主論文の要旨

Caffeine Inhibits Fluid Secretion by Interlobular Ducts from Guinea-pig Pancreas

（カフェインはモルモットの小葉間膵管における液体分泌を抑制する）

名古屋大学大学院医学系研究科　健康社会医学専攻
健康増進医学講座　健康栄養医学分野
（指導：石黒 洋　教授）
持丸 由香

【緒言】

膵臓の外分泌腺は、消化酵素を産生・分泌する腺房細胞と、高濃度の重炭酸イオン（HCO_3^-）を含む液体成分を分泌する導管細胞から構成されている。HCO_3^-の分泌には、膵管内でたんぱく質の沈殿を防ぐ、十二指腸内で胃酸を中和するなどの生理的役割がある。

カフェインは、コーヒーやお茶、その他多くの飲み物や食べ物に含まれる。カフェインは、頻脈、高血圧、気分の変動、覚醒作用など生体に様々な影響を及ぼすが、消化器系への影響としては、腸管通過時間の短縮、胃酸分泌の増加、胆嚢の収縮、大腸運動の亢進などが知られている。一方、膵臓については、疫学調査によりコーヒーの急性膵炎予防効果が報告されているが、膵液分泌への影響は分かっていない。

動物実験では、比較的高濃度（1 mM）のカフェインがネコの膵液分泌量を増やしたという報告、高濃度（5~20 mM）のカフェインが単離した膵腺房細胞において細胞内 Ca^{2+}濃度（$[Ca^{2+}]_i$）の上昇を抑制したという報告がある。しかし、カフェインあるいはコーヒー飲用後のヒトのカフェイン血中濃度は 0.02~0.05 mM 程度であり、カフェインが膵外分泌機能（膵液分泌）、特に膵導管細胞からの液体分泌に及ぼす生理的作用は分かっていない。本研究では、モルモットの膵臓から単離した小葉間膵管を用いて、膵導管細胞からの液体分泌に対するカフェインの影響を検討した。

【方法】

1) モルモットの膵臓をコラゲナーゼで処理し、実体顕微鏡下で鋭利な針を用いて、直径約 100~150 μm の小葉間膵管を単離した。この単離膵管を約 3 時間培養すると、両端が閉じて内腔に分泌液が貯留した状態となった。
2) 液体分泌の測定は、両端が閉じた膵管を、倒立顕微鏡のステージ上で 37℃の HCO_3^--CO_2 緩衝液で表層灌流し、1 分間隔で明視野像を取得し、管腔容積の変化率から液体分泌速度を求め、膵管上皮の単位表面積当たりで表した（nl min^{-1} mm^{-2}）。
3) $[Ca^{2+}]_i$ の変化は、単離膵管に Fura-2 を負荷して測定した。

【結果】

1) カフェイン（0.03~2 mM）は、セクレチン（1 nM）刺激によって増加した液体分泌を有意（$p<0.05$）に抑制した（Figure 1）。カフェインの作用は可逆的であり、濃度依存性が見られた。
2) カフェイン（0.03~2 mM）は、アセチルコリン（ACh 10 μM）刺激によって増加した液体分泌を有意（$p<0.05$）に抑制した（Figure 2）。カフェインの作用は可逆的であり、濃度依存性が見られた。
3) セクレチン（1 nM）刺激下に、0.2 mM のカフェインを加えても$[Ca^{2+}]_i$への影響は見られなかったが、2 mM のカフェインはセクレチン刺激によって引き起こされた Ca^{2+} oscillation を抑制した（Figure 3）。

4) アセチルコリン（ACh 10 μM）刺激により$[Ca^{2+}]_i$が上昇した状態で、0.2 mM のカフェインを加えると$[Ca^{2+}]_i$はわずかに低下した。2 mM のカフェインは$[Ca^{2+}]_i$を基礎値まで低下させた（Figure 4）。
5) カフェイン（2 mM）は、Ca^{2+}-free 条件下で thapsigargin（1 μM）を加えた時の$[Ca^{2+}]_i$の一過性の上昇をほぼ完全に抑制した（Figure 5）が、細胞外液に Ca^{2+}を加えた時の$[Ca^{2+}]_i$の上昇には影響しなかった（Figure 6）。
6) セクレチン（1 nM）刺激下にエタノール（1 mM）を加えると、液体分泌は約 30%増加した。さらに、カフェイン（0.05 mM）を加えるとエタノールによる分泌亢進が消失した（Figure 7）。

【考察】

本研究は、モルモットの膵臓から単離した小葉間膵管を用いて、カフェイン含有飲料摂取後の血中濃度に相当する低濃度のカフェイン（≧0.03 mM）が、セクレチンあるいはアセチルコリン刺激によって増加した膵導管細胞からの液体分泌を、強く、可逆的に抑制することを明らかにした。作用機序としては、細胞内ストアからの Ca^{2+}放出抑制による$[Ca^{2+}]_i$の低下によると考えられた。

この結果は、日常的なコーヒーなどの飲用により、膵液分泌量が変化することを示唆している。コーヒーの飲用が、アルコール性急性膵炎のリスクを軽減したとする疫学研究が報告されている。急性膵炎発症の最初のイベントとして$[Ca^{2+}]_i$の持続的な上昇が推定されており、カフェインが単離した膵腺房細胞においてコレシストキニンおよび胆汁酸刺激による$[Ca^{2+}]_i$の上昇を抑制したとする報告から、カフェインの膵炎予防効果は膵腺房細胞に対する作用と考えられてきたが、この研究に用いられたカフェイン濃度は mM レベルである。一方、低濃度（≧0.03 mM）のカフェインを用いた本研究は、コーヒーの膵炎予防効果が、膵導管細胞に対する液体分泌減少作用であることを示唆している。当研究室は、以前、通常飲酒後の血中濃度に相当する 1 mM のエタノールが、膵導管細胞からの液体分泌を亢進させると報告した。Figure 7 は、エタノールによる液体分泌の増加をカフェインが完全に抑制したことを示している。飲酒によって増加する膵液分泌を、カフェインが抑制することが、コーヒーのアルコール性急性膵炎予防効果につながっている可能性がある。

カフェインには様々な作用部位があるが、ホスホジエステラーゼを阻害することが知られており、膵導管細胞内の cAMP を増やすことにより液体分泌を亢進させる可能性が想定されたが、実際には細胞内ストアからの Ca^{2+}放出を抑制することにより液体分泌を減少させた。膵導管細胞におけるカフェインの作用部位としては、IP_3-Ca^{2+}経路の遮断の可能性が高い。

【結語】

カフェイン含有飲料摂取後の血中濃度に相当する低濃度のカフェインは、モルモットの膵臓から単離した小葉間膵管からの液体分泌を強く抑制した。このカフェインの

作用は、膵導管細胞内の Ca^{2+} mobilization の抑制によると考えられる。