

厚生省特定疾患  
消化器系疾患調査研究班  
肝内結石症分科会

# 平成 1 2 年度研究報告書

平成 1 3 年 3 月

分科会長 二 村 雄 次

## 序 文

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業による肝内結石症調査研究班は3年間の研究期間における2年目を終了致しました。

初年度の研究成果に対する評価委員会からの厳しい評価と研究の進め方に関するご指導を生かしつつ、肝内結石症発症機序に関する疫学的、形態学的検討、動物実験モデル作製、病態生理学的、分子生物学的検討を柱として研究を行ってきましたが、特に、本年度は肝内結石症発症機序の解明、本班研究の最終目的の一つである本症の予防法の開発に重要な疫学的研究に重点を置き研究を進めてまいりました。

疫学的研究では症例対照研究を新たに開始し、感染症、特に、回虫感染とHTLV-1感染の合併が肝内結石症発症に大きく関与するとの結果を得ました。また、長崎県での肝内結石症発生要因に関する研究結果と台湾における本班研究結果との比較も行い、本症発症への不良な衛生状態の関与が明らかとなり、本症の予防法開発の上で有用な知見を得ました。

臨床的研究では先天性胆道拡張症の術後の約7%に肝内結石症が発生することが明らかとなり、同症を含め原発性硬化性胆管炎などからの2次的な肝内結石症の発生が今後の課題と思われれます。その他にも様々な研究が現在進行中です。

ここに今年度の研究班によりまとめられた研究成果を報告できることになりましたが、本研究に寄せられました厚生省健康局疾病対策課各位のご指導とご援助にこの場をお借りして心より御礼申し上げます。

平成13年3月

厚生省特定疾患  
肝内結石症調査研究班  
班長 二村 雄次

# 目 次

序 文

構成員名簿

I. 総括研究報告	分科会長 二村 雄次	1
II. 分担研究報告		7
1. 肝内結石症におけるHospital Based Case-Control Studyの方法論	九州大学 健康科学センター 馬場園 明	9
2. 上五島地区における肝内結石症の成因に関する疫学調査	国立長崎中央病院 外科 古川 正人	14
3. 台湾における肝内結石症発症に関する疫学的研究	名古屋大学大学院 器官調節外科 二村 雄次	22
4. 重症度分類からみた日本における肝内結石症の実態とその分析	名古屋大学大学院 器官調節外科 二村 雄次	33
5. ラットを用いた肝内結石症実験モデルの作成	九州大学大学院 臨床・腫瘍外科 田中 雅夫	39
6. プレリードッグによる実験的肝内コレステロール結石における粘液との関連	杏林大学医学部 第一外科 杉山 政則	42
7. 肝内結石症実験モデルの作成	弘前大学医学部 第二外科 佐々木睦男	48
8. 肝内結石症における慢性増殖性胆管炎ならびにムチン過分泌の病態因子の検討 —シクロオキシゲナーゼ-2およびプロスタグランジンE受容体の解析より—	筑波大学 臨床医学系消化器内科 田中 直見	51
9. 肝内結石症の結石形成におけるオステオポンチンの関与	金沢大学大学院 形態機能病理 中沼 安二	56
10. 肝内結石症 4 症例におけるHMG-CoA reductaseとcholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylaseのmRNA レベルの検討：結石葉、非結石葉との対比およびコントロール症例との比較	宮崎医科大学 第一外科 瀬戸口敏明	60

11. 肝内結石症の病変部結石側肝臓で特異的に発現する遺伝子のFluorescence Differential Display (FDD) 法を用いた解析 愛媛大学医学部 第一外科 本田 和男 .....	64
12. 肝内結石症における遺伝子発現の網羅的解析 名古屋大学大学院 器官調節外科 二村 雄次 .....	77
13. 粘液形質と遺伝子変異の比較 新潟大学大学院 分子・病態病理学分野 味岡 洋一 .....	83
14. 原発性硬化性胆管炎様の胆管像を呈した肝内結石の検討 名古屋大学大学院 器官調節外科 二村 雄次 .....	85
15. 先天性胆道拡張症に合併した肝内結石 —アンケート調査による肝内結石の発生状況— 名古屋大学大学院 小児外科 安藤 久實 .....	91
Ⅲ. 班会議プログラム .....	95
第1回班会議プログラム .....	97
第2回班会議プログラム .....	99
発表演題抄録 .....	101

## 消化器系疾患調査研究班 肝内結石症分科会 構成員名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
分 科 会 長	二村 雄次	名古屋大学大学院器官調節外科	教 授
分 科 会 員	古川 正人	国立長崎中央病院外科	医 長
	田中 直見	筑波大学臨床医学系消化器内科	教 授
	本田 和男	愛媛大学医学部第一外科	助 教 授
	中沼 安二	金沢大学大学院形態機能病理	教 授
	田中 雅夫	九州大学大学院臨床・腫瘍外科	教 授
研 究 協 力 者	馬場園 明	九州大学健康科学センター	助 教 授
	佐々木睦男	弘前大学医学部第二外科	教 授
	瀬戸口敏明	宮崎医科大学第一外科	教 授
	杉山 政則	杏林大学医学部第一外科	助 教 授
	味岡 洋一	新潟大学大学院分子・病態病理学分野	助 教 授
	安藤 久實	名古屋大学大学院小児外科	教 授

厚生省特定疾患  
消化器系疾患調査研究班  
肝内結石症分科会

## 総括研究報告

# 厚生省特定疾患 消化器系疾患調査研究班 肝内結石症分科会

## 総括研究報告

分科会長 二村 雄次

### I 研究の目標

日本における肝内結石症の患者数は減少傾向にあるものの、依然として結石遺残や再発を認める難治例も多い。近年は胆管癌による死亡例が増加しており、大きな問題となっている。

本年度は、成因解明に向けて、日本の多発地区である長崎県上五島地区と世界有数の台湾において疫学研究を行った。

さらに、結石発生機序の解明を目標として、動物実験モデルからのアプローチ、分子生物学的さらには遺伝子学的アプローチによる研究を継続してすすめた。

また、先天性胆道拡張症の術後に発生する肝内結石症に注目し、一般病院での発生率を調査した。

### II 研究成果

#### 1. 疫学的所見

肝内結石症の多発地域である長崎県上五島地区における検討で、ATLや回虫のIgE抗体価が肝内結石症患者で高く、肝内結石症が何らかの感染や環境と関係があるものと推測されてきた。そこで、1) 食生活、2) 環境の衛生状態が成因として関与しているとの仮説を立て、疫学調査を行った。肝内結石症患者では、職業が農漁業で、飲料水が井戸水や河川水であるものが多く、環境の衛生状態が成因とし

て関与していた。一方、食生活の関与は少なかった。

さらに、肝内結石症症例数が世界有数である台湾において疫学的調査を行った。1999年から2000年までのChang Gung Memorial Hospital（台北）における新規肝内結石症患者を対象とした。肝内結石症患者は低社会層に多く、特に河川水や浅い井戸水といった飲水状況が大きく関与していた。

1999年度に集計された全国アンケートの症例473例を重症度分類した。重症度はGrade 1が20%、Grade 2が25%、Grade 3/4が55%であった。ビリルビンカルシウム石の重症度はコレステロール石に比べ有意に高いという結果であった。両葉型では左葉型や右葉型よりも有意に重症度が高かった。死亡例が22例（4.7%）あり、13例が肝内結石症に関連した死亡例で、胆管癌による死亡が10例であった。

#### 2. 成因や病態に関する検討

##### A. 形態学的検討

小児では先天性胆道拡張症の分流手術後に肝内結石症が臨床的に無視できない頻度で発生することが判明している。名古屋大学大学院器官調節外科の関連病院で手術例を対象に調査を行ったところ、手術後に肝内結石を発生した頻度は6.5%であり、診断までの期間は平均10年であった。全例ビリルビンカルシウム石であり、吻合部狭窄の有無に関わらず発生していた。

原発性硬化性胆管炎様の胆管像を呈した肝内結石症例の臨床病理学的検討を行った。頻度は肝内結石症153例中4例(2.6%)であった。特徴としては、ビリルビンカルシウム石であり、小さくてもろく、散在性であることであった。文献的には、両者を合併した症例を検討した報告はほとんどなく、今後さらに検討を進めることが必要である。

肝内結石症における直接胆道造影とMRCPの診断成績を比較した。MRCPは非侵襲的で、全胆管枝の描出に優れ、胆管の閉塞ないし狭窄および狭窄部上流側での結石の描出が良好であった。今後MRCPの併用によりさらに精度の高い診断がすすめられるものと思われる。

#### B. 動物実験モデルによる検討

雑種成犬を用い、胆汁うっ滞作成後に胆道感染を負荷した肝内結石症のモデルを作成した。しかしこのモデルでは期間が2年と長く、胆道感染で死亡するケースも多く効率が悪かった。そこで、総胆管内に7Frシリコンチューブを間置することで、全胆管系に胆汁うっ滞の負荷を作成し、90日後に検討した。死亡例はなく、胆管は肝外肝内ともに著明な拡張と胆管壁の肥厚が認められた。肝内胆管に胆砂は認めるものの、明らかな結石は形成されなかった。以上より、短期間に結石形成をみるには胆道感染の負荷が必要と考えられた。

ラットを用いた肝内結石症実験モデル作成を試みた。上行性胆道感染および肝血流障害が結石形成に関与するとの仮説から、総胆管にPE-50チューブを挿入し十二指腸とのバイパスを作成し、さらに右門脈を結紮した。6カ月後に調査したところ、50%に肝内胆管に結石および泥状沈殿物を認めた。

ブリードッグを用いた肝内コレステロール結石モデルでは、高コレステロール食群とコントロール群にて検討した。高コレステロール食群では、肝内にコレステロール石が形成され、その近傍に胆管周囲炎や胆管上皮の乳頭状増生による狭窄を認めた。また、主に左肝管に粘液が存在し、goblet cellにはシアロムチンを認めた。

#### C. 病態生理学的検討

肝内結石症の成因には、慢性増殖性胆管炎とムチン過剰分泌が重要である。胆管上皮におけるアラキドン酸カスケードの活性化とプロスタグランジンE<sub>2</sub>産生の増加が、胆管上皮の炎症とムチン過剰分泌を引き起こす。さらにアラキドン酸カスケードの活性化の背景にはシクロオキシゲナーゼ2の誘導、プロスタグランジンE<sub>2</sub>の情報伝達機構には細胞膜に存在するプロスタグランジンE受容体が介在している。そこで、肝内結石症における慢性増殖性胆管炎の胆管壁におけるシクロオキシゲナーゼ2およびプロスタグランジンE受容体の発現様式を解析した。その結果、シクロオキシゲナーゼ2の発現誘導、プロスタグランジンE受容体の発現を認め、それらが肝内結石発生に関与しているものと考えられた。

各種菌体成分(LPS、LTA)および胆汁酸でマウス肝内胆管培養細胞を刺激し、ムチン産生能にどのような変化が生じるのかを検討した。各種菌体成分刺激により、胆管上皮のMUC2、3、5ac mRNAの発現が亢進した。肝内結石症でみられる変化に類似しており、細菌感染と結石形成の関連が示唆された。一方、胆汁酸刺激によりいずれのムチンコア蛋白mRNAも亢進し、粘液産生は増加した。胆汁酸も結石形成に関わっているものと考えられた。

肝内結石症を合併する肝内胆管癌と、結石非合併肝内胆管癌の癌発生母地および癌発生機序を解明することを目的に、粘液形質を検討した。結石併存例は、上皮内癌部、浸潤部ともに胃型を含む化生型粘液形質を示した。結石非併存例では、上皮内癌部で固有型の粘液形質を示すものがあり、浸潤部では粘液発現が著減し、分類不能型となっていた(統計的有意差はなかった)。p53蛋白過剰発現については両者間で有意差はなかった。

#### D. 分子生物学的検討

肝内結石症患者の胆汁および肝内結石、胆汁中ムチン中の脂質について分析した。単純脂質のコレステロール、トリグリセリド、脂肪酸には変化はみられなかった。複合脂質では、リン脂質酸コリンリン



体、リン脂質酸エタノールアミンが特徴的であった。特にリン脂質酸コリンリゾ体の増加は胆管壁障害性やホスホリパーゼ活性上昇の知見と合致し、本脂質の成因への関与が予測された。

肝内結石症において、コレステロール合成と異化の律速酵素であるHMG-CoA reductaseとcholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylaseの調節異常が結石形成の原因の一つと指摘されている。しかし、両酵素のmRNAレベルを検討したが、肝内結石症例の非結石葉と結石葉で有意な差を認めなかった。肝内結石症例とコントロール症例との間では、肝内結石の非結石葉でcholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylaseのmRNAレベルが有意に高かった。

#### E. 遺伝子学的検討

肝内結石症では片葉性のものが多く、結石側と非結石側の肝臓の分子生物学的差異が予測されてい

る。この点を明らかにするため、differential display法を用いてmRNAの発現の差異を検出し、その遺伝子をシーケンシングして同定した。その結果、KIAA0605、FHR2、RNA polymerase II subunit hRPB3、CYP27、SDF1、C8ORF1、EFEMP1、HNRPD、TM4SF3、deoxyribonuclease IIは結石側肝葉にCRP、transferrin、IGFBP-2、hemopexinは非結石側肝葉に、lacto-ferrinは結石側胆管に明らかに強い発現を認めた。ただし、これらの働きに関しては不明な点が多く、今後の検討が必要である。

肝内結石症における遺伝子発現の変化を、DNA array法で網羅的に解析同定した。結石肝においてproto-oncogeneとtumor suppressor geneの広範囲な発現亢進を認めた。また、癌合併例ではtumor suppressor geneよりproto-oncogeneが強く発現していた。

厚生省特定疾患  
消化器系疾患調査研究班  
肝内結石症分科会

**平成 12 年度 分担研究報告**

# 肝内結石症における Hospital Based Case-Control Studyの方法論

九州大学 健康科学センター

研究協力者 馬場園 明

## はじめに

肝内結石症の多発地区である長崎県上五島地区においては今まで多くの疫学調査が行われてきており、多くの知見が明らかとなっている<sup>1)-8)</sup>。環境的な要因としては、肝内結石症患者では、生家や世帯主の職業が農漁業が多く、井戸水や河川水の飲用や汲取り式トイレの使用が多い傾向がみられ、小中学校時に生の食品の摂取頻度も高い傾向もみられた<sup>7)</sup>。しかし、地域における発症の頻度と水質との関連は認められていない<sup>1)</sup>。遺伝的な要因の研究では、肝内結石症とHLA抗原との関連は認められなかった<sup>4)</sup>。感染との関連では、肝内結石症患者は、対照群と比べ、ATLVやC型肝炎の感染率は高いことが明らかになっているが、B型肝炎およびヘリコバクタピロリの感染との関連は明らかでなかったとされている<sup>5)-7)</sup>。さらに、肝内結石症の直接の原因として回虫卵が寄与していた可能性が高いと考えられる報告もなされている<sup>2) 9)</sup>。

しかし、これまでの研究には改善すべき問題がないとはいえない。

たとえば、「肝内結石症多発地区である長崎県上五島地区における肝内結石症とATLVウイルス感染について」の研究では、肝内結石症例のATLV感染率は61例中30例で42.9%であり、一般住民検診受診者は1260例中382例で30.3%と、肝内結石症例の方が高率であったとされている<sup>5)</sup>。また、「長崎県上五島地区における肝内結石症とHCV感染について」では、肝内結石症例のHCV抗体陽性者は115例中33例で

28.7%、一般住民検診受診者が1325例中123例で9.2%と大きな違いが認められたことが報告されている<sup>8)</sup>。

これらの研究では、症例は上五島地区の原発性肝内結石症のうち抗体の検索が可能であった症例である。そして、住民検診受診者で得られた当地区の感染率と比較している。この場合、肝内結石症の患者で抗体検査を受けた者と受けていない者の間にバイアスがないこと、住民検診の参加者が上五島地区の住民を代表することが前提になるがその保証はない。また、これらの結果が交絡によってもたらされた危険性も否定できない。

ここでは、上五島地区における疫学研究を向上させるための方法論について提案したい。

## 研究仮説と方法

疫学研究においてもっとも大事なことは研究仮説を明確にして、それに対応した方法をとることである。

肝内結石症の直接の原因としては、回虫、ATLV、C型肝炎の感染が疑われている。また、肝内結石症の患者の生家や世帯主が農漁業であり、上水道、下水道が完備していない者が多く、小中学時よく病欠していた。これらの研究結果から考えても、急速に肝内結石症の罹患率が低下していったことから、肝内結石症はなんらかの感染、とりわけ胆管の炎症が肝内結石症に関連していると推測することが妥当であると考えられる。

したがって、回虫、ATLVやC型肝炎の感染が肝内結石症の原因であるという仮説を立て、他の環境要因を交絡要因として分析をすべきである。

研究デザインとしては、症例が限られており、今後新規の発生が困難である事から、症例対照研究が望ましいと考えられる。また、症例対照研究でも、回虫抗体、ATLV抗体、C型肝炎抗体の検査値が必要であるが、これらの検査を一般住民で行うのは困難である。また、この地域では中核病院は1ヶ所に限定されることから、hospital based case-control studyで研究を行うことが効率的であると考えられる。

すなわち、症例群に対し、hospital baseで対照群を適切に選択し、回虫抗体、ATLV抗体、C型肝炎抗体などを直接の要因とし、性、年齢、喫煙の有無、飲酒の有無、輸血歴、上水道、下水道などの生活背景をpotential confounderとし、multiple logistic modelで解析し、バイアスや交絡を取り除き、正確にodds ratioを定量する方法を提案する。

### Hospital based case-control study の源泉集団と対照集団

Hospital based case-control studyの源泉集団は、問題となる疾病にかかったときにその病院で治療を受けるであろう人々である。この点においては、

community based case-control studyと同じである。

しかしながら、最大の違いは対照集団がcommunity based case-control studyの場合、図1に示すように源泉集団そのものであるのに対し、hospital based case-control studyの場合は、その疾患以外の別の疾患にかかっている患者である。

研究において私たちが知りたいのは、要因のある群と要因のない群の罹患率比、すなわち $IRR = A/P_1 / C/P_0$ である。

Community based case-control studyでは、症例A、Cに対し、対照を源泉集団からsamplingするのでOdds ratioは $A/P_1 / C/P_0$ となる。これはIRRとなる。

一方、hospital based case-control studyでは症例A、Cに対し、対照を要因とは独立した他の疾患をもつ患者B、Dから選択する。

$$\text{Odds ratio} = AD/BC$$

(要因+)の対照疾患の罹患率 =  $B/P_1$

(要因-)の対照疾患の罹患率 =  $D/P_0$

対照疾患の発生が要因に独立していれば、 $B/P_1 = D/P_0$ である。

その場合、 $AD/BC = A/P_1 / C/P_0 = IRR$ が成立する。一方、 $B/P_1 \neq D/P_0$ が成立していなければ

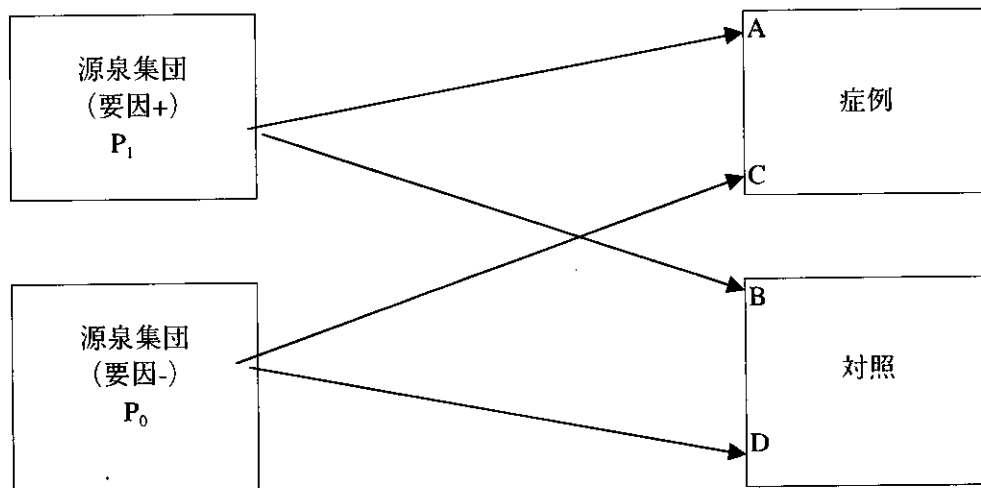


図1. Hospital based case-control studyのモデル

AD/BCは何を意味するかわからなくなる。

すなわち、hospital based case-control studyで最も重要なことは、対照疾患として要因と独立した疾患を選ぶことである。

### Hospital based case-control study における選択バイアスのコントロール法

Hospital based case-control studyにおいて源泉集団はその地理的領域の集団と一致しているのではなく、その病院や診療所に研究目的とする疾病のケースを供給する人々である。したがって、対照疾患は症例疾患と同じような受診パターンをとっていることが基本となる。ある疾患の専門家がいて、症例疾患と全く違った紹介パターンをとる場合、その疾患を対照疾患としてはならない。

Hospital based case-control studyでは仮説にある要因と独立である疾患をもつ患者を対照として選ばなければならない。例えば、喫煙と白血病の仮説上の研究で、白血病以外の疾患を選んだと仮定する。多くの疾患は喫煙と関係しているために、その研究結果は影響を過小評価することになる。したがって、肝炎ウイルスと肝内結石症の関連を明らかにする研究で、肝炎や肝硬変を対照疾患として選択してはならない。複数の仮説がある場合は、それらのすべての要因に独立した疾患を対照疾患として選択しなければならない。そのためには、少数の疾患に限ることが選択バイアスを減少させるコツである。

この研究における仮説は、肝内胆管の炎症が肝内結石を起こすというものである。したがって、対照疾患は肝内の炎症を伴う疾患を除かなければならない。なおかつ、肝内結石症の患者と受診パターンが同じある疾患でなければならない。

対象となった病院は離島の基幹病院であり、源泉集団は限定されている。肝内結石症は高齢者に多い慢性疾患である。この疾患と受診パターンが同じ疾患で、ありふれており、しかも肝内の炎症と独立し

た疾患として、糖尿病、高血圧、肺癌などを選択することを考慮した。

### Hospital based case-control studyの 情報バイアスのコントロール法

情報バイアスは診断名および暴露の要因の誤分類によって起こる。診断に関してはできるだけ客観的な診断基準に基づいているかどうかをチェックする必要がある。要因に関しても客観的な指標が必要である。B型肝炎、C型肝炎の感染を抗体価で判断すれば、誤分類はあまり気にしなくても良い。しかし、仮説が肝内胆管の炎症とする場合、実際の肝炎の既往が要因となる。その場合は、情報バイアスを小さくするためには、B型肝炎、C型肝炎の感染の既往の基準を作ることも検討に値しよう。

### Hospital based case-control study の交絡のコントロール法

交絡要因と考えられるものが多数ある場合の交絡の制御には多変量解析を用いる。症例対照研究ではmultiple logistic modelが使われることが多い。

Logistic modelは、従属変数が2つの値しかとらないデータで利用する。すなわち、結果が疾病が発生するかしないかといった2値データを対象とする。2値データの一つが発生する確率を $\theta$ とすると、もう一つが発生する確率は $1-\theta$ となる。これらの比 $\theta/(1-\theta)$ の自然対数をとったものをlogit変換といい、次のように示す。

$$\text{logit}(\theta) = \ln \{ \theta / (1 - \theta) \}$$

これに線形の関数を当てはめると次のようになる。

$$\ln \{ \theta / (1 - \theta) \} = \alpha + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \cdots + \beta_n x_n$$

この式を変形すると次のようになる。

$$\theta = 1 / \{ 1 + \exp(\alpha + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \cdots + \beta_n x_n) \}$$

上式の右辺の関数をlogistic関数ということから、このmodelをmultiple logistic modelという。

### 肝内結石症の疫学における multiple logistic model

$x_1, x_2, \dots, x_n$ は肝内結石症の発生に影響を与える、性、年齢、C型肝炎の既往といった曝露要因であるとする。ここで、 $x_1$ がC型肝炎の既往である場合を考えてみる。この場合C型肝炎の既往者は $x_1 = 1$ 、非既往者は $x_1 = 0$ である。C型肝炎の既往者の場合の肝内結石症の発生確率を $\theta_1$ 、非既往者の場合の発生確率を $\theta_0$ とする。他の要因は全く同じであると仮定すると、

$$\begin{aligned} \ln \{ \theta_1 / (1 - \theta_1) \} &= \alpha + \beta_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_n x_n \\ \ln \{ \theta_0 / (1 - \theta_0) \} &= \alpha + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_n x_n \end{aligned}$$

となる。

この両式から $\beta_1 = \ln \{ \theta_1 (1 - \theta_0) / \theta_0 (1 - \theta_1) \}$ となる。

$\theta_1 (1 - \theta_0) / \theta_0 (1 - \theta_1)$ はC型肝炎の既往と肝内結石症の関連を示すodds ratioに他ならない。したがって、 $\beta_1$ の推定値とその標準偏差が求まればodds ratioは、

$$OR = \exp(\beta_1)$$

その95%信頼区間は、 $\beta_1$ の標準偏差をSEとすると

$$\exp(\beta_1 \pm 1.96SE) \text{ で示される。}$$

### 複数の対照疾患を 用いた場合の解析の結果

3つの対照疾患を用いた解析によって起こり得る結果は、次の3通りである。

- 1) すべての対照疾患のodds ratioの推定値が同じである。
- 2) 2つの対照疾患のodds ratioの推定値が同じである。
- 3) すべてのodds ratioの推定値が異なる。

1) が理想である。推定値が同じと考えられれば統合することによって、より精度の高い推定値を求めることができる。

2) の場合は異なった推定値の出た対照疾患に係するバイアスの検討を要す。

3) の場合は研究の結果を発表することは困難であろう。

### おわりに

Community based case-control studyでは、多数の仮説が検証できるが、対照は疾病にかかっていない源泉集団である。病院の患者を症例とした場合、源泉集団を特定することは困難であることが多い。そのような場合は、hospital based case-control studyを試みるのが勧められる。しかしながら、hospital based case-control studyはcommunity based case-control studyとモデルが異なることについてはあまり知られていない。

Hospital based case-control studyの場合、対照疾患の選択に要因と独立した疾患を選ばなければならないという縛りがある。そのため、仮説が明確でない研究では選択バイアスを避けることができない。また、一つの研究では限られた仮説しか検証できないことや、対照疾患を限ることが選択バイアスをコントロールすることに役にたつことも理解されるべきであろう。

### 文 献

- 1) 大坪光次, 藤尾俊之, 白浜 敏, 他: 肝内結石症の多発地区である長崎県上五島地区における肝内結石症の疫学的研究, 日本消化器病学会雑誌 86(2): 208-213, 1989.
- 2) 古川正人, 山田隆平, 中田俊則, 他: 回虫卵が成因と考えられた肝内結石症の1例, 胆道 3(4):484-788, 1989.
- 3) 藤尾俊之, 大坪光次, 菅 和男, 他: 兄弟にみられた肝内結石症について, 胆と膵 12:77-81, 1991.
- 4) 古川正人, 古井純一郎, 八坂貴宏, 他: 肝内結石症の時代変遷—五島列島における特殊性—, 胆と膵 15:409-413, 1994.

- 5) 古川正人, 大坪光次, 佐々木誠, 他: 肝内結石症多発地区である長崎県上五島地区における肝内結石症とATLウイルス感染について: 厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班, 平成7年度研究報告書, 30-33, 1996.
- 6) 古川正人, 大坪光次, 佐々木誠, 他: 肝内結石症多発地区である長崎県上五島地区における各種ウイルス感染, 特にATLウイルス感染とHBウイルス感染について: 厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班, 平成8年度研究報告書, 13-16, 1997.
- 7) 榑原久孝, 豊嶋英明, 大坪光次, 他: ヘリコバクター・ピロリ感染と肝内結石症: 厚生省特定疾患に関する疫学研究班, 平成10年度研究報告書, 155-158, 1999.
- 8) 古川正人, 大坪光次, 佐々木誠, 他: 長崎県上五島地区における肝内結石症とHCV感染について: 厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班, 平成10年度研究報告書, 15-25, 1999.
- 9) 古川正人, 八坂貴宏, 佐々木誠, 他: 上五島地区における肝内結石症と回虫感染: 厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班, 平成11年度研究報告書, 15-25, 2000.

# 上五島地区における肝内結石症の成因に関する疫学調査

国立長崎中央病院 外科<sup>1)</sup>

長崎県離島医療圏組合上五島病院 内科<sup>2)</sup>

九州大学 健康科学センター<sup>3)</sup>

研究協力者 古川 正人<sup>1)</sup>

共同協力者 八坂 貴宏<sup>1)</sup>, 白浜 敏<sup>2)</sup>

馬場園 明<sup>3)</sup>

## はじめに

長崎県上五島地区は肝内結石症の多発地域として知られ、その成因追求のため様々な検討を行ってきたが、未だ明らかとなっていない。これまでの検討では、ATLV抗体や回虫のIgE抗体価が肝内結石症患者で対照群よりも高く、肝内結石症が何らかの感染や環境との関係があるものと推測された<sup>1),2)</sup>。

そこで、長崎県上五島地区において結石の成因を検討するために、作業仮説として、1) 環境の衛生状態が成因として関与している可能性がある、2) 食生活が成因として関与している可能性がある、の2つをあげ、肝内結石症患者と対照者の症例対照研究を行ったので報告する。

## 対象と方法

症例として、平成12年10月～12月に上五島地区在住者で当院を受診した肝内結石症治療後の患者を抽出し、対照は同地区の住民で同時期に当院を受診した胆石を保有しない患者で、性、年齢(±3才)のマッチした者とした。症例1例に対して、対照2例を設定し、調査は、面接による聞き取り調査を行った。

まず研究対象の性、生年月日、年齢、胆石症の有無、身長、体重について調査し、条件にマッチした患者について、居住・職業歴、出生時および発育状

況、婚姻歴・出産歴、既往歴・家族歴、生活環境、食事・嗜好に関するものを調査した。

解析は、ロジスティック回帰分析により、オッズ比を算出し、P値0.05未満を有意差ありとした。

症例が46例、対照が92例の計138例で、性別は症例で男性28例、女性18例、対照は2倍の56例、36例であった。年齢は、症例70.2±9.8才、対照69.8±10.0才であった(表1)。

表1. 対 象

例 数	症 例	対 照	46例		
			92例	計	138例
性 別	症 例	対 照	男 性：女 性=28：18		
			男 性：女 性=56：36		
年 令	症 例	対 照	70.2±9.8才		
			69.8±10.0才		

## 成 績

### 1. 発育状況、体格、職業歴(表2)

出生時の体格、小学生時の体格など発育状況について検討し、現在の体格をBody Mass Indexにて比較したが、差は見られなかった。職業歴では、生家の職業は差が見られなかったが、現在の世帯主の職業を農漁業とその他について検討すると、オッズ比5.49で、有意に症例で農漁業従事者が多くみられた。

### 2. 健康状態(表3)

健康状態および学校・職場の欠席・欠勤状況をみると、12才までと13-19才時で、症例で体が弱く、よ



表 2. 発育状況、体格、職業歴

		症 例 (n=46)	対照者 (n=92)	オッズ比 (95%CI) (性・年齢補正)
発育状況				
小学校時の体格	や せ	15 (32.6%)	25 (27.2%)	1.38 (0.63~3.06)
	普通・太り気味	31 (67.4%)	67 (72.8%)	
現在の体格				
BMI	-22.5	26 (56.5%)	51 (56.0%)	1.01 (0.49~2.08)
	22.5-	20 (43.5%)	40 (44.0%)	
職業歴				
生家の職業	農 漁 業	38 (84.4%)	72 (79.1%)	1.39 (0.53~3.62)
	そ の 他	7 (15.6%)	19 (20.9%)	
世帯主の職業	農 漁 業	38 (84.4%)	45 (49.5%)	5.49 (2.22~13.59)
	そ の 他	7 (15.6%)	46 (50.5%)	

表 3. 健康状態

		症 例 (n=46)	対照者 (n=92)	オッズ比 (95%CI) (性・年齢補正)	P 値
健康状態					
12歳まで	弱かった	21 (45.7%)	6 (6.5%)	13.6 (4.76~38.88)	<0.0001
	普通・丈夫	25 (54.3%)	86 (93.5%)		
13-19歳	弱かった	12 (26.1%)	3 (3.3%)	11.5 (2.98~44.28)	0.0004
	普通・丈夫	34 (73.9%)	89 (96.7%)		
20-29歳	弱かった	5 (10.9%)	5 (5.4%)	2.12 (0.58~7.76)	0.26
	普通・丈夫	41 (89.1%)	87 (94.6%)		
30-39歳	弱かった	7 (15.2%)	5 (5.4%)	3.16 (0.94~10.63)	0.06
	普通・丈夫	39 (84.8%)	87 (94.6%)		
40-49歳	弱かった	9 (19.6%)	7 (7.6%)	3.06 (1.05~8.93)	0.04
	普通・丈夫	37 (80.4%)	85 (92.4%)		
50歳以降	弱かった	18 (40.0%)	15 (16.5%)	3.39 (1.50~7.67)	0.003
	普通・丈夫	27 (60.0%)	76 (83.5%)		
学校・職場の欠席、欠勤状況					
12歳まで	よく休んだ	17 (37.0%)	5 (5.4%)	10.8 (3.61~32.51)	<0.0001
	休まなかった	29 (63.0%)	87 (94.6%)		
13-19歳	よく休んだ	10 (21.7%)	2 (2.2%)	13.8 (2.81~67.46)	0.0012
	休まなかった	36 (78.3%)	90 (97.8%)		
20-29歳	よく休んだ	4 (8.7%)	3 (3.3%)	2.84 (0.60~13.39)	0.19
	休まなかった	42 (91.3%)	89 (96.7%)		
30-39歳	よく休んだ	5 (10.9%)	6 (6.5%)	1.82 (0.52~6.42)	0.35
	休まなかった	41 (89.1%)	86 (93.5%)		
40-49歳	よく休んだ	8 (17.4%)	6 (6.5%)	3.11 (0.99~9.76)	0.051
	休まなかった	38 (82.6%)	86 (93.5%)		
50歳以降	よく休んだ	12 (26.7%)	6 (6.6%)	6.01 (1.99~18.16)	0.015
	休まなかった	33 (73.3%)	85 (93.4%)		

く学校や職場を休んだものがオッズ比で10.8~13.8と多く認められた。これらの症例では、小中学生時に腹痛発作様の症状を頻繁に認めており、この頃に何らかの腹部疾患を抱えていたものと推測される。また、50才以降でも職場を休んだものが多くみられるが、これは肝内結石症のよるものと考えられる。

3. 婚姻歴、出産歴 (表4)

婚姻歴、出産歴をみると、症例で、子供の数が多くみられた。

4. 既往歴 (表5)

既往歴は、消化管疾患、肝胆道系疾患、心疾患、腎疾患、代謝性疾患、血液疾患、感染症、手術の既

表4. 婚姻歴、出産歴

			症例 (n=46)	対照者 (n=89)	オッズ比 (95%CI) (性・年齢補正)	P 値
結 婚	未 婚		3 (6.5%)	7 (7.9%)	0.85 (0.21~3.48)	0.82
	既 婚		43 (93.5%)	82 (92.1%)		
結 婚 年 令	25才未満		19 (44.2%)	37 (45.1%)	0.99 (0.43~2.30)	0.98
	25才以上		24 (55.8%)	45 (54.9%)		
子 供 の 数	4人以上		29 (67.4%)	37 (45.1%)	2.38 (1.09~5.23)	0.03
	4人未満		14 (32.6%)	45 (54.9%)		

			症例 (n=18)	対照者 (n=32)	オッズ比 (95%CI) (性・年齢補正)	P 値
女性について						
最初の子の出産年齢	25才未満		12 (66.7%)	19 (59.4%)	1.45 (0.43~4.91)	0.55
	25才以上		6 (33.3%)	13 (40.6%)		
出産後の体調の変化	あった		3 (16.7%)	2 (6.3%)	2.81 (0.42~18.83)	0.29
	なかった		15 (83.3%)	30 (93.7%)		

表5. 既往歴

			症例 (n=46)	対照者 (n=85)	オッズ比 (95%CI) (性・年齢補正)	P 値
黄 疸	あ る		20 (43.5%)	4 (4.7%)	16.1 (5.13~53.89)	<0.001
	あ り ない		26 (56.5%)	81 (95.3%)		
肝機能障害・肝炎	あ る		13 (28.3%)	11 (12.9%)	2.60 (1.04~6.49)	0.04
	あ り ない		33 (71.7%)	74 (87.1%)		
回 虫	あ る		19 (44.2%)	14 (17.1%)	3.39 (1.67~9.24)	0.0017
	あ り ない		24 (55.8%)	68 (82.9%)		
結 核	あ る		1 (2.2%)	7 (8.2%)	0.22 (0.03~1.85)	0.16
	あ り ない		45 (97.8%)	78 (91.8%)		
麻 疹	あ る		18 (51.4%)	38 (46.3%)	1.26 (0.56~2.88)	0.58
	あ り ない		17 (48.6%)	44 (53.7%)		
風 疹	あ る		6 (20.7%)	19 (25.0%)	0.81 (0.29~2.30)	0.69
	あ り ない		23 (79.3%)	57 (75.0%)		
胃・十二指腸潰瘍	あ る		10 (21.7%)	20 (23.5%)	0.91 (0.38~2.17)	0.82
	あ り ない		36 (78.3%)	65 (76.5%)		
糖 尿 病	あ る		3 (6.5%)	11 (12.9%)	0.46 (0.12~1.75)	0.26
	あ り ない		43 (93.5%)	74 (87.1%)		
心 臓 病	あ る		3 (6.5%)	10 (11.8%)	0.48 (0.12~1.88)	0.29
	あ り ない		43 (93.5%)	75 (88.2%)		
貧 血	あ る		9 (19.6%)	10 (11.8%)	1.99 (0.71~5.61)	0.19
	あ り ない		37 (80.4%)	75 (88.2%)		

往、輸血の既往について調査した。表5のごとく、症例で黄疸の既往のあるものが、オッズ比16.1と多く認められ、次ぎに回虫の既往のある者が、オッズ比3.39、肝機能障害の既往のある者が、オッズ比2.60で症例に多く認められた。

### 5. 家族歴 (表6)

家族歴は、家族の健康状態、血族結婚の有無、既往歴と同じ疾患の有無について調査した。父親の健康状態が病気がちなものが、オッズ比2.67で、症例に多くみられが、他は差異をみとめなかった。

### 6. 生活環境 (表7)

生活環境は、飲料水、トイレ、手洗い、生水飲用の有無について調査を行った。飲料水は、現在、ほとんどが水道水であり比較ができなかったが、生家で井戸水や河川の水を飲んでいるものが、オッズ比5.65で有意に多く認められた。しかし、生水飲用の状況には差を認めなかった。トイレについては、対象のほとんどが50才以上であり、現在でもくみ取り

式の家が多く差はみられなかった。

### 7. 食生活 (表8-1、8-2)

食事については、表8に示す食品群について、食べる頻度を、①ほぼ毎日、②週に3日以上、③週に2日以内、④あまり食べない、⑤全く食べない、の5つの選択肢で調査し、症例では肝内結石症に罹患する前の平均的な食事について聞き取った。解析は、週に3日以上食べるかどうかで比較した。

ほうれん草、人参、ピーマンなどの緑黄色野菜を食べるものが、オッズ比2.24で、症例に多く認められたが、他の食品では差がみられなかった。

### 8. 嗜好品 (表9)

タバコ、お酒、コーヒーなどの嗜好品の摂取には、差は認められなかった。

### 9. 参考 (表10)

今回の症例、対照のうち、HBs抗原、HBs抗体、HCV抗体、ATLV抗体および回虫特異的IgE抗体の判明している症例、対照を選び、解析を行った。

表6. 家族歴

		症例 (n=45)	対照者 (n=89)	オッズ比 (95%CI) (性・年齢補正)	P値
父親の健康状態	病気がち	11 (25.6%)	10 (11.5%)	2.67 (1.03~6.92)	0.04
	元気	32 (74.4%)	77 (88.5%)		
母親の健康状態	病気がち	7 (17.5%)	9 (10.2%)	1.90 (0.65~5.54)	0.24
	元気	33 (82.5%)	79 (89.8%)		
配偶者の健康状態	病気がち	9 (20.0%)	19 (22.4%)	0.76 (0.30~1.93)	0.57
	元気	36 (80.0%)	66 (77.6%)		
血族結婚の有無	有り	4 (10.0%)	7 (7.9%)	1.28 (0.35~4.69)	0.72
	無し	36 (90.0%)	82 (92.1%)		
胆石	ある	5 (11.9%)	9 (11.5%)	1.12 (0.34~3.70)	0.86
	ない	37 (88.1%)	69 (88.5%)		
肝炎	ある	3 (7.3%)	4 (5.1%)	1.48 (0.31~7.00)	0.62
	ない	38 (92.7%)	75 (94.9%)		
胃・十二指腸潰瘍	ある	4 (9.1%)	8 (10.0%)	0.96 (0.27~3.47)	0.95
	ない	40 (90.9%)	72 (90.0%)		
回虫	ある	2 (5.4%)	4 (5.5%)	0.96 (0.17~5.51)	0.96
	ない	35 (94.6%)	69 (94.5%)		
結核	ある	1 (2.4%)	8 (10.4%)	0.21 (0.03~1.79)	0.15
	ない	41 (97.6%)	69 (89.6%)		
麻疹	ある	15 (40.5%)	26 (35.1%)	1.23 (0.53~2.86)	0.62
	ない	22 (59.5%)	48 (64.9%)		
風疹	ある	4 (12.5%)	15 (22.1%)	0.52 (0.15~1.74)	0.29
	ない	28 (87.5%)	53 (77.9%)		

ATLウイルス抗体陽性例がオッズ比4.33で、症例において有意に多く認められたが、HCV抗体、回虫特異的IgE抗体には差を認めなかった。

考 察

これまで、肝内結石症多発地域である長崎県上五島地区において結石の成因解明のために行ってきた

表 7. 生活環境

		症 例 (n=46)	対照者 (n=92)	オッズ比 (95%CI) (性・年齢補正)	P 値
現在の飲料水	井戸・河川水 水道水	—	—	—	—
生家の飲料水	井戸・河川水 水道水	38 (82.6%) 8 (17.4%)	46 (50.5%) 45 (49.5%)	5.65 (2.16~14.78)	0.0004
現在のトイレ	くみ取り式 水洗	40 (87.0%) 6 (13.0%)	70 (76.1%) 22 (23.9%)	2.12 (0.79~5.72)	0.14
生家のトイレ	くみ取り式 水洗	—	—	—	—
3度の食事前の手洗い	ほぼ実行 時々・洗わない	23 (50.0%) 23 (50.0%)	34 (37.0%) 58 (63.0%)	1.74 (0.81~3.70)	0.15
生水の飲用	よく・時々 ほとんど飲まず	25 (54.3%) 21 (45.7%)	45 (48.9%) 47 (51.1%)	1.29 (0.62~2.68)	0.49

表 8-1. 食生活：食事について (1)

		症 例 (n=46)	対照者 (n=92)	オッズ比 (95%CI) (性・年齢補正)	P 値
パ ン	週 3 日以上	11 (23.9%)	26 (28.3%)	0.78 (0.34~1.77)	0.55
	3 日未満	35 (76.1%)	66 (71.7%)		
み そ 汁	週 3 日以上	43 (93.5%)	84 (91.3%)	1.24 (0.30~5.13)	0.77
	3 日未満	3 (6.5%)	8 (8.7%)		
魚 — さしみ	週 3 日以上	15 (32.6%)	43 (46.7%)	0.56 (0.18~1.20)	0.13
	3 日未満	31 (67.4%)	49 (53.3%)		
焼 魚	週 3 日以上	16 (34.8%)	27 (29.4%)	1.40 (0.64~3.04)	0.4
	3 日未満	30 (65.2%)	65 (70.6%)		
煮 魚	週 3 日以上	18 (39.1%)	31 (33.7%)	1.23 (0.59~2.58)	0.58
	3 日未満	28 (60.9%)	61 (66.3%)		
貝 類	週 3 日以上	2 (4.4%)	2 (2.2%)	2.05 (0.28~15.23)	0.48
	3 日未満	44 (95.6%)	90 (97.8%)		
海 藻 類	週 3 日以上	29 (63.0%)	51 (55.4%)	1.39 (0.67~2.87)	0.38
	3 日未満	17 (37.0%)	41 (44.6%)		
肉 類	週 3 日以上	16 (34.8%)	35 (38.0%)	0.89 (0.42~1.87)	0.75
	3 日未満	30 (65.2%)	57 (62.0%)		
卵 — 生	週 3 日以上	6 (13.0%)	15 (16.3%)	0.78 (0.28~2.18)	0.64
	3 日未満	40 (87.0%)	77 (83.7%)		
調 理	週 3 日以上	21 (45.7%)	48 (52.2%)	0.79 (0.38~1.62)	0.51
	3 日未満	25 (54.3%)	44 (47.8%)		
牛 乳	週 3 日以上	21 (45.7%)	50 (54.4%)	0.64 (0.31~1.34)	0.23
	3 日未満	25 (54.3%)	42 (45.6%)		
バターなど	週 3 日以上	7 (15.2%)	8 (8.7%)	1.82 (0.61~5.40)	0.28
	3 日未満	39 (84.8%)	84 (91.3%)		