

氏 名（本籍）	益 子 啓
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医 第 2026 号
学位授与年月日	昭 和 63 年 9 月 14 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 54 年 3 月 自治医科大学医学部医学科卒業
学位論文題目	胆石生成に関連した胆汁中酸性コロイドについて

(主 査)

論文審査委員	教授 松 野 正 紀	教授 林 典 夫
	教授 森 昌 造	

# 論文内容要旨

## 目 的

胆汁並びに胆石内に証明されるムコ物質は胆石生成に何らかの役割を演じていることは諸家の認めるところである。教室では胆汁中のムコ物質、特に硫酸化糖蛋白は胆石構成成分を凝集・架橋し結石化するのに必要な物質であることを実証している。しかし、このムコ物質の抽出同定には、試料を多量に必要とし、またかなりの時間と技術を必要とする欠点がある。また、簡便法としてムコ物質をヘキサミン量を測定して推察する方法もあるが、胆汁中のムコ物質の実態とするには不十分と考えた。そこで、著者はムコ物質を複雑な操作を加えることなく簡便に測定することを試みた。すなわち、コロイド滴定法を応用して胆汁中に存在する酸性コロイドを塩基性コロイドで中和させて沈澱させる方法である。

## 材料並びに方法

T字管胆汁で方法の基礎的検討を行なった。T字管胆汁（10例）は胆石症例で併存疾患がなく肝機能検査では障害を認めず、しかも胆道系に付加手術を施行しなかった症例の術後3週以降のものを用いた。また、術中に胆嚢を無菌的に穿刺して採取した胆嚢胆汁63例（胆石症58例、コレステロールポリープ4例、慢性肺炎1例）で、胆石生成との関連で胆汁中酸性コロイドの定量を試みた。胆石症58例の胆石の種類は、ビリルビンカルシウム石（以下ビ石）15例、黒色石13例、純コレステロール石（以下純コ石）7例、混成石3例、混合石20例である。採取した胆汁は細菌培養に供し、測定には遠心上清（毎分3000回転、10分間）を用いた。試薬としてはコロイド滴定用グリコールキトサン溶液（GCh）を用いた。まず、GCh添加による胆汁中の酸性コロイドの定量は、胆汁中の胆汁色素が生成した沈澱物に吸着されることを利用し、胆汁色素の吸収波長440 nmの吸光度の沈澱生成前後の減少率をもって沈澱生成物の量的指標とした。また、GChで凝析する物質の同定は分画分子量20万のウルトラフィルターを用いた限外濾過と赤外分光分析を用いた。

## 成 績

T字管胆汁を用いてのGChの凝析に関する基礎的な検討ではトルイジンブルーのメタクロマジーを指標としたコロイド滴定は胆汁色素が障害となることから、沈澱物に胆汁色素が吸着することを利用して胆汁中の酸性コロイドの凝析の程度を440 nmでの吸光度の低下をもって定量することにした。その際、胆汁の希釈条件としては、胆汁の最終希釈濃度が20%程度の時沈澱物の析

出が良好であった。GCh 添加による胆汁 pH の変動は 7.5～6.8 の範囲で電気伝導度は 2.8～2.7 mS/cm の変化であり著しい変化を認めなかった。さて、GCh により析出する酸性コロイド物質は限外濾過で高分子相画分に存在し赤外分光分析では病的胆汁から抽出した硫酸化糖蛋白の赤外スペクトルと極めて類似したスペクトルを示したことから硫酸化糖蛋白に類似した物質と推定された。次に、胆嚢胆汁中酸性コロイド物質の定量では GCh の添加による 440 nm の低下率 (%) から 4 つのグループに区分した。I 群 (低下率 0 から 25% 未満) は GCh による凝析がほとんど起こらない症例群で 39 例あり黒色石 12 例、混合石 12 例、純コ石 5 例、混成石 3 例、ピ石 2 例、無石 5 例となっていた。II 群 (25% 以上 50% 未満) は混合石 3 例、ピ石 1 例の 4 例であった。III 群 (50% 以上 75% 未満) はピ石 8 例、混合石 2 例、純コ石 1 例の計 11 例であった。IV 群 (75% 以上) は著しく沈澱が生じ吸光度の急激な低下を示した症例群でピ石 4 例、混合石 3 例、黒色石 1 例、純コ石 1 例の計 9 例であった。平均低下率は I 群  $3.4 \pm 4.5\%$  (M $\pm$ SD)、II 群  $34.2 \pm 6.7\%$ 、III 群  $62.3 \pm 4.1\%$ 、IV 群  $91.9 \pm 6.0\%$  であった。また、胆石種類別の低下率では、ピ石例の 80%、混合石例の 25% が III と IV 群に属していた。一方、低下率の小さい I 群には黒色石例の 92.3%、純コ石例の 71.4% が含まれ、混成石例 3 例と無石症例の 5 例も全部 I 群であった。また、胆汁の細菌培養成績の明らかな 60 例について胆汁の有菌率と吸光度低下率をみると I 群は有菌率 10.5% と最も低く、II、III、IV 群で有菌率が高くなっていた。胆石種類別に有菌率をみると、とくにピ石例と混合石例において有菌率が高く、同時に吸光度の低下率も大きい傾向にあった。

## 結 語

胆汁中酸性コロイドは少量の胆汁であっても GCh による凝析に伴う胆汁中ビリルビンの減少、すなわち、440 nm の吸光度の低下率を指標とし定量できた。GCh により凝析する酸性コロイドは、濾外濾過で高分子相画分に存在し赤外分光分析では硫酸化糖蛋白に類似する物質が推定された。胆汁中の酸性コロイドはピ石例、混合石例の胆汁中に多量に存在し、黒色石例や無石症例では極めて少量であり、また、無菌例胆汁に比較して有菌例胆汁並びに炎症の認められた症例の胆汁中に多量に存在していた。従って、炎症を基盤に生成する胆石には、これらの有機高分子物質の関与が重要であることが推察された。

## 審査結果の要旨

諸家の報告のごとく胆汁ならびに胆石内に証明されるムコ物質は、胆石生成に何らかの役割を演じているものと考えられる。しかし、このムコ物質の抽出、同定には試料を多量に必要とすること、多くの時間と技術を要する欠点がある。本研究は、胆汁中に存在する線状有機高分子物質を簡便に測定する方法を検討したものである。すなわち、コロイド滴定法を導入して胆汁中の負コロイドである硫酸化糖蛋白などの有機高分子電解質物質を、正コロイドであるグリコールキトサン (GCh) で凝析を起こさせて半定量的に検討している。

正、負コロイド溶液によるコロイド滴定法では、指示薬としてトルイジンブルーのメタクロマジーを利用するが、胆汁は胆汁色素を多量に含むため、メタクロマジーを利用する通常のコロイド滴定法では測定は困難である。そこで、胆汁色素が中和反応で生じた沈殿物に吸着されることに着目して、トルイジンブルーのかわりに胆汁中の胆汁色素の減少、すなわち、440nmの吸光度の減少を、GChによる負コロイド物質の凝析の指標として検討している。その結果、胆汁中の負コロイド物質は胆汁を約20%に希釈した濃度で、また、胆汁の限外濾過では高分子相画分が、GChにより著しく凝析することが実証された。赤外線分析ならびにPAS比色法から、この凝析物は感染胆汁から抽出した硫酸化糖蛋白とよく類似していた。また、胆石症ならびに無石良性胆道疾患例の胆嚢胆汁63例の検索では、ビリルビンカルシウム石例や混合石例の胆汁で、また、感染胆汁例で、GChによる凝析が著しく、胆石構成成分を凝集、架橋させるのに重要な働きをする有機高分子物質が多量に存在することを証明した。

本滴定法は胆汁中の負コロイドの半定量法ではあるが、試料が少量で、しかも試料溶液がうすいほどよいということから、分析が容易であるという利点がある。また、試料中に低分子の不純物や無機塩類が存在していてもGChによる反応はないこと、しかも高分子物質を抽出、精製する必要がないことなどの利点も有している。

以上の結果より、本研究は独創的であり、学位に値するものと評価される。