

ビタミンEの膵炎発生機序に関する研究

京都大学医学部外科学教室第2講座（指導：日笠頼則教授）

加 藤 仁 司

〔原稿受付：昭和57年3月10日〕

An Experimental Study of Vitamin E on the Etiology of Pancreatitis

HITOSHI KATO

Second Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Dr. YORINORI HIKASA)

It has been already reported that a deficiency of polyunsaturated fatty acids or essential fatty acids (EFA) is one of the diathesis of pancreatitis, especially in gallstone pancreatitis. An EFA deficient diet causes instability of the pancreatic acinar cell membrane, and severe experimental pancreatitis occurs more frequently in hamsters fed on an EFA deficient diet than on an EFA sufficient diet. Therefore fat emulsions which contain a large amount of EFA have been used for the treatment of patients with pancreatitis and the results were satisfactory.

During this treatment, it was found that serum levels of vitamin E increased and this increase was derived from soy bean oil contained in the fat emulsion. Vitamin E is closely related to EFA and membrane stability. And patients with pancreatitis show low levels of serum vitamin E. Thus in this study, the role of vitamin E in the etiology of pancreatitis was examined experimentally.

Hamsters were weaned at three weeks of age and divided into three groups: vitamin E sufficient (dl- α -tocopheryl nicotinate 23.4 mg/100 g diet) and stripped corn oil added diet (Group 1), vitamin E deficient (less than 0.5 mg/100 g diet) and stripped corn oil added diet (Group 2) and vitamin E deficient diet (same dose as Group 2) without stripped corn oil (Group 3). These diets were fed for four weeks.

1) Vitamin E (α -tocopherol) levels in serum, pancreas, liver and spleen were measured using HPLC method reported previously by the author. The serum and tissue levels of α -tocopherol were highest in Group 1, and lowest in Group 2 which was fed on EFA added diet without vitamin E.

2) Lipid peroxide levels were measured in serum and pancreatic tissue as tiobarbituric acid

Key words: Vitamin E, Pancreatitis, Lipid peroxide.

索引語：ビタミンE、膵炎、過酸化脂質。

Present address: Second Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto, 606, Japan.

(TBA) value. Group 2 showed highest levels of TBA value in both serum and pancreatic tissue and Group 3 showed lowest levels.

3) Pancreatitis was induced by infusion of 0.2 ml saline containing taurocholate and trypsin into the pancreatic duct under 25 cm H₂O pressure. After 24 hours, the severity of pancreatitis was evaluated; severe pancreatitis occurred more frequently in the vitamin E deficient diet group (Groups 2 and 3) than in the vitamin E sufficient diet group (Group 1) ($p < 0.005$). Although in Group 3, severe pancreatitis was recognized somewhat more frequently than in Group 2, this difference was not significant.

4) The diffuse hemorrhage was more frequent in Group 2 than in Group 3, on the other hand the fat necrosis was more frequent in Group 3 than in Group 2.

5) The serum and urinary levels of amylase were also higher in Groups 2 and 3 than in Group 1. The histological findings were almost the same as those of macroscopic findings.

These findings suggest that vitamin E is an important factor in the etiology of pancreatitis.

は じ め に

急性肺炎の発生機序については、種々の学説が提唱され、かなり解明されてきたとはいえ、現在なお意見の一致をみない点も少なくない。とくに、発生原因として最も多い胆石による肺炎に関しては、谷村らが栄養学的立場から研究をすすめて、必須脂肪酸欠乏がコレステロール胆石を高率に生ぜしめるとともに⁵³⁾、脾臓細胞の膜構成成分の異常をもたらす、膜の安定性を低下せしめ「肺炎準備状態」となっていることを明らかにしてきた^{50, 52, 59)}。さらに臨床的にも肺炎の治療として、必須脂肪酸を多く含む脂肪乳剤を投与し良好な成績を得てきた^{24, 29, 52)}。その際、著者らは脂肪乳剤投与中、その中に含まれているビタミンEが血中に直接投与されることとなり、血清総ビタミンE量が増加することを見出した^{28, 54)}。ビタミンEは、必須脂肪酸を含めて多不飽和脂肪酸の代謝と密接な関連があり、また生体膜の安定性に関与しているとされており^{25, 31, 34)}、特に肺炎症例では血清ビタミンE値は低いこと^{26, 27, 28, 32, 54)}、また長期にビタミンE欠乏食を投与した動物に肺炎が発生することなどが報告されている^{15, 20)}。これらの観点により、ビタミンE欠乏状態が肺炎発生に何らかの関連があるのではないかと考え、ビタミンE欠乏動物を作製し、起炎物質を脾管内に逆流させて実験的肺炎を惹起せしめ、肺炎発生機序におけるビタミンEの意義について検討した。

実 験 方 法

1. ビタミンEの測定方法

血清中および組織中のビタミンE量の測定は、その同族体である α , β , γ , δ -トコフェロールが完全に分離して、しかも測定時間は10分以内と迅速に行なえる著者らの考案した高速液体クロマトグラフィー法により行なった^{27, 28, 51)}。すなわち、測定機器としては日立635型高速液体クロマトグラフィーを使用し、日立204S蛍光光度計を検出器とし(励起波長 298 nm, 検出波長 325 nm)、カラムは Nucleosil-5NH₂ (5 μ m) を充填した 4×250 mm の stainless steel column で、移動相には Isopropyl ether・n-Hexan を 45:55 で用いた。さらにインテグレーター TR-2221 (武田理研) を用いて内部標準であるトコールとの波高比から、各試料中のビタミンE同族体量を算出した。

a) 血清中のビタミンE量測定は、まず血清 0.5 ml を共栓スピッツ中に採り、蒸留水 0.5 ml をこれに加えて vortex mixer にて攪拌した。内部標準として 7 μ g のトコールを含むエタノールを 1 ml 加え、再び攪拌を行なった後、5 ml の n-Hexan を加え 5 分間 160 rpm で振盪器にかけ振盪攪拌した。3000 rpm にて 5 分間遠沈した後、上清 4 ml を窒素ガス気流下に 40°C 温浴中で乾固させた。50 μ l の n-Hexan にて再溶解させた後、20 μ l をカラムに注入し測定した。

b) 脾、肝、脾臓中のビタミンE量の測定については 0.2 g の各組織を正確に秤量した後、蒸留水 2 ml を加えて十分にホモジェナイズし、これを褐色スピッ

ツにうつし、さらにトコール7 μ gを含むエタノール2mlを加え攪拌を行なった。さらにn-Hexan 5mlを加え、以下は血清と同様に処理した。

2. 過酸化脂質の測定方法

血清中の過酸化脂質の測定は、採血直後に褐色スピッツに移し、直ちに窒素ガスを充填、遠心分離した血清を八木法にて測定した^{55,56,57)}。

脾組織中の過酸化脂質の測定については、正確に秤量した0.2gの脾組織に、鉄イオンをキレートさせるため、EDTA 20 mM/mlを含む蒸留水5mlを加え、窒素ガス気流下にホモジェナイズした⁵⁸⁾。このホモジェナイトをsodium dodecylsulfate (SDS)を用いて可溶化する真杉、中村³¹⁾らの方法にて測定した。

3. 急性肺炎の作製方法

実験動物としては、生後3週間で体重35g前後の雄ハムスター108匹をstock colonyよりとりよせ、使用した。これを以下に述べる3群に分ち、それぞれの群が36匹づつになるようにし、ビタミンEおよび必須脂肪酸の肺炎に関する影響を検討した。Group IはビタミンEおよび必須脂肪酸投与群とし、Table 1に示すビタミンEを極力排除した(α -トコフェロール0.5mg/100g以下)実験食餌成分に食餌100gあたりdl- α -トコフェリルニコチネート23.4mg(20 I.U.)および分子蒸留してビタミンEをぬきとってあるトーモロコシ油(Stripped corn oil, Eastman Kodak 社製)を添加し

た食餌を投与した。なおこのトーモロコシ油の脂肪酸組成は、パルミチン酸10.5%、ステアリン酸2.1%、オレイン酸26.0%、リノール酸60.1%、リノレイン酸1.3%であった。Group IIはビタミンE欠乏、必須脂肪酸投与群とし、Table 1に示す実験基本食に、上記のトーモロコシ油のみを加えた群である。Group IIIはビタミンEおよび必須脂肪酸の両者を欠乏させた群で、Table 1に示す実験基本食のみで、トーモロコシ油をも添加していない食餌を投与した。以上の各種食餌で4週間、同一の金網底のケージで4匹づつそれぞれ飼育した後、各群14匹は血清および臓器中のビタミンE測定に供し、各群6匹は、血清および脾臓中の過酸化脂質測定に供した。なおこれら3群以外にも、対照として飼育開始時および一般固形食4週間飼育群のビタミンEおよび過酸化脂質量も測定した。

ハムスターの脾臓は、Fig. 1のように大網につながって全体として環状になっており、脾管は総胆管に合流している。注入方法は竹中の方法を用い⁵⁹⁾、まずペントバルビタールナトリウム5mg/100gを腹腔内に投与し、それによる麻酔下に正中切開にて開腹した。胆嚢より胆嚢管を介して総胆管内へ細いポリエチレンチューブを挿入した後、総胆管下端および脾管分枝直上部をナイロン糸にて結紮した。このポリエチレンチューブを介して25 cmH₂O圧下に、起炎物質として生理食塩水中にタウロコール酸ナトリウム1.5%、トリプシン2%、Cephalothin 2.5%を溶解しNaHCO₃でpH 8に調整したものを0.2ml注入した。その際、黒色素ニグロシンを少量添加し、脾尾部末端の脾管内まで確実に逆流せしめ得ているか否かを知る示標とした。注入終了後2ヶ所の総胆管結紮糸を除去し、ポリエチレンチューブを抜去した後、胆嚢切開部を絹糸にて結紮閉鎖し、腹壁を2層に縫合した。24時間後にハムスターの全身状態を観察した上、エーテル麻酔にて再開腹、腹水の貯留状態とその性状、脾病変の程度、脂肪壊死の範囲とその程度を肉眼で観察した。膀胱穿刺により採尿、心臓穿刺により採血を行ない、尿および血清中のアミラーゼ測定を行なった。

肺炎重症度の測定には、Haig¹⁴⁾のイヌにおける重症度判定基準をハムスターの脾に適するように一部変更した竹中の方法⁵²⁾を用いた(Table 2)。すなわち、全身状態、脾頭部および体尾部各々の肉眼的病変の程度、脂肪壊死の有無およびその範囲、腹水量、腹水の性状について判定し、各々を点数化した。

Table 1. Experimental vitamin E deficient diet

	g/100 g diet
Corn starch	36
α -Wheat starch	10
Sucrose	5
Casein (vitamin free)	25
Stripped corn oil*	8
Salt mixture**	6
Vitamin mixture***	2
Purified fiber	8

* Produced by Eastman Kodak Chemistry.

Group 3, corn oil was not added.

** K 692, P 597, Ca 411, Na 270, Mg 86, Fe 41, Zn 0.4, Mn 1.3, Cu 0.08, I 7.7 (mg/100 g diet)

*** Vitamin A 1000 IU, D₂ 200 IU, B₁ 2.4 mg, B₂ 8.0 mg, B₆ 1.6 mg, B₁₂ 0.001 mg, C 60.0 mg, K₃ 10.4 mg, Biothin 0.04 mg, Folic acid 0.4 mg, Ca-Panthonate 10 mg, P-aminobenzoic acid 10 mg, Niacin 12.0 mg, Inositol 12.0 mg, Cholin-Cl 4000 mg (per 100 g diet)

Table 2. Criteria for numerical grading of experimental pancreatitis

Grade	Clinical response	Pancreatic lesion		Fat necrosis	Volume of peritoneal effusion	Color of peritoneal effusion
		Head	Body, Tail			
0	Toward recovery	Edema	Edema	None	None	Serous
1	Sustained illness	Petechiae	Petechiae	Pancreatic	0.5ml>	Sanguinous
2	Death	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	Peripancreatic	0.5ml<	
3		Necrosis	Necrosis	Wide spread		

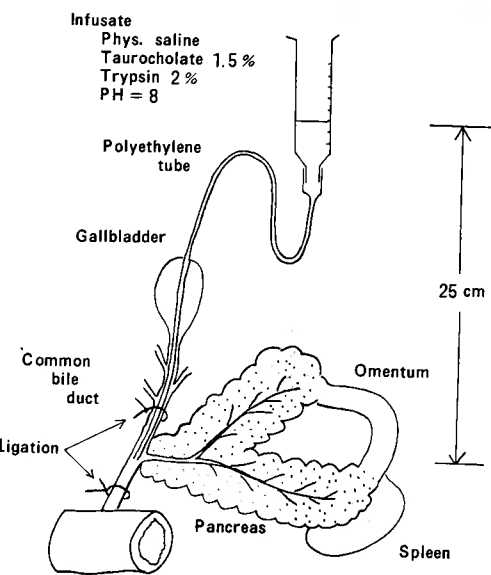


Fig. 1. Infusion method

実験成績

1) 血清中および臓器内ビタミンE濃度

Table 3は、血清中、膵臓、肝臓および脾臓中のビタミンE量を示したものである。β, γ, δ-トコフェロールは殆ど検出されないので、以下にはα-トコフェロール量のみを記載した。

血清中α-トコフェロール濃度は、各食餌開始後2週間ですでに、Group I 10.9±1.2, Group II 1.0±0.2, Group III 1.4±0.1 μg/mlと各群間に有意の差を認めた (p<0.01~p<0.001, t検定)。4週間後ではさらにこれらの血清中α-トコフェロール濃度のGroup間の差は拡大し、Group Iでは20.3±1.4, Group IIでは0.7±0.1, Group IIIでは1.1±0.2 μg/mlと著明な差を認めた (p<0.01~p<0.001)。同期間飼育した市販

固型食群の血清中α-トコフェロール濃度は、9.1±1.4 μg/mlであり、ビタミンE量としては十二分の投与量である Group IとビタミンE欠乏食餌群である Group II, IIIの中間の値をとった。

膵、肝、脾臓中のα-トコフェロール含有量も、血清レベルと同様に、Group I>Group III>Group IIと著明な差が認められ、脾臓中の全てのGroup間、膵臓中および肝臓中のGroup IとGroup III, Group IIとの差は有意であった (p<0.05~p<0.001)。しかし、Group IIIとGroup IIの膵臓および肝臓中のα-トコフェロール含有量は、やはりGroup IIがGroup IIIより大であったが、有意差はなかった (p<0.1)。

各臓器の投与前と4週間後のビタミンE含有量を比較すると、ビタミンE投与群であるGroup Iの場合、膵、脾臓は投与前に比しそれぞれ3.10, 3.17倍であるが、肝臓では4.41倍とその増加率が著明であった。逆にビタミンE欠乏食群であるGroup II, Group IIIでは、血清、膵、脾とも投与開始前値の12~20%と低値を示していたにもかかわらず、肝臓中ではGroup IIで40%, Group IIIで51%と比較的高値を保っていた。膵臓はGroup IIで12%, Group IIIで18%と、他臓器よりその減少が著しかった。

2) 過酸化脂質量

血清中および膵組織中の過酸化脂質量 (TBA値)をTable 4にまとめて示した。血清中の過酸化脂質量は、生後3週目の実験食開始時に比し、実験食4週間飼育後で、いずれの群でも過酸化脂質量は増加していた。各食餌群間の過酸化脂質量は、Group II>Group I>Group IIIであり、Group IIとGroup Iの間 (p<0.025) およびGroup IIとGroup IIIの間 (p<0.005) には大きな差が認められ、その差は有意であった。Group IとGroup IIIとの差は比較的小さかった (p<0.1)。市販固型食群はGroup IIとGroup Iとの中

Table 3. Effects of dietary vitamin E on serum and tissue α -tocopherol levels

		Serum ($\mu\text{g/ml}$)	Tissue		
			Pancreas ($\mu\text{g/g}$)	Liver ($\mu\text{g/g}$)	Spleen ($\mu\text{g/g}$)
Initial		5.6 ± 1.1 (100%) (n=7)	4.9 ± 0.5 (100%) (n=7)	6.8 ± 1.1 (100%) (n=7)	7.2 ± 1.3 (100%) (n=7)
2 weeks	Group I (E+, EFA+)	10.9 ± 1.2 (195%) (n=4)			
	Group II (E-, EFA+)	1.0 ± 0.2 (18%) (n=5)			
	Group III (E-, EFA-)	1.4 ± 0.1 (25%) (n=5)			
4 weeks	Group I (E+, EFA+)	20.3 ± 1.4 (363%) (n=5)	15.2 ± 2.5 (310%) (n=5)	30.0 ± 5.8 (441%) (n=4)	22.8 ± 4.9 (317%) (n=4)
	Group II (E-, EFA+)	0.7 ± 0.1 (13%) (n=6)	0.6 ± 0.4 (12%) (n=8)	2.7 ± 0.6 (40%) (n=5)	1.2 ± 0.3 (17%) (n=5)
	Group III (E-, EFA-)	1.1 ± 0.2 (20%) (n=6)	0.9 ± 0.4 (18%) (n=6)	3.5 ± 1.2 (51%) (n=6)	1.5 ± 0.3 (20%) (n=6)
	Commercial diet	9.1 ± 1.4 (163%) (n=7)	10.9 ± 2.2 (222%) (n=6)	11.7 ± 3.2 (172%) (n=6)	12.5 ± 2.0 (174%) (n=6)

(Mean $\pm$ SD)

Table 4. Effects of dietary vitamin E on TBA* value in serum and pancreas

		Serum (n mol/ml)	Pancreas (n mol/g)
Initial		1.7 ± 0.3 (n=6)	63.8 ± 10.9 (n=5)
4 weeks	Group I (E+, EFA+)	2.4 ± 0.9 (n=6)	46.7 ± 12.2 (n=4)
	Group II (E-, EFA+)	3.7 ± 0.8 (n=5)	72.8 ± 20.6 (n=6)
	Group III (E-, EFA-)	1.9 ± 0.3 (n=6)	33.9 ± 7.0 (n=6)
	Commercial diet	2.8 ± 0.9 (n=7)	83.1 ± 30.8 (n=5)

*TBA: thiobarbituric acid

(Mean $\pm$ SD)

間の値をとった。脾臓中でも、過酸化脂質量は Group II > Group I > Group III と著明な差を認めた ($p < 0.05 \sim p < 0.005$)。市販固型食群の、脾臓中では Group II よりも多く過酸化脂質が認められたが、この差は有意ではなかった。

3) 脾炎重症度

各群における発生脾炎の状態を Table 5, 6, 7 に示した。

1. 死亡率ならびに全身状態

24時間後の再開腹時の全身状態を観察した結果、Group I では11匹中2匹 (18%) が死亡したのに対し、Group II では、11匹中5匹 (45%)、Group III では14匹中9匹 (64%) が死亡した。一方、回復傾向にあると判断されたものは、Group I では11匹中5匹 (45%) であったのに対し、Group II では0匹、Group III では14匹中1匹 (7%) であり、Group I に比し Group II、Group III で重症なものが多い傾向であった (死亡率の χ^2 検定では $\chi^2 = 5.310$, $p < 0.10$)。

2. 腹腔内所見

a) 腹水量および性状：腹水は Group I, II, III ではそれぞれ11匹中4匹 (36%)、11匹中11匹 (100%)、14匹中13匹 (93%) に認められ、Group I と Group II、Group III の間に著明な差を認めた ($p < 0.01 \sim p < 0.025$)。さらに腹水が 0.5 ml 以上認められたのは、11匹中2匹 (18%)、11匹中9匹 (82%)、14匹中8匹 (57%) であり、やはり Group II、Group III に腹水が多量にみられた例が多かったが、有意差はなかった。血性腹水もそれぞれ、11匹中3匹 (27%)、11匹中6匹 (45%)、11匹中10匹 (71%) と Group II、III に高頻度に認められたが、有意差はなかった。

b) 脾の肉眼的所見：脾頭部に広範な出血をきたしたものはそれぞれ11匹中5匹 (45%)、11匹中10匹 (91%)、14匹中11匹 (79%) で Group II、III に著明な脾頭部の変化をみるものが多かったが、有意差はなかつた。

Table 5. Macroscopic findings at autopsy (Group I, Vitamin E and EFA sufficient diet group)

	Clinical response	Pancreatic lesion		Fat necrosis	Ascites	
		Head	Body Tail		Volume	Color
1	Sustained illness	Petechiae	Edama	Pancreatic	0.5ml>	Sanguinous
2	Toward recovery	Edema	Edama	None	None	—
3	Toward recovery	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	None	0.5ml<	Sanguinous
4	Sustained illness	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	None	0.5ml<	Sanguinous
5	Toward recovery	Diffuse hemorrhage	Petechiae	Peripancreatic	None	—
6	Toward recovery	Petechiae	Petechiae	Peripancreatic	None	—
7	Death	Diffuse hemorrhage	Petechiae	None	None	—
8	Toward recovery	Petechiae	Edama	None	None	—
9	Toward recovery	Petechiae	Edama	Peripancreatic	0.5ml>	Serous
10	Death	Petechiae	Edama	None	None	—
11	Sustained illness	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	None	None	—

った。脾体尾部に広範な出血をきたしたものは、11匹中3匹(27%)、11匹中7匹(64%)、14匹中6匹(43%)で同様の結果であった。またいずれの Group でも脾頭部の病変に比し、脾体尾部の病変は比較的軽かった。

c) 脂肪壊死：脂肪壊死を広範圏にきたしたものは、Group I では11匹中0匹(0%)、Group II では11匹中1匹(9%)であるのに対し、Group III では14匹中5匹(36%)であり、Group I, Group II に比し、Group III で特に著明に認められた($p<0.05$)。脂肪壊死の有無では、脂肪壊死があるものは、それぞれ11匹中4匹(36%)、11匹中6匹(55%)、14匹中11匹(79%)とやはり Group III に多かったが、その差は有意ではなかった。Fig. 2 は、Group III に生じた重症脾

炎の肉眼的所見であり、脂肪壊死、腹水、脾体尾部の広範な出血がみられる。

3. 脾炎重症度判定

以上の所見を重症度判定規準を用いて点数化し、まとめてみると Fig. 3 のようになる。7 点以上を重症の脾炎とし、その頻度をみると、Group I では11匹中2匹(18%)、Group II では11匹中10匹(91%)、Group III では14匹中13匹(93%)であり、Group I に比し Group II, Group III で重症のものが多かった(いずれも $p<0.005$)。しかし Group II と Group III との間では有意の差はなかった。さらに 8 点以上の割合は Group I では11匹中1匹(9%)、Group II では11匹中4匹(36%)、Group III では14匹中10匹(71%)であり、Group

Table 6. Macroscopic findings at autopsy (Group II, Vitamin E deficient and EFA sufficient diet group)

	Clinical response	Pancreatic lesion		Fat necrosis	Ascites	
		Head	Body, tail		Volume	Color
1	Sustained illness	Diffuse hemorrhage	Edema	Pancreas	0.5ml>	Serous
2	Death	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	None	0.5ml>	Serous
3	Sustained illness	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	None	0.5ml<	Sanguinous
4	Death	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	None	0.5ml>	Serous
5	Sustained illness	Petechiae	Petechiae	Peripancreatic	0.5ml>	Sanguinous
6	Sustained illness	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	Wide spread	0.5ml<	Sanguinous
7	Sustained illness	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	Pancreas	0.5ml>	Serous
8	Death	Diffuse hemorrhage	Petechiae	None	0.5ml>	Serous
9	Sustained illness	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	Pancreas	0.5ml>	Sanguinous
10	Death	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	Peripancreatic	0.5ml>	Sanguinous
11	Death	Diffuse hemorrhage	Petechiae	None	0.5ml>	Sanguinous

Table 7. Macroscopic findings at autopsy (Group III, Vitamin E and EFA deficient diet group)

	Clinical response	Pancreatic lesion		Fat necrosis	Ascites	
		Head	Body, Tail		Volume	Color
1	Sustained illness	Diffuse hemorrhage	Petechiae	None	0.5ml>	Sanguinous
2	Death	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	Peripancreatic	0.5ml>	Serous
3	Death	Petechiae	Petechiae	None	0.5ml<	Sanguinous
4	Death	Diffuse hemorrhage	Petechiae	Peripancreatic	0.5ml>	Sanguinous
5	Death	Diffuse hemorrhage	Petechiae	Peripancreatic	0.5ml<	Sanguinous
6	Sustained illness	Petechiae	Petechiae	Wide spread	0.5ml>	Sanguinous
7	Death	Petechiae	Petechiae	Wide spread	0.5ml>	Serous
8	Sustained illness	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	Wide spread	0.5ml<	Sanguinous
9	Death	Diffuse hemorrhage	Petechiae	Peripancreatic	0.5ml>	Sanguinous
10	Toward recovery	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	Wide spread	0.5ml>	Serous
11	Death	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	Pancreatic	0.5ml>	Sanguinous
12	Death	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	Wide spread	0.5ml<	Sanguinous
13	Death	Diffuse hemorrhage	Petechiae	None	0.5ml>	Sanguinous
14	Sustained illness	Diffuse hemorrhage	Diffuse hemorrhage	Pancreatic	0.5ml<	Serous

IIIの方がGroup IIより重症なものが多いことを示していたが、その差も有意ではなかった。

4. 病理組織学的所見

摘出した膵組織を膵頭部および膵体尾部に分け、病理組織学的に検索した。軽症のものでは、間質の浮腫と細胞浸潤を認める程度であったが、広範な出血や壊死に陥った腺房細胞、さらには好中球の浸潤を認める重症のものまで、多彩な像を呈していた (Fig. 4はGroup IIIの重症肺炎例の膵頭部のHE染色像である)。これらの病理組織像は、ほぼ肉眼的所見と一致した。

5. アミラーゼ値

血清アミラーゼ値はGroup II, Group IIIがGroup Iに比し高かったが、いずれも有意差はなかった。尿中アミラーゼ値はGroup IIが最も高く、次いでGroup III, Group Iの順であった (Table 8)。Group IIとGroup Iとの差は著明で有意差を認めた ($p < 0.005$)。

Table 8. Amylase levels in acute pancreatitis (unit/ml)

	Serum amylase	Urinary amylase
Group I (VE+, EFA+)	3222 ± 778 (n=6)	9431 ± 2109 (n=5)
Group II (VE-, EFA+)	3749 ± 1607 (n=4)	19926 ± 6254 (n=6)
Group III (VE-, EFA-)	3712 ± 1646 (n=4)	14261 ± 5901 (n=5)

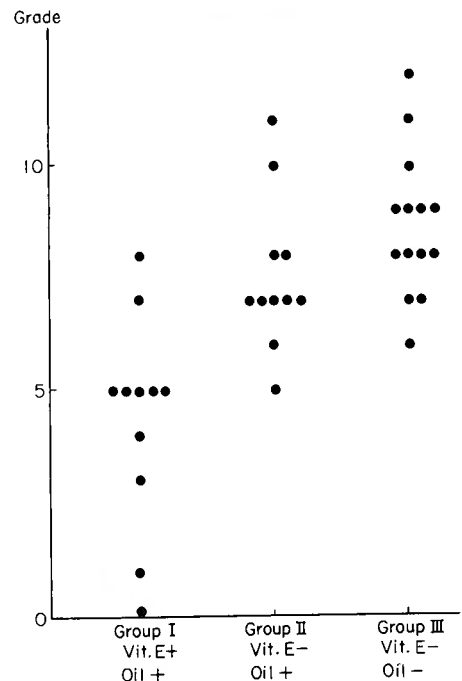


Fig. 3. Pancreatitis after induction

考 按

ビタミンEは、今から約60年前に Evans と Bishop により雌ネズミに対して抗不妊作用をもつ物質として発見された。その後、この抗不妊作用の強さの順にそ



Fig. 2. Macroscopic findings of severe pancreatitis in Group III

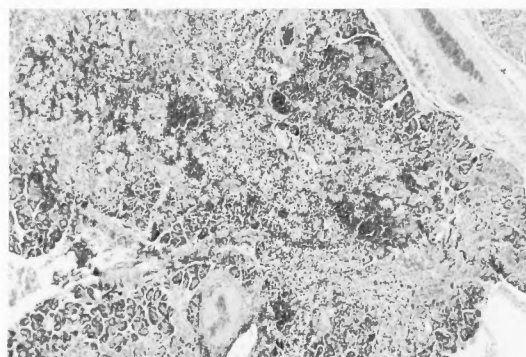


Fig. 4. Histological findings of severe pancreatitis. Severe pancreatitis in vitamin E and EFA deficient hamster. Extensive necrosis of the parenchyma, remarkable hemorrhage and neutrophils infiltration are seen.

の同族体は α , β , γ , δ -トコフェロールと名付けられた。ビタミンEは、ビタミンAやDと同様に脂溶性ビタミン

ンであるが、その代謝的な役割に関しては今なおビタミンAやDに比べ不明な点を多く残している³⁴⁾。現在までに、認められているビタミンEの役割は、脂質抗酸化剤としての作用のみである。ビタミンEは不飽和脂酸やビタミンAなどの酸化を防止することや、他の抗酸化剤がある種のビタミンE欠乏症に対して、ビタミンE代替作用があること^{21,22)}、ビタミンE欠乏動物において過酸化脂質量が増加していること^{34,49)}、さらに動物にビタミンEを投与すると肝臓中の過酸化脂質量は減少すること³⁰⁾、等がその根拠となっている。この抗酸化作用を図示すると Fig. 5 のようになる。すなわち、生体膜中に多く含まれ、その重要な構成成分となっている不飽和脂酸は、生体内特にミトコンドリアやミクロソームの中で生ずる活性酸素(例えば Superoxide: O_2^- , Hydroxyl radical: OH^-) や、あるいは不飽和脂酸 (RH) の二重結合部分の水素がひきぬかれた不飽和脂酸ラジカル ($R^\cdot$) 等により、脂質過酸化物

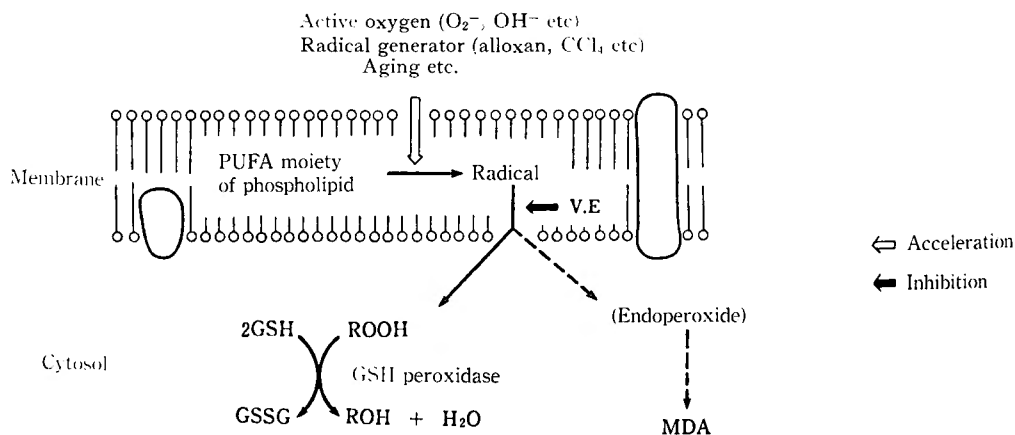


Fig. 5. 過酸化脂質生成と代謝・分解の機構(推定)とビタミンEの代謝部位(30より)

(ROOH)にかえられる。この過程が生体側の防御機構が不十分である場合、次々と連鎖反応をおこし過酸化反応が進行するものと考えられている^{30,37,39,58}。ビタミンEは lipoprotein の形で生体膜の一部を形成しており⁴¹、活性酸素や不飽和脂肪酸ラジカルを消去して過酸化脂質の形成を防いでおり^{10,30,39,58}、その結果生体膜の安定性に寄与していると考えられている。過酸化脂質による生体膜損傷例として、ミクロソームとリソソームを混ぜあわせ、ミクロソーム中で過酸化反応をおこさせると、リソソーム中の酵素が漏出することにも明らかになっている⁵⁸。ビタミンE欠乏によって生じた筋ジストロフィーでは、筋細胞中のリソソーム酵素の異常な高まりと流出がみられ⁶¹、リソソーム膜の脆弱化がその原因であろうと考えられている。

一方ビタミンEの生物活性と抗酸化活性とが平行しないこと、ビタミンE欠乏による細胞内呼吸の低下やリソソーム膜の不安定化と過酸化反応の増大との間には関連がなく、脂質過酸化の増大が起っていないでもリソソーム膜の不安定化や呼吸低下がおきるとし^{8,47}、ビタミンEの膜安定化作用は抗酸化作用によるものではなく、他の機序によるものとする考えもある²²。

ビタミンE欠乏動物の研究では、胎児呼吸、無精子症、肝壊死、赤血球溶血、貧血、脳軟化症、黄色脂肪性疾患、栄養性筋ジストロフィー等をきたすことが明らかにになっている。しかし、これらの病変の発現は動物の種類により異なっており、また他の抗酸化剤やセレンにより予防できるものや、逆にビタミンEしか反応しない病変もある^{30,34,47}。

ヒトでは、これらの疾病との関連が明らかではなく、最近まではっきりしたビタミンE欠乏による障害は確認されていなかった³⁴。Györgyにより¹³ ジェール酸による酸化的溶血テストが開発され、ビタミンE欠乏動物で溶血が亢進することが明らかとなり、さらに過酸化水素水を用いた溶血テストを行なうと、ビタミンE欠乏状態の新生児や未熟児の赤血球は溶血を起こし、血清中ビタミンE濃度が低いこととよく関連していた^{12,34,35}。この過酸化水素水による酸化的溶血は、未熟児にビタミンEを投与しても、あるいは *in vitro* で赤血球浮遊液にビタミンEを投与しても防止され、ヒトにおけるビタミンE欠乏状態が存在することが、はじめて明らかにされた³⁴。さらにビタミンE定量法の開発とともに、低ビタミンE血症が未熟児、新生児のみならず、脂肪吸収障害をきたす胆道閉鎖症、celiac 症候群、嚢胞性脾線維症^{34,42}、さらに脾炎、脾癌、種

々の肝疾患等でも指摘されるようになり^{15,26,32}、これらの疾患でも酸化的溶血反応は亢進していることが明らかになった^{4,34}。

これらの疾患における、ビタミンE欠乏を意味する臨床症状としては、ミオパチー、クレアチン尿、ノイロパチー、軸索ジストロフィー、腸管セロイド沈着 (Brown bowel syndrome) 等が発現しているとの報告もある¹⁵。さらにこれらの疾患のほか、未熟児網膜症、血液凝固異常、末梢血行障害、高濃度酸素吸入による肺障害、免疫能不全等に対しても、ビタミンEの臨床効果の研究がすすめられている¹⁹。

脾炎とビタミンEとの関連については、特に慢性脾炎では従来より、血清中のビタミンE濃度は低下していることが知られていた¹⁹。最近、松本³²らはPSテストとの相関を検討し、特に重炭酸イオン排出量と血清中ビタミンE濃度との有意の正の相関を認め、また脾石症における血清過酸化脂質濃度は正常者に比し有意に高値を示すことを報告している。それらの慢性脾炎症例では、脂肪吸収障害のために脂溶性であるビタミンEが減少してくると考えられる。最近、著者らは急性脾炎症例でも血清中ビタミンE濃度が減少していることを明らかにした。これは脾炎症後の絶食や脾組織破壊に伴うビタミンEの減少も考えられるが、症例の中には流動食、3分粥を食べていたにもかかわらず、発症9日目に、著者らの施設での正常6.7~13.8 µg/ml に比べ、3.4 µg/ml と非常に減少しており、発症前よりビタミンEが減少していた可能性を示唆する成績を得た。

さらに、方²⁰は、ラットを用い、ビタミンE欠乏食を長期間投与し脾臓の変化を観察したところ、3カ月後には散在性の小壊死巣を、6カ月後には数個の腺小葉にわたる広範囲な腺房細胞の壊死や、一部では結合組織により置換されるという組織像を認めている。

腺房細胞では、消化酵素を短時間に多量分泌する必要性から各細胞の代謝は極めて速やかに行なわれており¹⁹、酸素の消費が活発で、活性酸素が多量に発生しているものと推測される。この際ビタミンE欠乏状態を伴うと、活性酸素や脂質ラジカルの処理が不十分となり、そのため膜損傷をきたすに至る可能性が考えられる³⁸。この状態の上に、何らかの要因が加わると、脾酵素の脾実質内への漏出が起り、重篤な脾炎を惹起することが考えられたので、著者は実験的脾炎を作製してこれを確認した訳である。

実験動物として用いたハムスターは、マウス、ラッ

ト、ウサギ、モルモット等の小動物の脾が樹枝状に分枝しているのに対して、ハムスターの脾は“kompact gebaut”と言われ、ヒト脾の形態に近いこと³⁾、胆嚢を有するために、これを介して総胆管内に挿管し脾炎起炎物質を注入することができ、さらにその後チューブを抜去し、胆道系の修復が行なえる²⁰⁾という利点がある。

方²⁰⁾によれば、ビタミンE欠乏で飼育を行なうとラットで6カ月間の経過観察が可能であったが、ハムスターでは著者らが行った予備実験では、2カ月後から、不明の原因で死亡しはじめることが観察された。このことは、実験に用いた動物の種類や食餌内容が異なるなどの理由のほか、一般に実験動物にビタミンE欠乏食を投与する場合、生後からの時間が短いほど、より早く、より強いビタミンE欠乏状態になることが知られており²⁾、著者らが典型的なビタミンE欠乏状態を脾にでも早期に発現させるため、生後3週間という比較的早期より実験食を開始したことが最も大きな理由と思われる。この実験食餌飼育4週間という時期では、ハムスターの脾組織は、肉眼的にも、組織学的にも、特に異常を認めなかったが、すでに血中および脾臓組織中でビタミンE濃度は十分に低下しており、この時期のハムスターが実験の対象としては妥当であることを確認した。

実験食投与後の各組織中のビタミンE濃度(α -トコフェロールにて表示)をみると、投与開始時では、脾臓中が肝臓よりわずかに多かったが、4週間後では、ビタミンE投与群(Group I)、ビタミンE欠乏食群(Group II, III)いずれも肝臓中のビタミンE濃度が脾臓、脾臓のそれに比しかなり高値を示した。このことはビタミンEを投与した際には主として肝臓で貯蔵され、またビタミンEの欠乏時には、血中濃度が極端に低下してからもなお肝臓中には比較的多く保持されていることを示し、他の脂溶性ビタミンと同様に、ビタミンEも主に肝臓で貯蔵されているという従来の成績と一致した^{1,2)}。最近、tocopherol binding protein が肝細胞内に存在し、心、肺、脳、腎、筋肉、血清等にはないという報告があり⁵⁾、この tocopherol binding protein が肝臓での貯蔵に主要な役割を果たしていると考えられる。

一方、脾組織では、飼育開始時あるいは4週間後のいずれの食餌群においても、他の臓器に比し、低濃度であった。消化酵素を多量に合成している脾臓房細胞が、それらの酵素による自己融解を免れるために、

膜の安定性が要求されるはずであり、その際、ビタミンE濃度が低下していることは、酸化反応や他の細胞膜障害作用に対して、感受性が増加している可能性が大いに存在するといえる。

同じビタミンE欠乏食であっても、不飽和脂肪酸を投与した Group II と非投与の Group III とを比較した場合、4週間後の各組織内ビタミンE濃度は、いずれの組織においても Group II の方が低かった。これは不飽和脂肪酸投与によりビタミンE消費が増加し、Group II でビタミンE濃度が低下したためと考えられ、従来の報告を裏付けている^{17,18,23)}。

過酸化脂質量(TBA 値)は、血清、脾組織とも、不飽和脂肪酸を投与しビタミンEを投与していない Group II が両者を投与した Group I より多かった。すなわち、完全とはいえないまでも確かにビタミンEは過酸化脂質の形成を防止しているものと考えられる。ビタミンE、不飽和脂肪酸ともに投与していない Group III で最も過酸化脂質量が少なかったが、これは過酸化脂質の材料となる不飽和脂肪酸が欠乏しているため、たとえビタミンEが欠乏しても、過酸化脂質量は増加しないためと思われる。

かかる状態に実験的脾炎を惹起せしめてみた際の脾炎発生頻度は全体として有意の差を認め、他のいずれの所見をとってみても、Group I よりも Group II, III で重症のものが多く、さらに点数化してまとめて検討しても Group I と Group II あるいは Group III の間に有意の差を認めた。Group II と Group III の間では、同じように点数化して検討した場合、Group III の方がやや重症例が多かったが、有意差とまではゆかなかった。

ただし、Group II と Group III の間で興味深いのは、

① 脾臓の所見で広範な出血を認めたのは、頭部では Group II が11匹中10匹(91%)、Group III が14匹中11匹(79%)、体尾部では Group II が11匹中7匹(64%)、Group III が14匹中6匹(43%)といずれも Group II で高頻度に認めた点と、

② 脂肪壊死が存在した頻度が Group II で11匹中6匹(55%)、Group III で14匹中3匹(21%)、広範囲に脂肪壊死が存在したものは Group II で11匹中1匹(9%)、Group III で14匹中5匹(36%)と Group III で脂肪壊死が強度であった点である。

すなわち、血管病変と過酸化脂質の関連特に動脈硬化との相関については以前からよく知られているが²⁴⁾

¹⁴⁾、ビタミンE欠乏状態では過酸化脂質が増加し、血管壁のミトコンドリアやリソソームなどの生体膜系が損傷され、毛細血管の透過性が亢進する⁴⁰⁾。Group IIの場合、膵臓中の過酸化脂質量はGroup IIIの2倍以上の濃度であり、そのために血管の脆弱性をきたしており、膵炎を生じた際に広範な出血がもたらされたものと思われる。

一方、脂肪壊死については、著者と同様にハムスターの実験膵炎の研究をした竹中⁶⁰⁾によれば、腹腔内のdepot fatのlipolytic activityは膵炎惹起前では差は認められず、膵炎惹起後で、必須脂肪酸を欠乏させたハムスターに、このlipolytic activityが亢進しており、そのため、脂肪壊死の発生が高率でかつ広範囲に及んでいたという。Group IIIでは、過酸化脂質量は他の食餌群に比し少なかったが、しかし必須脂肪酸も欠乏状態にあり、上述の理由で脂肪壊死が特に強かったものと思われる。

ビタミンEの膵炎発生との関連性を考える際に、過酸化脂質以外にも、次の3点について考慮して見る必要がある。

フォスフォリパーゼ A₂ はレシチンを細胞膜障害作用を有するリゾレシチンにかえ、膵腺房細胞のミトコンドリア、リソソームを破壊し、膵炎を進行させるといわれている⁷⁾。急性膵炎症例では血清および腹水中のフォスフォリパーゼ A₂ 活性が上昇し⁴⁴⁾、特に出血性膵炎など重篤なものほどその血中濃度が高い⁴⁵⁾とされている。Pappu⁴³⁾らはラットの肝細胞ミトコンドリアを用い、フォスフォリパーゼ A₂ の活性を調べたところ、ビタミンE欠乏群では対照の約2倍の活性を認め、さらに膜中のリゾレシチンも対照ではリン脂質中

の0.5%であったのが、3.2%に増加していることを指摘しており、著者の実験においても、膵臓におけるビタミンE欠乏が原因となって、フォスフォリパーゼ A₂ 活性も膵腺房細胞中で上昇し、膵炎発生に関与した可能性も大いに考えられる。

また血小板凝集や炎症に深い関係を有しているプロスタグランディンの生成は、アラキドン酸からプロスタグランディンシクロオキシゲナーゼにより過酸化反応を受けプロスタグランジン G₂ となり、さらに種々のプロスタグランジンに変わると考えられている。ビタミンEは、このプロスタグランジン生成に関与しているとされ³⁶⁾、特に血小板凝集に係るトロンボキサン A₂ およびプロスタサイクリンの生成に関与しているという報告もあるが⁴⁸⁾、どの段階に作用しているかは、いまだ確定されていない現状である。しかし、最近ビタミンE欠乏動物で、プロスタグランジン E₂ の減少が認められたとの報告や⁶⁾ プロスタグランジン E₂ を投与した場合エチオニン膵炎が抑制されたとの報告などから⁴⁶⁾、ビタミンEがプロスタグランジン代謝を介して膵炎の発生に関与している可能性もある。

セレンとビタミンEとは密接な関連があることはよく知られているが、ビタミンE欠乏症とされているもののうち、ラット、ブタの壊死性肝障害や、小羊の筋ジストロフィーは、ビタミンEの欠乏に伴って、セレンも欠乏しており、セレン投与によりこれらの症状が回復する³⁴⁾。このセレンは、脂質過酸化物(ROOH)を無害なアルコール(ROH)に変えるグルタチオンペルオキシダーゼ(Fig. 5)の重要な構成成分となっており、ビタミンE欠乏によって増加する過酸化脂質を

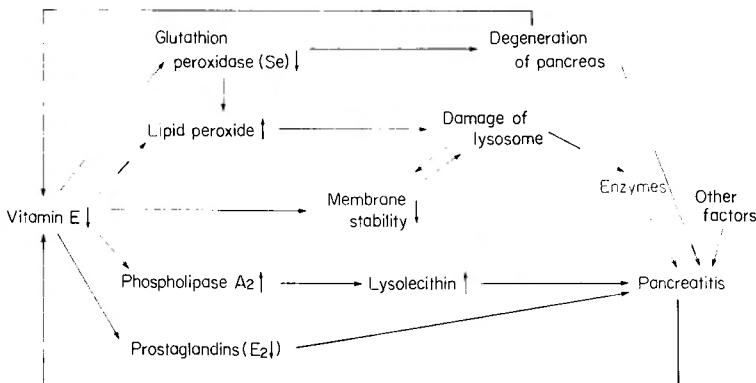


Fig. 6. Vitamin E and pancreatitis (hypothesis)

除去し³⁰⁾, 過酸化反応が進展してさらにビタミンEが減少するのを抑制している⁴⁶⁾ またセレンは胆汁分泌作用に関与し⁴⁶⁾, このセレンが欠乏すると、膵臓の退行変性がおき、ビタミンEの吸収が障害される^{34,46)}。従って、ビタミンE欠乏状態ではセレンの欠乏を伴い、そのことがまたビタミンE欠乏をさらに悪化させ、悪循環に陥ることにもなる。事実、慢性膵炎症例では、血清中ビタミンE濃度の低下とともに、グルタチオンペルオキシターゼの活性低下がみられるとの報告もなされている³³⁾。以上ビタミンE欠乏状態と膵炎発生メカニズムとの関連について模式化すると Fig. 6 のようになる。

ビタミンE欠乏状態では、上記の種々のルートから膜の安定性が低下しており、そのみかあるいは他の因子例えば、胆汁、十二指腸内容の膵管内逆流や胆汁うっ滞あるいは感染胆汁のリンパ行性の膵実質内浸潤等が加わることにより、容易に重症膵炎に移行すると考えられる。慢性膵炎では脂肪吸収障害から、血清中ビタミンE濃度が減少していることが明らかにされており、このことが素因となって膵炎を繰返し、「慢性再発性膵炎」を惹起していると考えられる。また急性膵炎では、発生前に食事性の問題、吸収障害あるいは胆道系の疾患等によりすでにビタミンE欠乏状態となっていることが原因と考えられる症例もある。

今後、膵炎の治療に際して、ビタミンEとの関連についても十分に注目して、さらに検討する必要がある。

結 語

膵炎の治療として必須脂酸を含む脂肪乳剤を投与中、低下していた血清中総ビタミンE濃度が増加することから、ビタミンEと膵炎との関連性に着目し、ビタミンE欠乏状態にしたハムスターに実験的膵炎を発生させ、以下の結論を得た。

- 1) 生後3週間目の雄ハムスターを、ビタミンEおよび必須脂酸を投与した Group I、ビタミンEを欠乏させ必須脂肪酸のみを投与した Group II、いずれも欠乏させた Group III に分け、4週間飼育した。血清中、膵臓、肝臓、脾臓中のビタミンE (α -トコフェロール) 濃度は、Group I で最も高く、次いで Group III であった。必須脂酸のみを投与した Group II では最もビタミンE濃度が低かった。
- 2) 過酸化脂質量は、血清中、膵臓中とも、Group II で最も多く次いで Group I、Group III であった。
- 3) 実験的膵炎はタウロコール酸、トリプシンを含有

する起炎物質を 25 cm H₂O 下に膵管内に逆流させて作製した。この際膵炎重症度を著者らの判定基準にて検討した結果、Group II、Group III の膵炎は重症であり、Group I のそれは一般に軽症のものが多かった。Group II と Group III では後者の膵炎の方がやや重症であったが、有意差はみられなかった。

4) 膵病変で広範な出血が認められたのは Group II で、脂肪壊死は、必須脂酸をも欠乏させた Group III において高度であった。

5) 血清中、尿中アミラーゼおよび組織学的所見でも Group II、III で重症の所見が認められた。

以上より、ビタミンE欠乏は膵炎発生の重要な因子の1つと考えられる。

本論文の要旨は、第67回日本消化器病学会および The New York Academy of Sciences, Conference on Vitamin E (1981) にて発表した。

また本研究の一部は昭和53年度科学研究補助費 No 244050 の援助による。

稿を終るにあたり、終始御指導頂き且つ御校閲をいただいた恩師日笠頼則教授ならびに共同研究者の谷村 弘講師、さらにビタミンE 標準物質、ビタミンE 欠乏食飼料を御提供いただいたエーザイ(株)に感謝致します。

参 考 文 献

- 1) Aftergood L, Alfim-Slater BA: Effect of administration of α - and γ -tocopherol on tissue distribution and cell hemolysis in rats. *Int J Vitam Nutr Res* **48**: 32-37, 1978.
- 2) Anonymous: Effect of dietary α -tocopherol in aging rats. *Nutrition Reviews* **35**: 50-52, 1977.
- 3) Becker V: Spezielle pathologische Anatomie Band 6, Springer-Verlag **48**: 1973.
- 4) Binder HJ, Herting DC, Hurst V, Finch SC: Tocopherol deficiency in man. *New Engl J Med* **273**: 1289-1297, 1965.
- 5) Catignani GL: Hepatic α -tocopherol-binding protein. *Methods Enzymol* **67**: 117-122, 1980.
- 6) Chan AC, Allen CE, Hegarty PVJ: The effect of vitamin E depletion and repletion on prostaglandin synthesis in semitendinous muscle of young rabbits. *J Nutr* **110**: 66-73, 1980.
- 7) Creutzfeld W, Schmidt H: Aetiology and pathogenesis of pancreatitis (current concepts). *Scand J Gastroenterol* **5**: 47-62, 1970.
- 8) Desai ID, Calvert CC, Scott ML: A time sequence study of the relationship of peroxidation, lysosomal enzymes and nutritional muscular dystrophy. *Arch Biochem biophys* **108**: 60-64, 1964.
- 9) Dormandy JA, Hoare E, Khattab AH, et al: Prognostic significance of rheological and bio-

- chemical findings in patients with intermittent claudication. *Brit Med J* **4**: 581-583, 1973.
- 10) Gardner HW, Eskins K, Grams GW, et al: Radical addition of linoleic hydroperoxides to α -tocopherol or the analogous hydroxychroman. *Lipids* **7**: 324-334, 1972.
- 11) Glavind J: Studies on role of lipoperoxide in human pathology. *Acta Path Microbiol Scand* **30**: 1-6, 1952.
- 12) Gordon HH: Studies of tocopherol deficiency in infants and children. *Pediatrics* **21**: 673-681, 1958.
- 13) Gyorgy P, Cogan G, Rose CS: Availability of vitamin E in the newborn infant. *Proc Soc Exp Biol Med* **81**: 536-538, 1952.
- 14) Haig THB: Experimental Pancreatitis intensified by a high fat diet. *Surg Gyn Obstet* **131**: 914-918, 1970.
- 15) 平井俊策: ビタミンE欠乏症. 代謝 **10**: 933~941, 1973.
- 16) Hope WC, Dalton C, Machlin LJ, et al: Influence of dietary vitamin E on prostaglandin biosynthesis in rat blood. *Prostaglandins* **10**: 557-567, 1973.
- 17) Horwitt MK: Interrelation between vitamin E and polyunsaturated fatty acids in adult men. *Vitam Horm* **20**: 541-558, 1962.
- 18) Horwitt MK: Status of human requirements for vitamin E. *Am J Clin Nutr* **27**: 1182-1193, 1974.
- 19) Horwitt MK: Therapeutic uses of vitamin E in medicine. *Nutrition Reviews* **38**: 105-113, 1980.
- 20) 方 壬発: ビタミンE欠乏症の消化器, とくに肝および膵の変化について. ビタミン **22**: 56~67, 1961.
- 21) Fitch CD, Dinning JS: Vitamin E deficiency in the monkey. *J Nutr* **73**: 76-78, 1963.
- 22) 福沢健治: 細胞下レベルにおけるビタミンEの作用. ビタミン **50**: 47~59, 1976.
- 23) Jager FC, Houtsmuller AMT: Effect of dietary linoleic acids on vitamin E requirement and fatty acid composition of erythrocyte lipids in rats. *Nutr Metab* **12**: 3-12, 1970.
- 24) 金子芳夫: 実験的急性膵炎における脂肪乳剤高カロリー輸液の治療効果に関する研究. 日消誌 **78**: 81-89, 1981.
- 25) Konings AW, Drijver FB: Radiation effect on membranes. 1. Vitamin E deficiency and lipid peroxidation. *Radiation Research* **80**: 494-501, 1979.
- 26) 加藤仁司, 谷村 弘, 小林展章, 向原純雄, 三木毅一郎, 佐藤友信, 齊藤 徹, 日笠頼則: 膵炎の予防と治療におけるビタミンEの役割. 日消誌 **78**(臨): 429, 1981.
- 27) Kato H, Tanimura H, Hikasa Y: Determination of serum tocopherols by high performance liquid chromatography. *Arch Jpn Chir* **50**: 740-746, 1981.
- 28) 加藤仁司, 谷村 弘, 三木毅一郎, 日笠頼則, 宮田 学: 外科的疾患における血中ビタミンE同族体の推移について. 術後代謝研究会誌 **14**: 272-277, 1980.
- 29) 小林展章, 谷村 弘, 竹中正文, 瀬戸山元一, 日笠頼則: 脂肪乳剤を用いた高カロリー輸液による膵炎の治療. 術後代謝研究会誌 **14**: 602-606, 1980.
- 30) 真杉文紀, 中村哲也: ビタミンEの生理作用と生体膜. 蛋白質核酸酵素 **21**: 855-866, 1976.
- 31) 真杉文紀, 中村哲也: Sodium dodecylsulphate可溶化による肝チオバルビタール酸値とビタミンE, 薬物によるその変動. ビタミン **51**: 21-29, 1977.
- 32) 松本雅裕, 若杉英之, 井林 博: 膵疾患における血中脂溶性ビタミン. 医学と生物学 **96**: 57-68, 1978.
- 33) Matsumoto M, Wakasugi H and Ibayashi H: Serum Vitamin E, lipid peroxide and glutathione peroxidase in patients with chronic pancreatitis. *Clin Chim Acta* **110**: 121-125 1981.
- 34) 美濃 真: ビタミンE研究の流れ. 臨床栄養 **49**: 153-159, 1976.
- 35) 美濃 真: ビタミンEの乳児期とくに新生児期の問題点. 臨床栄養 **49**: 429-435, 1976.
- 36) 美濃 真: 脂溶性ビタミン. ビタミン学 **I** 233, 1980.
- 37) 水野伝一, 内藤周幸, 早石 修, その他: 生体と酸素. 朝倉書店 1976.
- 38) 内藤聖二: 膵炎の病態とVEの関連性について. 日本臨床 **38**: 60-62, 1980.
- 39) 錦見盛光: 生体内における活性酸素, フリーラジカルの生成と消去について. 脳虚血と細胞障害. にゅうろん社: 3-8, 1980.
- 40) Noguchi T, Cantor AH, Scott ML: Mode of action of selenium and vitamin E in prevention of exudative diathesis in chickens. *J Nutr* **103**: 1502-1511, 1973.
- 41) Oliveira MM, Weglich WB, Nason A, et al: Distribution of α -tocopherol in beef heart mitochondria. *Biophys Acta* **180**: 98-113, 1969.
- 42) Oski FA: Metabolism and physiologic roles of vitamin E. *Hospital practice* **12**: 79-85 1977.
- 43) Pappu AS, Fatterpaker P, Sreenivasan A: Role of vitamin E in cellular processes. *Wld Rev Nutr Diet* **31**: 190-195, 1978.
- 44) Schröder T, Somerharju P, Lempinen M: Phospholipase A₂ in serum and ascitic exdate in experimental acute hemorrhagic pancreatitis in pigs. *Eur Surg Res* **11**: 172-178, 1979.
- 45) Schröder T, Kinilakso E, Kinnunen PKJ, Lempinen M: Serum phospholipase A₂ in human acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol*

- 15: 633-636, 1980.
- 46) Scott ML: Advances in our understanding of vitamin E. *Federation Proceedings* **36**: 2736-2739, 1980.
- 47) Sharma SK, Krishna CR: The anti-oxidant action of rutin on tissue peroxidization and release of lysosomal acid phosphatase. *Biochem Pharmacol* **15**: 2025-2029, 1966.
- 48) Steiner M, Anastasi J: Vitamin E. An inhibition of the platelet release reaction. *J Clin Invest* **57**: 732-737, 1976.
- 49) Sylvén C, Glavind J: Peroxide formation, vitamin E and myocardial damage in the rat. *Internat J Vit Nutr Res* **47**: 9-16, 1977.
- 50) 竹中正文: 膵炎発生因子としての食餌性脂質の意義. *Arch Jpn Chir* **46**: 141-155, 1977.
- 51) 谷村 弘, 加藤仁司, 日笠頼則: 血中ビタミンE同族体測定の意義. *臨床化学シンポジウム* **19**: 148-153, 1979.
- 52) 谷村 弘, 小林展章, 加藤仁司, 日笠頼則: 急性膵炎の成因と治療. *消化器外科セミナー* **5**, へるす出版: 8-26, 1981.
- 53) 谷村 弘: 実験的胆石. *胆と膵* **2**: 663-669, 1981.
- 54) Tanimura H, Kato H and Hikasa Y: The role of vitamin E in the etiology and treatment of pancreatitis. *New York Academy of Sciences*, in press. 1982.
- 55) 八木国夫: Thiobarbituric acid 螢光法による血漿又は血清中の過酸化脂質の微量定量法. *ビタミン* **49**: 403-405, 1975.
- 56) 八木国夫: 血漿過酸化脂質の微量定量. *日本医事新報* No. **2748**: 100-101, 1976.
- 57) Yagi K: A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical Medicine* **15**: 212-216, 1976.
- 58) 八木国夫: 過酸化脂質とフリーラジカルについて. 未熟児・新生児の酸素障害. 医師薬出版: 3-14, 1981.
- 59) 山崎英博: 胆石殊にコレステロール系結石に合併する膵炎の発生因子に関する実験的研究. *Arch Jpn Chir* **42**: 169-183, 1973.
- 60) 山本光生, 島 健, 魚住 徹, 他: 脳虚血における過酸化脂質の生成. 脳虚血と細胞障害, にゅーろん社: 59-65, 1980.
- 61) Weinstock IM, Iodice AA: *Lysosomes in biology and pathology*. Vol. 1, North-Holland Amsterdam London: 450, 1969.