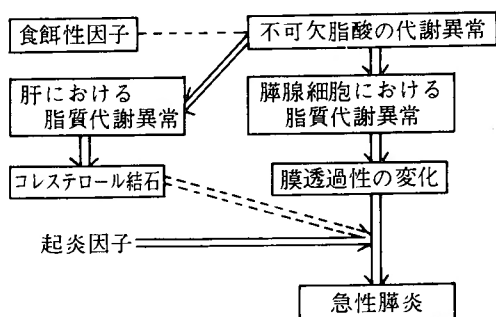


Fig 9 胆石症に合併する膵炎の発生機序

このように考えて来るならば、胆石、就中コレステロール結石に合併する膵炎の発生機序は図9のように要約されて然るべきであろう。食餌性に不可欠脂酸欠乏状態、乃至はその代謝障害ともいふべき状態が招来されると、そこに当該試獣の胆嚢内にコレステロール結石の形成をみると同時に、他方膵では、膵腺細胞の膜構成にも異常を生じ、膜抵抗性の減弱を招き、そこに膵炎の発生を促がす外因子が作用する時は、容易に急性膵炎へと進展する素因が醸もし出されるに至っているもので、コレステロール結石の存在は、そこに急性膵炎を惹起せしめるような外的因子としての膵侵害物質の作用することを、益々助長せしめるように働き、そこに外的並びに内的因子の両者が相俟って、急性膵炎の発生へと進展せしめるに至るものと考えることが出来よう。従って、此処にコレステロール結石の成因とそれに合併する急性膵炎のそれとは、よく一元的に説明し得られるに至ったわけである。

V. 結 語

急性膵炎の原因として、胆道疾患、就中コレステロール結石がどのような機序で与かっているかについては、未だ解明されていない。本研究は、このような点を解明する目的で、さきに教室で行われたコレステロール結石の成因についての研究成果にもとづいて考案された実験的コレステロール結石形成食餌を、試獣に投与した際の膵組織並びに、コレステロール結石患者の膵組織について、脂質代謝という新しい立場から検討を加えるとともに、それら膵腺細胞の膜抵抗性についても検討、次のような結論に到達した。

(1) 人膵組織から遊離膵腺細胞浮遊液を得るためには、1%パンクレアチン液 25ml, 0.02% EDTA 液 25ml, コラゲナーゼ 5mg, ヒアルロニナーゼ 500 単位, トリプシン 5mg 及び Puck 氏液 50ml の混合液を

用い、37°C下に磁方式攪拌器で 200r. p. m. 30分間攪拌する方法が最も適切である。

(2) 胆石症、就中コレステロール結石患者の膵腺細胞のトリプシンの如き特定膵侵害物質に対する膜抵抗性は、著しく減弱している。

(3) 実験的コレステロール結石の形成をみる食餌と、その形成をみない食餌とを夫々投与飼育した試獣の膵組織の総脂質及びリン脂質構成脂酸比を、ガスクロマトグラフィー及び薄層クロマトグラフィーを用いて測定した結果、膵組織の総脂質並びにリン脂質構成脂酸比は、明らかに食餌中に含まれる脂質の影響を受け、而も前者では、その膵腺細胞の膜抵抗性は後者に較べて明らかに減弱していた。

(4) コレステロール結石患者の膵組織の総脂質構成脂酸比から眺めると、コレステロール結石患者は、不可欠脂酸の欠乏乃至はその代謝障害下にあるものと考えて然るべき結果が得られた。

(5) また、コレステロール結石患者の膵腺細胞の特定膵侵害物質に対する膜抵抗性は、明らかに低下していたが、この低下は、一種の Lipoprotein complex である膜構成の異常によるものと考えられる。

(6) 本実験を施行することによって、コレステロール結石の成因とそれに合併する急性膵炎のそれとが、よく一元的に説明し得られることを知った。

(7) 即ち、食餌性に不可欠脂酸欠乏状態乃至はその代謝障害ともいふべき状態が招来されると、そこにコレステロール結石の形成をみるばかりでなく、同時に膵腺細胞のトリプシンの如き特定膵侵害物質に対する膜抵抗性も減弱し、而もコレステロール結石の存在は当然そこに急性膵炎発生の外因子としての特定膵侵害物質が、作用することを益々助長せしめるように働くことになるからである。

(8) 従って、本邦に於てもコレステロール結石患者が漸次増加しつつある現在、それに伴って急性膵炎患者も亦、今後増加して来るものと思われる。

稿を終るに当たり、終始御助言御指導を賜り、且つ御校閲を戴いた恩師日笠頼則教授、並びに共同研究者谷村弘博士、山崎英博先生に深く感謝の意を表する。

本論文の要旨は

第15回消化器病学会秋期大会

第7回成人病研究会

に於て夫々発表した。

なお、昭和47年度文部省科学研究費(一般研究B)及び昭和48年度病態代謝研究奨励金の補助のもとに、本

研究が行われたことを附記し、感謝の意を表する。

文 献

- 1) Schmiden, V., Sebening, W.: Chirurgie des Pankreas. Langenbecks Arch. Klin. Chir. 148, 319, 1927.
- 2) Ivy, A. C., Gibbs G.E. Surg, 31, 614, 1952.
- 3) Bumm, H. W., Welte, W. : akute autodigestiv-tryptische Pankreatitis. Theoretische Grundlagen und klinische Erfahrungen. Chir, 32, 108, 1961.
- 5) Haim, E. akute Pankreatitis, Med. Klin. 1813, 1964.
- 5) Herbert Scholze: Die Pankreatitis, Ätiologie der akuten Pankreaserkrankungen, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
- 6) Ziegler, A., Schauman, M. : Klinik und Therapie der akuten Pankreatitis an Hand von 117 Fällen. Schweiz. med. Wsch, 96, 962 1966.
- 7) 西村正也, 中山文夫: 胆石生成の生化学, 日本臨床 24(6), 1017, 1966.
- 8) Maki, T. et al. Differences in clinical manifestation of chronic pancreatitis between the Japanese and Western peoples. Tohoku J. Exp., 92, 291, 1967.
- 9) 谷村弘: 日本人の食事の欧米化とその危険性, 特に胆石発生を中心として, 京都医誌 20, (2), 93, 1971.
- 10) Opie, E. L., : The relation of cholelithiasis to disease of the pancreas and to fat necrosis. Amer. J. med. sci 27-43, 1901.
- 11) Halsted, W. S., : Retrojection of bile into pancreas, a cause of acute hemorrhagic pancreatitis. Johns Hopk. Hosp. Bull 12, 178, 1901.
- 12) Dragenstedt, L. R., Haymond, E., Eliis, J. C., : Pathogenesis of acute pancreatitis. Arch. Surg. 28, 238, 1934.
- 13) Janowitz, H.D., et al : Is there Pancreatic ductal obstruction in chronic pancreatitis? An analysis of the functional transsphincteric pancreatic and biliary flow in Patient with and without pancreatic disease. Gastroent. 36, 12, 1959.
- 14) Nieder, F. F., : Über die Ostiumstenose der Papilla Vateri. Fortsch. Röntgenst. 103, 147, 1965.
- 15) Mallet-Guy, P., et al : Analyse expérimentale des premières heures de l'obstruction cholédochienne. Lyon chir. 57, 496, 1961.
- 16) Dam, H., and Christensen, F. : Alimentary production of gallstones in hamsters. Acta Path. Microbiol. Scand. 30, 236, 1952.
- 17) Borgman, R. F. and F. H. Haselden. : Cholelithiasis in rabbits. : Influence of dietary roughage on gallstone formation, Am. J. Vet. Res., 323, 433, 1971.
- 18) Borgman, R.F. and F. H. Haselden : Cholelithiasis in rabbits as affected by types of dietary fat. Am. J. Vet. Res. 28 (125). 1161, 1967.
- 19) 日笠頼則ほか: Polyenoic Fatty Acid をめぐる臨床的諸問題, 特に外科的立場から, (その1) (その2) (その3) 最新医学 22, 796, 937, 1227, 昭42
- 20) Hashimoto, K : Experimental studies on gallstone in hamsters. Arch. Jap. Chir. 356, 981, 1966.
- 21) Tanimura, H. : Experimental studies on the etiology of cholelithiasis. Arch. Jap. Chir. 38, 107, 1965.
- 22) Maruyama, I. : Effect of essential fatty acid and pyridoxin on the formation of gallstones, especially cholesterol stones. Arch. Jap. Chir. 341, 19, 1964.
- 23) Yoshinaga, M : Experimental studies on the initiating factor of cholesterol gallstones, especially on the influence of essential fatty acids and pyridoxin on the bile constituents. Arch. Jap. Chir. 34(1). 1, 1964.
- 24) Hikasa, Y., et al. : Initiating factors of gallstones, especially cholesterol stones, I. Arch. Jap. Chir. 33, 601, 1964.
- 25) Hikasa, X., et. al Initiating factors of gallstones, especially cholesterol stones II. Arch. Jap. Chir. 34, 1430, 1965.
- 26) Hikasa, Y., et al : Initiating factors of gallstones, especially cholesterol stones III. Arch. Jap. Chir. 38, 107, 1969.
- 27) 谷村弘, 塩田隆三, 室家大久, 日笠頼則: 胆石症とりわけコレステロール系結石の成因日本臨床 31(6). 169, 昭48.
- 28) 谷村弘, 山崎英博, 小山高宣, 日笠頼則: 胆石症に合併する膵炎の発生機序について, 臨床成人病, 2(10), 207, 昭47
- 29) Yamazaki, H., Experimental studies on initiating factors of pancreatitis associated with gallstones, especially cholesterol stones. Arch. Jap. Chir. 42(2). 196, 1973.
- 30) 山田正篤: 組織培養基礎と応用朝倉書店東京, 昭45.
- 31) J. Folch, M. Less, G.H. Sloan-Stanley: A. Simple Method for the Isolation of Total Lipids from Animal Tissue. J. Biol. Chem. 226. 497, 1957.

- 32) T.J. DeBoer and H.J. Backer · *Rec Trav. Chim.*, **73**, 229, 1954.
- 33) H. Schlenk, J. L. Gellerman ; *Anal. Chem.*, **32**, 1412, 1960.
- 34) 今井陽, 坂上利夫 : 脂質の生化学, 朝倉書店, 東京, 昭和48.
- 35) Haig, T. H. B. : *Methods in Pancreatitis Research Using Living Acinar Cells. Can. J. Surg.* **13**, 125 1970.
- 36) Haig, T. H. B. : *Nutritional Alteration of Pancreatic Acinar Cell Stability. Annal. Surg.* **172**(5), 852, 1970.
- 37) Haig, T. H. B. : *Experimental pancreatitis intensified by a high fat diet. S. G. O.* 914, 1970.
- 38) Muroya H., : *Stimulative effect of dietary glucose on hepatic cholesterol biosynthesis and formation of cholesterol gallstones in hamsters. Arch. Jap. Chir.* **37**(1), 76, 1968
- 39) 竹中正文 : 日本外科宝函投稿中.
- 40) P. Weber : *Z. Naturforsch.* **170**, 683, 1962.
- 41) D. E. Green et al : *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **5**, 109, 1961.
- 42) R. S. Criddle : *Biochem. of chloroplast Vol. I* ed. T. W. Goodwin, Academic Press 3, 1966.
- 43) E. D. Korn : *Science* **153**, 1419, 1963.
- 44) Walker, B. L., and Kumerow E. A. *Proc. Soc. Exp. Biol. med* 1099, 1964, Cited by J. D. Robinson in, *Interaction between protein Sulphydryl groups and lipid double bonds in biological membranes. Nature* 212, 199, 1966.
- 45) Hilditch, T. P. : *The chemical construction natural fats.* 4rd Ed. N.Y., John Wiley and Sons, 1956.
- 46) O'Brien, N. J. S. : *Cell membranes ; composition ; structure ; as well as function, J. Theor. Biol.* **15**, 307, 1967.
- 47) Van Deenen, L. L. M., : *Some structural and dynamic aspects of lipids in biological membranes. Ann. N.Y. Acad. Sci.* **137**, 717, 1966.