

氏 名 (本籍)                    お の ち                    しょう                    いち  
小 野 地                    章                    一

学 位 の 種 類                    医                    学                    博                    士

学 位 記 番 号                    医                    第                    1 4 8 1                    号

学 位 授 与 年 月 日                    昭 和   5 8   年   2 月   2 3   日

学 位 授 与 の 要 件                    学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴                    昭 和 4 9 年 3 月  
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目                    胆 石 症 に お け る 胆 汁 中 お よ び 胆 石 中 胆 汁 酸 に  
関 する 研 究

(主 査)

論 文 審 査 委 員   教 授 佐 藤 寿 雄   教 授 後 藤 由 夫

教 授 吉 沢 善 作

# 論文内容要旨

## 目 的

ビリルビン石灰石（ピ石灰石）の主成分はビリルビンカルシウムであり、その他にコレステロール、胆汁酸、脂肪酸などの胆汁脂質が数%含まれている。ビリルビンカルシウムは、胆汁中のグルクロン酸抱合型ビリルビンが細菌性 $\beta$ -グルクロニダーゼの作用により遊離型となり、 $Ca^{+}$ と結合して析出するものと理解されている。しかし、ピ石灰石に含まれている胆汁脂質は、析出なのか、混入なのか、その機序は不明である。そこで著者は高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて、胆石とその母体である胆汁の脂質組成を分析し、ピ石灰石と他の結石の対比によりピ石灰石の特徴を明らかにするとともに、ピ石灰石生成における胆汁脂質の意義を検討した。

## 方 法

1) 胆嚢胆汁採取症例は胆嚢結石症49例、胆嚢総胆管結石症4例、胃疾患患者（対照例）10例である。結石の種類はピ石灰石8例、黒色石12例、純コレステロール石（純コ石）16例、混合石17例である。分析に供した結石はピ石灰石10個、黒色石、純コ石、混合石各8個である。2) 胆石中胆汁脂質は、試料にエタノールを加え、水浴上加熱還流して抽出した。胆汁中胆汁酸はSep Pak  $C_{18}$  カートリッジを用いて抽出した。胆石および胆汁中胆汁酸は疎水性イオン交換ゲル（PHPLH-20）にて遊離型、グリシン抱合型、タウリン抱合型画分に分画後、HPLCにて分析定量した。結石中コレステロール、脂肪酸もHPLCを用いて測定した。3) T字管胆汁に細菌性 $\beta$ -グルクロニダーゼを添加しビリルビンカルシウムを析出させ、析出前後の胆汁および沈殿物中の胆汁酸を分析し、結石中抱合型胆汁酸の由来に関して検討した。

## 成 績

1) 胆汁中脂質の分析。a) 対照例群のコレステロール（CH）、リン脂質（PL）、総胆汁酸（TBA）濃度は、各々 $11.4 \pm 2.9 \text{ mg/ml}$ 、 $36.3 \pm 8.7 \text{ mg/ml}$ 、 $96.6 \pm 22.4 \text{ mg/ml}$ であった。対照例に比較し、ピ石灰石例群ではいずれの胆汁脂質濃度も著明な低値を示した。黒色石例群ではCH、PL濃度が低値を示した。対照例のLithogenic Index（L・I）は $1.1 \pm 0.2$ であった。黒色石例群以外ではL・Iは対照例に比較し、有意に高値を示した。b) 遊離型胆汁酸（FBA）はピ石灰石の4例に検出されたのみで、対照例や他の結石例では全く検出されなかった。主要抱合型胆汁酸はグリシンおよびタウリン抱合型のC、CDC、DCであり、ほかに微量のG

UDC, GLC, TUDC, TLCが検出された。ピ石灰石例群では抱合型の各胆汁酸濃度はいずれも低値を示した。それ以外の結石例群ではグリシン抱合型の各胆汁酸濃度は低下し、タウリン抱合型の各胆汁酸濃度は低下していなかった。2) 胆石中脂質の分析。a) ピ石灰石, 黒色石, 純コ石, 混合石のCH含有量は各々  $10.8 \pm 11.5\%$ ,  $0.8 \pm 0.5\%$ ,  $98.9 \pm 2.2\%$ ,  $81.7 \pm 8.7\%$  であった。脂肪酸含有量は各々  $6.3 \pm 4.1\%$ ,  $1.0 \pm 0.6\%$ ,  $0.5 \pm 0.1\%$ ,  $0.6 \pm 0.2\%$  であった。胆汁酸含有量は各々  $5.3 \pm 3.1\%$ ,  $7.0 \pm 3.4\%$ ,  $0.5 \pm 0.3\%$ ,  $1.1 \pm 0.6\%$  であった。b) FBAは黒色石8例中1例, ピ石灰石では10例中7例において検出された。ピ石灰石ではFBAがTBAの平均  $36.5 \pm 33.5\%$  を占めていた。ピ石灰石の抱合型胆汁酸組成は, 他の結石に比較し, グリシン抱合型の各胆汁酸の割合が減少していた。他の結石では抱合型胆汁酸組成に有意の差を認めなかった。ピ石灰石において, FBAのTBAに対する割合と脂肪酸含有量との間には正の相関が得られた。3) 同一症例について胆石と胆汁中の胆汁酸組成を対比してみると, ピ石灰石では両者が明らかに異なっている症例がみられたが, 黒色石では両者に大きな相違は認められなかった。4) 細菌性 $\beta$ -グルクロニダーゼ添加のビリルビンカルシウム析出実験では, ピ石灰石中の抱合型胆汁酸はビリルビンカルシウム粒子が凝集する際に, 粒子に吸着し結石中に混入したものと推察できる結果を得た。

## 結 語

ピ石灰石の胆汁では, FBAの検出と胆汁脂質濃度の低下およびL・Iの高値が特徴的であった。結石中脂質の分析では, ピ石灰石には多量の脂肪酸, FBAのほか, 少なからぬ量のCH, 抱合型胆汁酸が含有されていた。胆汁ならびに結石中にFBAが検出されたことは, ビリルビンカルシウムが析出する異常環境下では抱合型胆汁酸も胆管内で脱抱合される可能性を示唆している。また, コ系石のみならずピ石灰石例の胆汁もCHが析出しやすい状態にあることも明らかになった。結石中の脂肪酸はレシチンのPhospholipase A による分解産物と考えられるが, FBA/TBAと脂肪酸含有量との間に正の相関が得られたことより, FBAも脂肪酸も同一の現象すなわち胆道感染に起因することが強く示唆された。ピ石灰石に含有されていた胆汁酸のうち, 遊離型はその解離定数からみて, 胆汁からの析出と考えられる。一方抱合型胆汁酸はビリルビンカルシウム析出実験の結果, ビリルビンカルシウムの粒子が凝集する際に, 粒子に吸着し結石中に混入したものと推察された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

小野地 章 一

ビリルビン石灰石の主成分であるビリルビンカルシウムの析出に関しては、胆道感染による $\beta$ -グルクロニダーゼ活性の亢進が重要な役割を演じていることが明らかにされている。しかし、ビリルビン石灰石に含有されているコレステロール、胆汁酸、脂肪酸などの胆汁脂質は析出か、混入か、その機序は不明であった。そこで著者は、近年開発された高速液体クロマトグラフィーを用いて、胆石とその母体である胆汁の脂質を分析するとともに、 $\beta$ -グルクロニダーゼ添加胆汁によるビリルビンカルシウム析出実験を行ない、ビリルビン石灰石生成における胆汁脂質の意義を解明しようと試みた。

研究方法としては高速液体クロマトグラフィーを用いて、手術時採取した胆嚢胆汁および胆石中の脂質を分析し、ビリルビン石灰石と他の結石を対比検討した。

その結果、ビリルビン石灰石の胆汁および胆石中脂質組成の特徴は次のようなものであることが明らかとなった。すなわち、胆汁のLithogenic Indexは高値を示し、しかも総脂質濃度が著明な低値であることより、胆汁はコレステロールがきわめて析出しやすい状態にある。対照例および他の結石例に検出されない遊離型胆汁酸がビリルビン石灰石の胆汁では検出された。結石中脂質の分析では、遊離型胆汁酸の検出および多量の脂肪酸の含有が持異的であった。また遊離型胆汁酸、脂肪酸のほかになんらかの量のコレステロール、抱合型胆汁酸も含有されていた。

正常胆汁中に検出されない遊離型胆汁酸がビリルビン石灰石の胆汁および結石中に検出されたことより、ビリルビンカルシウムが析出する異常環境下では抱合型胆汁酸が胆管内で脱抱合されることが推察された。また結石中の脂肪酸量と総胆汁酸に占める遊離型胆汁酸の割合との間に正の相関が認められ、脂肪酸の生成機序も遊離型胆汁酸と同様に胆道感染にもとづくものであることが推察された。さらに解離定数のうえからは胆汁中で析出すると考えにくい抱合型胆汁酸の結合中への取り込み機序を明らかにするため、 $\beta$ -グルクロニダーゼ添加胆汁を用いてビリルビンカルシウム析出実験を行なった。その結果、ビリルビン石灰石中の抱合型胆汁酸は、ビリルビンカルシウム粒子が凝集する際に粒子に吸着し、結石中に混入したことが明らかとなった。

以上の研究は、これまで不明であったビリルビン石灰石生成における胆汁脂質の意義を解明した点において極めて価値あるものである。よって学位授与に値するものと認める。