リパーゼ活性におよぼす胆汁酸製剤の影響

高田充隆, 村上博美, 赤野威彦, 野口利明,*¹ 小早川清, 河原 勉*²国立大阪病院薬剤部*¹国立大阪病院外科*²

Effects of Bile Acid Preparations on Lipase Activity

MITUTAKA TAKADA, HIROMI MURAKAMI, TAKEHIKO AKANO,
TOSHIKI NOGUCHI,*¹ KIYOSHI KOBAYAKAWA, TUTOMU KAWAHARA*²Department of Pharmacy, National Osaka Hospital*¹Department of Surgery, National Osaka Hospital*²

(Received July 5, 1985)

The effects of chenodeoxycholic acid (CDCA) and ursodeoxycholic acid (UDCA) on enzymic activity of lipase, as well as the relationship between the lipase activity and the concentration of bile acids in bile, were studied. In the presence of bile administered CDCA, the lipase activity was enhanced significantly. A correlation between the lipase activity and the common logarithm of the concentration of total bile acid and CDCA in bile was observed, correlation coefficients being 0.723 ($n=30$) and 0.732 ($n=30$), respectively. In addition, it was observed from the result of multiple regression that CDCA and UDCA increased the lipase activity.

Keywords—bile; bile acid; lipase activity; chenodeoxycholic acid; ursodeoxycholic acid

緒 言

近年、胆汁酸製剤はコレステロール胆石の成因が明らかになるにつれ、胆石溶解療法として使用される機会が増加しており、臨床においてはウルソデオキシコール酸（以下UDCAと略）、ケノデオキシコール酸（以下CDCAと略）の製剤が繁用されている。一方胆汁酸が膵リパーゼの活性を促進し、脂肪の消化吸収に重要な役割を果たしていることは広く知られており、これらに関する報告も多くなされている。¹⁻⁴⁾

今回著者らは、総胆管コレステロール系胆石摘出手術を受け、UDCA製剤、CDCA製剤の投与を受けている患者から採取した胆汁について、リパーゼ活性促進作用の比較検討を行うとともに、胆汁中の胆汁酸構成成分とリパーゼ活性との関係についても検討を加えた。

実 験 の 部

1. 対 象

当院外科で総胆管コレステロール系胆石摘出手術を受けた患者で、手術後CDCA製剤(400mg/day)またはUDCA製剤(600mg/day)の投与を受けている患者およびこれらの製剤の投与を受けていない患者(CDCA投与群6名、UDCA投与群4名、コントロール群5名)を対象とした。なお胆汁は手術直後(以下前胆汁とする)および手術後約3週間の胆汁(以下後胆汁とする)を胆管ドレーンより採取し凍結保存した。

2. リパーゼ活性の測定

100mlの共栓三角フラスコに、0.2M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 5 ml, 胆汁 1 ml, 日局ダイズ油(丸石製薬) 2 mlを加え、予め37°Cに加温後リパーゼ液(420units/ml, シグマ社製粗リパーゼ) 5 mlを加え、37° ± 0.5°Cで1時間振とう(100rpm)し、反応後エタノール、エーテル混液(2:1) 30mlを加え反応を止め、1%フェノールフタレインを指示薬として0.1N水酸化ナトリウ

*^{1,2} 大阪市東区法円坂町2-1; 2-1, Hoenzaka-machi, Higashi-ku, Osaka, 540 Japan

ム液で遊離の脂肪酸を滴定した。この際終点は胆汁の存在のため褐色が赤褐色に変化した点とした。空試験としてリパーゼ液を加えると同時に反応を止め適定を行いこの値を差し引いた。なお測定は4回(一部3回)行いその平均をリパーゼ活性値とした。また胆汁のかわりにグリコケノデオキシコール酸ナトリウム(シグマ社製、以下GCDCNaと略)の溶液(2, 5, 10, 25, 50, 75, 100 $\mu\text{mole/ml}$)を用い、同様の操作を行った。

3. 胆汁中胆汁酸濃度の測定

試料をアルカリ加水分解後エーテル抽出し,⁵⁾ 高速液体クロマトグラフィーで分離後, 3 α -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼゼラム中で NAD^+ と反応させ, 生成した NADH を蛍光検出する方法で行った。⁶⁾

結果および考察

1. 胆汁酸製剤投与による胆汁中胆汁酸濃度の変化

各胆汁酸濃度の比較を図1に示した。総胆汁酸(以下TBAと略)濃度は、コントロール群, CDCA投与群, UDCA投与群とも前胆汁に比べ後胆汁のほうが上昇する傾向がみられたが、統計的処理によりCDCA投与群, UDCA投与群に有意の差が認められた($p<0.01$)。また各胆汁酸成分についてみると、CDCA投与群においてはCDCA($p<0.05$)に、UDCA投与群においては、UDCA($p<0.01$)、コール酸(以下CAと略)($p<0.05$)、CDCA($p<0.05$)に有意の差が認められた。一般に胆汁酸製剤を投与した場合、胆汁中の胆汁酸成分は大部分が投与した成分で占められるとされているが、今回の場

図1. 各胆汁酸濃度の比較

A: コントロール群, B: CDCA 投与群 (400mg/day),

C: UDCA 投与群 (600mg/day)

□前胆汁, ■後胆汁 * $p<0.05$, ** $p<0.01$

図 2. 胆汁を添加して測定したリパーゼ活性

合、対象が胆管ドレナージにより腸肝循環が一部遮断されているため、成分構成の変化が少なかったものと考えられる。

しかし、CDCA 投与後の胆汁においては、CDCA が約 50% を占め、UDCA 投与後の胆汁では UDCA が約 20% まで上昇していた。また後胆汁における胆汁酸濃度の上昇には、腸肝循環遮断による胆汁酸合成のネガティブフィードバック機構の関与も考えられる。

2. 胆汁酸製剤投与によるリパーゼ活性への影響および胆汁中胆汁酸濃度とリパーゼ活性との関係

前胆汁および後胆汁を添加して測定したリパーゼ活性を図 2 に示した。リパーゼ活性の平均値は、コントロール群で 2.75ml から 3.35ml、CDCA 投与群で 2.95ml から 5.27ml、UDCA 投与群で 2.56ml から 4.95ml へと上昇しているが、統計的処理により CDCA 投与群に有意差が認められた ($p < 0.01$)。なお三群の前胆汁の間には有意差を認めなかった。さらに後胆汁同士の比較において、CDCA 投与群とコントロール群の間に有意差が認められた ($p < 0.01$)。またリパーゼ活性は総胆汁酸濃度が高くなるにつれ上昇する傾向を示し、リパーゼ活性と総胆汁酸濃度との関係を濃度の対数値でプロットすると図 3 に示すような相関が得られた。またリパーゼ活性と総胆汁酸濃度の対数値との相関係数は 0.723 ($n =$

30) であった。胆汁中胆汁酸の主成分である CA と CDCA についてリパーゼ活性と濃度の対数値との関係を検討した結果、CDCA については総胆汁酸の場合と同様の結果が得られた ($r = 0.732$, $n = 30$) (図 4) が、CA については両者の間に相関は認められなかった ($r = 0.576$, $n = 30$) (図 5)。さらに、GDCN a の標品を用いた実験においてその濃度の対数値とリパーゼ活性との間の直線性が確認できた (図 6)。これらのことから胆汁中の総胆汁酸濃度や CDCA 濃度とリパーゼ活性との間に密接な関係があるものと思われる。一方胆汁酸組成とリパーゼ活性の関係を検討するため、胆汁酸構成成分とリパーゼ活性について重回帰分析を行ったところ、表 1 に示す結果を得た。リトコール酸 (以下 LCA と略) とデオキシコール酸 (以下 DCA と略) は今回の場合、微量成分であり偏相関係数も小さくリパーゼ活性への影響はあまりなく、また CA は胆汁中で最も多い成分でありながら偏相関係数は小さくこれもリパーゼ活性への影響は小さいと考えられる。結局 CDCA と UDCA の影響が比較的大きかったと考えられる。

本来胆汁酸のリパーゼ活性に及ぼす影響は複雑で、反応速度論的には低濃度では加速作用、高濃度では阻害作用を示し、これらは界面の物理化学的性質の変化^{7,8)}や胆汁酸ミセルとリパーゼ間の直接的な相互作用^{9,10)}とし

図 3. 総胆汁酸濃度とリパーゼ活性の関係

図 4. 胆汁中 CDCA 濃度とリパーゼ活性の関係

図 5. 胆汁中 CA 濃度とリパーゼ活性の関係

図 6. GCDCNa 濃度とリパーゼ活性の関係

て捉えられている。一方、胆汁酸は脂肪を乳化しその界面積を増大させることによりリパーゼ活性を促進するとされており、事実リパーゼ活性は基質の絶対量ではなくエマルジョン粒子の界面積に依存することがわかっている。¹¹⁾ また、リパーゼの脂肪分解反応の進行に伴い生成した脂肪酸が界面に集積し、反応は急速に阻害されるが、胆汁酸ミセルはこれを可溶化し界面から除去していることも知られている。¹²⁾ ここで *in vivo* の系について考えてみると、摂取された脂肪は十二指腸において胆汁中の胆汁酸および膵液のリパーゼにより十分な消化を受け、空腸およそ 1 m では完了するとされており、¹³⁾ この間脂肪は生理的界面活性剤である胆汁酸の存在下腸管の機械的運動等により乳化が促進され、先に述べた複雑な影響の結果として反応が促進されるものと考えられる。そこで、今回胆汁酸のリパーゼ活性に及ぼす影響を

表 1. 胆汁酸構成成分とリパーゼ活性の相関

胆汁酸	LCA	DCA	CDCA	CA	UDCA
偏相関係数	0.127	0.046	0.409	0.119	0.355

検討するにあたり、反応速度論的考察を目的とせず、また従来行われているリパーゼ活性測定法のようにエマルジョンとした基質ではなく、植物油をそのまま基質として用い、機械的振動を加える方法が最も胆汁酸の影響を検討するうえで妥当であると考えた。なお反応が不均一であることを考慮し 4 回の測定の実験値を用いることにした。

今回の実験結果から総胆汁酸濃度を増加させることは脂肪の消化を促進するうえで重要であり、特に CDCA、UDCA の増加がよい結果をもたらすであろうと推測され

る。現在 UDCA 製剤はコレステロール胆石の溶解、脂肪の消化促進など幅広い目的で使用されているが、CDCA 製剤はコレステロール胆石の溶解が中心であり、リパーゼ活性促進作用を介した脂肪の消化促進への応用も検討の余地があると思われる。

なお、リパーゼ活性に影響を及ぼす因子として他にもリン脂質、各種電解質などが考えられるが、今回は検討を加えなかった。また今後 pH や反応時間などの条件が今回得られた結果にどのように影響するかについても検討を重ねる必要があると思われる。

謝辞 本研究にあたり胆汁中胆汁酸分析を行っていただいたエーザイ株式会社に深謝いたします。

文 献

- 1) Rachford: J. Physiol., 17, 72 (1891).
- 2) O.Fürth u. J.Schütz: Hofm. Beiträge, 9, 28 (1906).
- 3) 大川博, 佐伯正紀, 岩崎守男: 基礎と臨床, 10, 57 (1976).
- 4) 高田充隆, 佐藤信, 橋爪昭人, 平野善信, 尾崎照美: 病院薬学, 7 (5), 265 (1981).
- 5) 篠光正, 根津征夫, 立山正, 坂口健哉, 片山幸一, 堤淳三, 河部靖: 薬学雑誌, 99(4), 421 (1979).
- 6) S.Okuyama, N.Kokubun, S.Higashide, D.Uemura, and Y.Hirata: Chem. Lett., 1979, 1443.
- 7) B. Borgström and C. Erlanson: Eur. J. Biochem., 37, 60 (1973).
- 8) C.Chapus, H.Sari, M.Sémériva, and P.Desnuelle: FEBS Lett., 58, 155 (1975).
- 9) D.Lairon, G.Nalbone, H.Lafont, J.Leonardi, N.Domingo, J. C. Hauton, and R. Verger: Biochemistry, 17, 205 (1978).
- 10) M.E. Momsen and H. L. Brockman: J. Boil. Chem., 251, 384 (1976).
- 11) G.Benzonana and P.Desnuelle: Biochim. Biophys. Acta, 105, 121 (1965).
- 12) H. Brockerhoff and R. G. Jensen: "Lipolytic Enzymes," Academic Press, New York, 1974.
- 13) B.Brogström, A.Dahlquist, G.Lundh, and J. Sjövall: J. Chim. Invest., 36, 1521 (1957).

アレルギー性疾患 慢性肝疾患に……

■グリチルリチン製剤 強力ネオミノファーゲンシ

健保適用

健保略称 強ミノC

●作用

抗アレルギー作用, 抗炎症作用, 解毒作用, インターフェロン誘起作用, および肝細胞障害抑制・修復促進作用を有します。

●用法・用量

1日1回, 1管(2ml, 5ml, または20ml)を皮下または静脈内に注射。

症状により適宜増減。

慢性肝疾患には, 1日1回, 40mlを静脈内に注射。年齢, 症状により適宜増減。

●適応症

アレルギー性疾患(喘息, 蕁麻疹, 湿疹, ストロフルス, アレルギー性鼻炎など)。食中毒。薬物中毒, 薬物過敏症, 口内炎。

慢性肝疾患における肝機能異常の改善。

包装 20ml 5管・30管, 5ml 5管・50管, 2ml 10管・100管
※使用上の注意は, 製品の添付文書をご参照下さい。

●内服療法には

グリチル 錠二号

包装 1000錠, 5000錠

財 会 経 ミノファーゲン製薬本舗 営業本部 〒107 東京都港区赤坂8-10-22 TEL(402)6201