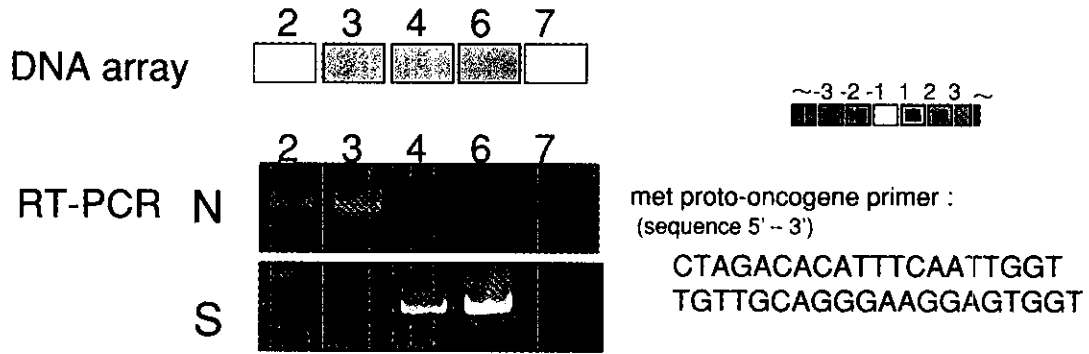


met proto-oncogene



β actin

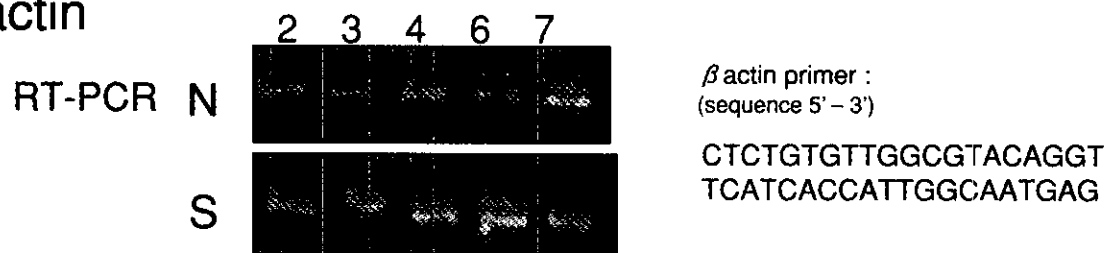


図5 癌非合併例における met proto-oncogene の発現

37 DNA damage repair genes

- 1c DNA polymerase alpha catalytic subunit (POLA)
- 2c ataxia telangiectasia mutated protein (ATM)
- 3c G22P1; Ku 70-kDa subunit (KU70); 70-kDa thyroid autoantigen (TLAA)
- 4c Ku (p70/p80) subunit; ATP-dependent DNA helicase II 86-kDa subunit; TLAA; CTCBF; CTC85
- 5c ATP-dependent DNA ligase I (LIG1); polydeoxyribonucleotide synthase
- 6c DNA ligase III (LIG3); polydeoxyribonucleotide synthase
- 7c DNA ligase IV (LIG4); polydeoxyribonucleotide synthase
- 8c excision repair cross-complementing rodent repair deficiency complementation group 1 (ERCC1)
- 9c xeroderma pigmentosum group D complementing protein (XPB); XRCC2
- 10c xeroderma pigmentosum group B complementing protein (XPB); ERCC3; BTF2p89
- 11c 6-O-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT);
- 12c mutL protein homolog1 (MLH1; hMLH1);COCA2
- 13c xeroderma pigmentosum group G complementing protein (XPG); XRCC5
- 14c DNA mismatch repair protein PMS1 (PMS1 protein homolog 1)
- 15c DNA mismatch repair protein PMS2 (PMS1 protein homolog 2)
- 16c DNA damage repair & recombination protein 50 homolog (RAD50)
- 17c xeroderma pigmentosum group A complementing protein (XPA)
- 18c xeroderma pigmentosum group C complementing protein (XPC)
- 19c X-ray repair-complementing defective repair in Chinese hamster cells 1 (XRCC1)
- 20c DNA-dependent protein kinase (DNA-PK); DNA-PK catalytic subunit (DNA-PKCS)
- 21c DNA damage repair & recombination protein 52 homolog (RAD52)
- 22c UV excision repair protein RAD23 homolog A (RAD23A; hHR23A)
- 23c ubiquitin-conjugating enzyme E2 17-kDa (UBE2A); ubiquitin-protein ligase; ubiquitin carrier protein
- 24c RecQ protein-like (DNA helicase Q1-like)
- 25c KIAA0078
- 26c DNA mismatch repair protein MSH2
- 27c DNA mismatch repair protein MSH6; muS alpha 160-kDa subunit; GTMBP; GTBP
- 28c DNA recombination & repair protein HNGS1
- 29c torsina; DYT1
- 30c RAD51C truncated protein
- 31c ALKB homolog protein
- 32c damage-specific DNA binding protein p48 subunit (DDBB P48); DDB2
- 33c X-ray repair-complementing defective repair in Chinese hamster cells 4 (XRCC4)
- 34c G-T mismatch-specific thymine DNA glycosylase (TDG)
- 35c X-ray repair-complementing defective repair in Chinese hamster cells 9 (XRCC9)
- 36c endonuclease III homolog 1; HNTH1; OCTS3
- 37c DNA damage repair & recombination protein 54 homolog (RAD54)

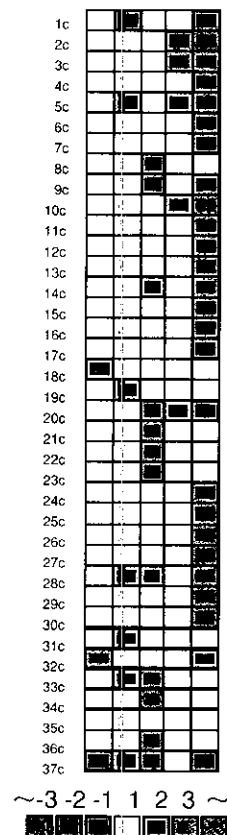


図6 癌非合併例における DNA damage repair gene の発現

33 tumor suppressor genes

- 1a adenomatous polyposis coli protein (APC)
- 2a breast cancer type 2 susceptibility protein (BRCA2)
- 3a colorectal cancer suppressor protein (DCC)
- 4a p53-binding mouse double minute 2 homolog (MDM2)
- 5a neurofibromatosis protein type 1 (NF1); neurofibromin
- 6a MOESIN-ezrin-radixin-like protein (MERLIN) neurofibromatosis 2 (NF2)
- 7a retinoblastoma-like protein 2 (RBL2; RB2)
- 8a p53 cellular tumor antigen
- 9a retinoblastoma-associated protein1 (RB1); phosphoprotein 110 (pp110)
- 10a Von Hippel-Lindau tumor suppressor protein (VHL)
- 11a Wilms' tumor protein (WT33; WT1)
- 12a phosphatase & tensin homolog (PTEN); MMAC1; TEP1
- 13a colorectal mutant cancer protein (MCC)
- 14a cadherin1 (CDH1); epithelial cadherin (E-cadherin; CDHE); UVO; CAM 120/80
- 15a ras-related protein RAP-1A; C21KG; KREV-1 protein; G-22K
- 16a EB1 protein
- 17a ezrin; cytovillin 2; villin 2 (VIL2)
- 18a transforming growth factor beta 3 (TGF-beta3; TGFβ3)
- 19a transforming growth factor beta receptor III (TGF beta receptor III; TGFR3); betaglycan
- 20a prohibitin (PHB)
- 21a tight junction protein 1 (TJP1); zonula occludens (ZO1)
- 22a mothers against decapentaplegic homolog 4 (DPC4; MADH4; SMAD4)
- 23a nucleoside diphosphate kinase B (NDP kinase B; NDKB); NME2; PUF; NM23B
- 24a nucleoside diphosphate kinase A (NDKA); NM23-H1
- 25a TSG101 tumor susceptibility protein
- 26a LUCA15 putative tumor suppressor
- 27a MAP/microtubule affinity-regulating kinase 3 (MARK3)
- 28a wee1Hu CDK tyrosine 15-kinase; wee-1-like protein kinase
- 29a cyclin-dependent kinase 4 inhibitor 2B (CDKN2B); p14-INK4B; MTS2
- 30a cyclin-dependent kinase 4 inhibitor 2 (CDK4; CDKN2); p16-INK4; MTS1
- 31a cyclin-dependent kinase 4 inhibitor 2D (CDKN2D); p19-INK4D
- 32a cyclin-dependent kinase inhibitor 1C (CDKN1C); p57; KIP2
- 33a cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (CDKN1A); MDA6; CIP1; WAF1; SDI1

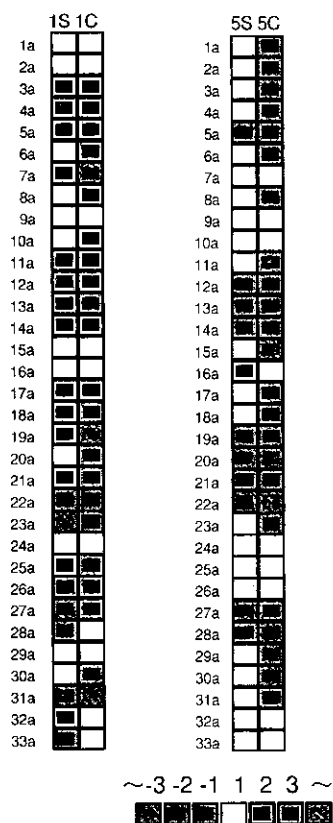


図7 癌合併例における tumor suppressor gene の発現

により tumor suppressor gene の発現に差があることがわかる。各症例で結石存在部位の肝葉と癌では遺伝子が共通して発現亢進または低下を認め、結石存在部位の肝葉と癌において tumor suppressor gene は類似した発現パターンを示した。

癌合併例での結石存在部位の肝葉と癌での proto-oncogene の発現 (図 8a、8b、8c)

tumor suppressor gene とは異なり 2 症例で共通して発現している遺伝子をいくつか認めた。また各

症例で結石存在部位の肝葉と癌では遺伝子が共通して亢進または低下していることを認め、tumor suppressor gene と同様の傾向を示した。9 遺伝子が癌合併例の癌に共通して発現亢進していた(表4)。これらは癌非合併例の結石存在部位の肝葉に発現亢進していたものとは異なっていた。c-*fgf* proto-oncogene の発現を DNA array と RT-PCR で検討した(図 9)。N は結石非存在部位の肝葉、S は結石存在部位の肝葉、C は癌を示し、DNA array で発現亢進を

表4 癌合併例における proto-oncogene の発現

fos-related antigen 2 (FRA2); fos-like antigen 2 (FOSL2)
fos-related antigen 1 (FRA1); fos-like antigen 1 (FOSL1)
mitogen-activated protein kinase kinase kinase 8 (MAPKKK8);
papillary thyroid carcinoma-encoded protein + RET proto-oncogene
epidermal growth factor receptor (EGFR); erbB proto-oncogene
c- <i>fgf</i> proto-oncogene (p55-FGR); SRC2
src homology 2 protein (SHB)
matrix metalloproteinase 10 (MMP10); stromelysin 2
CD82 antigen; metastasis suppressor kangai 1

100 proto-oncogenes

- 1b c-fos proto-oncogene; G0S7 protein
- 2b c-jun proto-oncogene
- 3b myb proto-oncogene
- 4b myc proto-oncogene
- 5b c-rel proto-oncogene protein
- 6b L-myc proto-oncogene (MYCL1)
- 7b N-myc proto-oncogene
- 8b ets1 proto-oncogene
- 9b MAX dimerization protein (MAD)
- 10b junD proto-oncogene
- 11b elk-1; ets-related proto-oncogene
- 12b MYB-related protein B (B-MYB); MYBL2
- 13b fos-related antigen 2 (FRA2); fos-like antigen 2 (FOSL2)
- 14b FOS-related antigen 1 (FRA1); FOS-like antigen 1 (FOSL1)
- 15b ets translocation variant 6 (ETV6); TEL proto-oncogene
- 16b jun-B
- 17b A-raf proto-oncogene serine/threonine-protein kinase; PKS2
- 18b B-raf proto-oncogene (RAFB1)
- 19b pim-1 proto-oncogene
- 20b raf1 proto-oncogene
- 21b mitogen-activated protein kinase kinase kinase 8 (MAPKKK8; MAP3K8); cot proto-oncogene
- 22b tyrosine-protein kinase receptor UFO; axl oncogene
- 23b colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R); fms proto-oncogene
- 24b c-kit proto-oncogene; mast/stem cell growth factor receptor (SCFR); CD117 antigen
- 25b met proto-oncogene; hepatocyte growth factor receptor (HGF receptor; HGFR)
- 26b papillary thyroid carcinoma-encoded protein + RET proto-oncogene
- 27b epidermal growth factor receptor (EGF receptor; EGFR); erbB proto-oncogene
- 28b erbB2 proto-oncogene; neu proto-oncogene; HER2
- 29b erbB3 proto-oncogene; HER3
- 30b erbB4 proto-oncogene; HER4; neuregulin receptor
- 31b platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFR-alpha; PDGFRA); CD140A antigen
- 32b fms-related tyrosine kinase 1 (FLT1); VEGFR1; vascular permeability factor receptor
- 33b TYRO3 tyrosine-protein kinase receptor; RSE; SKY; DTK

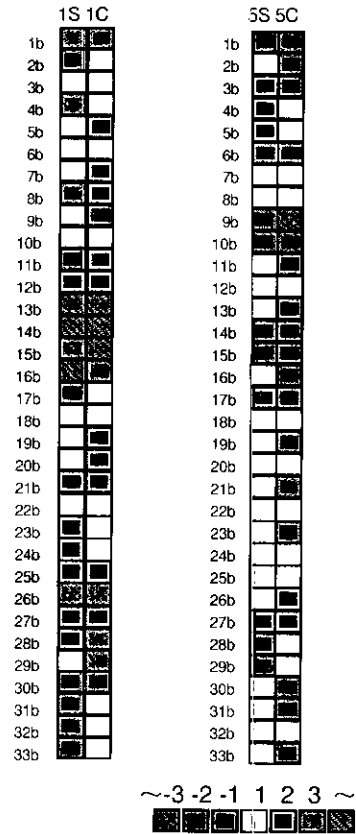


図 8a 癌合併例における proto-oncogene の発現

100 proto-oncogenes

- 34b c-ros-1 tyrosine-protein kinase proto-oncogene
- 35b c-abl proto-oncogene
- 36b Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 2 (ABL2); ARG
- 37b C-src proto-oncogene (SRC1)
- 38b c-yes proto-oncogene; YES1
- 39b C-les proto-oncogene
- 40b c-fgr proto-oncogene (p55-FGR); SRC2
- 41b src homology 2 protein (SHB)
- 42b ras homolog gene family member A (RHOA; ARHA); ARH12; RHOB12
- 43b H-ras proto-oncogene; transforming G protein
- 44b v-Ki-RAS2B proto-oncogene (KRAS2)
- 45b n-ras proto-oncogene; transforming protein p21
- 46b C-cbl proto-oncogene
- 47b platelet-derived growth factor beta subunit (PDGF-beta; PDGFB); sis proto-oncogene
- 48b mas proto-oncogene
- 49b thrombopoietin receptor (TPOR); myeloproliferative leukemia protein (MPL)
- 50b cell surface glycoprotein MUC18; melanoma-associated antigen A32; CD146 antigen;
- 51b insulin-like growth factor-binding protein 2 (IGF-binding protein 2; IGFBP2; IBP2)
- 52b T-lymphoma invasion and metastasis inducing TIAM1
- 53b matrix metalloproteinase 11 (MMP11); stromelysin 3
- 54b putative oral tumor suppressor protein; DOC-1
- 55b synapse-associated protein 102 (SAP102); NE-DLG; DLG3; DLG
- 56b malignant melanoma metastasis-suppressor (KiSS-1) gene
- 57b p33ING1
- 58b 5T4 oncofetal antigen
- 59b neurogenic locus notch protein
- 60b c-myc-binding protein MM-1; prefoldin 5 (PFDN5; PFD5)
- 61b metastasis-associated protein 1 (MTA1)
- 62b gamma-interferon-inducible protein; IP-30
- 63b matrix metalloproteinase 10 (MMP10); stromelysin 2 (STM2; SL2); transin 2
- 64b matrix metalloproteinase 18 (MMP18); MMP19
- 65b tissue inhibitor of metalloproteinase 3 (TIMP3); SFD
- 66b prostate-specific membrane antigen (PSM)

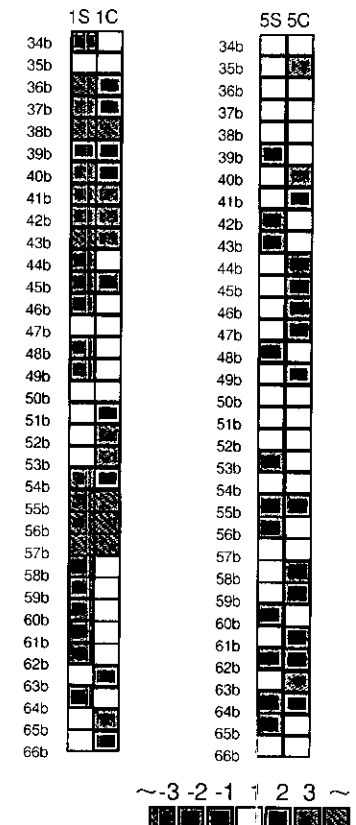


図 8b 癌合併例における proto-oncogene の発現

100 proto-oncogenes

- 67b interferon-inducible protein 9-27
- 68b p53-induced protein
- 69b interferon-inducible protein AIM2
- 70b neurogenic locus notch protein homolog 1 (NOTCH1); TAN1
- 71b neurogenic locus notch protein homolog 2 (NOTCH2)
- 72b neurogenic locus notch protein homolog 4 (NOTCH4)
- 73b MDM2-like p53-binding protein (MDMX)
- 74b mer proto-oncogene
- 75b P126 (ST5)
- 76b von Hippel-Lindau-binding protein 1 (HIBBJ46; VHL-binding protein 1; VBP1)
- 77b box-dependent myc-interacting protein 1
- 78b cullin homolog 2 (CUL2)
- 79b active breakpoint cluster region-related protein
- 80b CD82 antigen; inducible membrane protein R2; C33 antigen; metastasis suppressor kangai 1
- 81b leukemia-associated gene 1
- 82b myelodysplasia/myeloid leukemia factor 2 (MLF2)
- 83b putative RHO/RAC guanine nucleotide exchange factor (rho/rac GEF); FGD1
- 84b Abl interactor 2 (Abl-2) + Abl binding protein 3 (AbIBP3) [ArgBPIB]
- 85b GRB-IR / GRB10
- 86b vav oncogene
- 87b ras homolog gene family member C (RHOC; ARHC); ARH9; H9
- 88b rho6 protein
- 89b Rho7 protein
- 90b ras-like protein TC10
- 91b ras-like small GTPase TTF
- 92b rho-related GTP-binding protein (RHOG); ARHG
- 93b Rho-related GTP-binding protein RhoE; Rho8; ARHE
- 94b rhoHP1
- 95b ras-related C3 botulinum toxin substrate 2 (RAC2)
- 96b CDC42 GTPase-activating protein
- 97b rho GDP dissociation inhibitor 2 (RHO GDI2; RHO-GDI beta); LY-GDI; ARHGDIB; GDID4
- 98b RHO GDP-dissociation inhibitor 3 (RHO-GDI 3); RHO-GDI gamma; ARHGDIG
- 99b rho-GAP hematopoietic protein C1 (RGC1); KIAA0131
- 100b neurotrophic tyrosine kinase receptor type 1 (NTRK1; TRK)

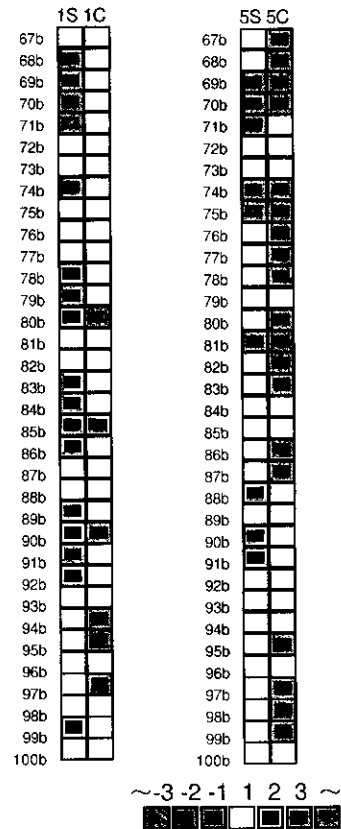


図 8c 癌合併例における proto-oncogene の発現

c-fgr proto-oncogene

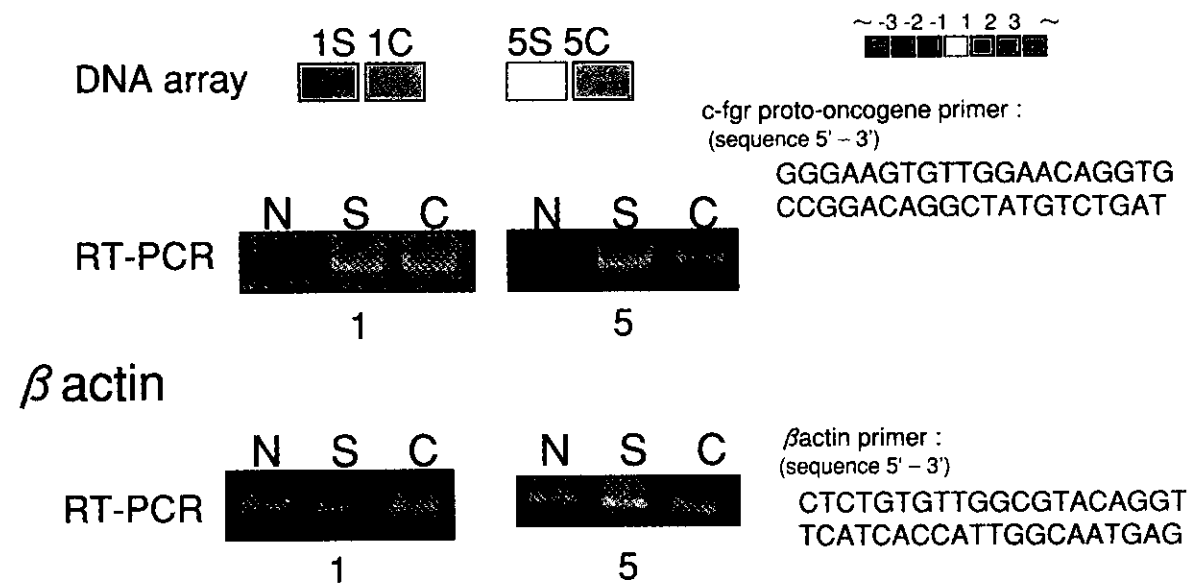


図 9 癌合併例における c-fgr proto-oncogene の発現

認められた結石存在部位の肝臓、癌においてRT-PCRによる c-fgr proto-oncogene の発現を認めた。

癌合併例での結石存在部位の肝臓と癌での DNA damage repair gene の発現 (図 10)

DNA damage repair gene も proto-oncogene、tumor suppressor gene と同様の傾向を示し、結石存在部位の肝臓と癌において類似した発現パターンを示した。

考 察

DNA array による遺伝子研究は 1995 年以降、数多くの報告^{12)13)~17)}があり、網羅的遺伝子解析が可能となった。発癌は癌関連遺伝子により多段階的に起こるとされており⁸⁾⁹⁾、発癌メカニズムの研究には網羅的な遺伝子解析が必要であり、DNA array は極めて有効な方法である。

われわれは前回、この研究結果として tumor suppressor gene の発現の低下、proto-oncogene の発現

亢進を予想していたが、われわれの予想に反して癌非合併例の結石存在部位の肝臓において tumor suppressor gene、proto-oncogene の広範囲な発現の亢進を認めたと報告した。今回も前回同様に癌非合併例の結石存在部位の肝臓において tumor suppressor gene、proto-oncogene の広範囲な発現の亢進を認め、さらに 3 症例で共通して発現亢進していた met proto-oncogene の発現を RT-PCR にて確認した。結石存在部位の肝臓では結石の発症にともない細胞の増殖を制御する遺伝子の発現が広範囲にわたって不安定化、活性化しており、さらに今回同定された tumor suppressor gene、proto-oncogene が発癌機序に大きな影響をあたえていることが推測された。

また癌合併例の tumor suppressor gene、proto-oncogene、DNA damage repair gene において結石存在部位の肝臓と癌とでは共通した遺伝子が発現亢進、発現低下を示し、類似した発現パターンを認めたと報告したが、今回再検討し、前回同様に癌合

37 DNA damage repair genes

- 1c DNA polymerase alpha catalytic subunit (POLA)
- 2c ataxia telangiectasia mutated protein (ATM)
- 3c G22P1; Ku 70-kDa subunit (KU70); 70-kDa thyroid autoantigen (TLAA)
- 4c Ku (p70/p80) subunit; ATP-dependent DNA helicase II 86-kDa subunit; TLAA; CTCBF; CTC85
- 5c ATP-dependent DNA ligase I (LIG1); polydeoxyribonucleotide synthase
- 6c DNA ligase III (LIG3); polydeoxyribonucleotide synthase
- 7c DNA ligase IV (LIG4); polydeoxyribonucleotide synthase
- 8c excision repair cross-complementing rodent repair deficiency complementation group 1 (ERCC1)
- 9c xeroderma pigmentosum group D complementing protein (XPD); XRCC2
- 10c xeroderma pigmentosum group B complementing protein (XPB); ERCC3; BTF2p89
- 11c 6-O-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT);
- 12c mutL protein homolog 1 (MLH1; hMLH1); COCA2
- 13c xeroderma pigmentosum group G complementing protein (XPG); XRCC5
- 14c DNA mismatch repair protein PMS1 (PMS1 protein homolog 1)
- 15c DNA mismatch repair protein PMS2 (PMS1 protein homolog 2)
- 15c DNA damage repair & recombination protein 50 homolog (RAD50)
- 17c xeroderma pigmentosum group A complementing protein (XPA)
- 18c xeroderma pigmentosum group C complementing protein (XPC)
- 19c X-ray repair-complementing defective repair in Chinese hamster cells 1 (XRCC1)
- 23c DNA-dependent protein kinase (DNA-PK); DNA-PK catalytic subunit (DNA-PKCS)
- 21c DNA damage repair & recombination protein 52 homolog (RAD52)
- 22c UV excision repair protein RAD23 homolog A (RAD23A; hHR23A)
- 23c ubiquitin-conjugating enzyme E2 17-kDa (UBE2A); ubiquitin-protein ligase; ubiquitin carrier protein
- 24c RecQ protein-like (DNA helicase Q1-like)
- 25c KIAA0078
- 25c DNA mismatch repair protein MSH2
- 27c DNA mismatch repair protein MSH6; mutS alpha 160-kDa subunit; GTMBP; GTBP
- 28c DNA recombination & repair protein HNGS1
- 29c torsina; DYT1
- 30c RAD51C truncated protein
- 31c ALKB homolog protein
- 32c damage-specific DNA binding protein p48 subunit (DDBB P48); DDB2
- 33c X-ray repair-complementing defective repair in Chinese hamster cells 4 (XRCC4)
- 34c G/T mismatch-specific thymine DNA glycosylase (TDG)
- 35c X-ray repair-complementing defective repair in Chinese hamster cells 9 (XRCC9)
- 36c endonuclease III homolog 1; HNTH1; OCTS3
- 37c DNA damage repair & recombination protein 54 homolog (RAD54)

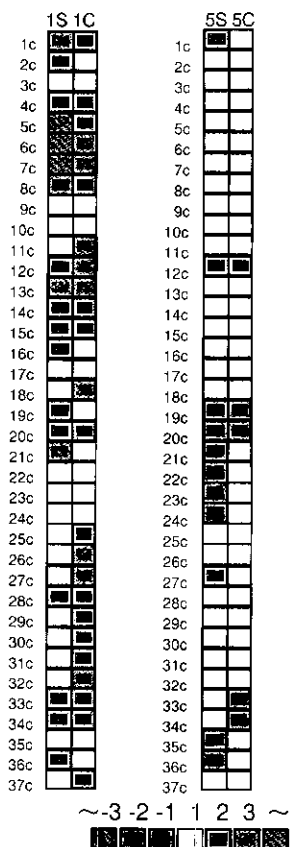


図 10 癌合併例における DNA damage repair gene の発現

併例でそれぞれ tumor suppressor gene、proto-oncogene、DNA damage repair gene が結石存在部位の肝葉と癌で共通した遺伝子の発現亢進、発現低下を示し、類似した発現パターンを認めた。2 症例で共通して発現亢進していた c-fgr proto-oncogene の結石存在部位の肝葉、癌での発現を RT-PCR で確認した。このことより結石存在部位の肝葉が癌にきわめて近い状態であり、結石の存在した肝葉が前癌病変であることが示唆された。

文 献

- 1) 内山和久, 谷村 弘, 大西博信. 肝内結石症に合併する肝内胆管癌. *臨床外科* 1997; **52**: 199-202
- 2) 内藤 剛, 亀田智統, 鈴木克彦. 肝内結石症の外科的治療における長期予後. *肝胆膵* 1999; **38**: 217-221
- 3) Su CH, Shyr YM, Lui WY, *et al*: Hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma. *British Journal of Surgery* 1997; **84**: 969-973
- 4) Chen MF, Jan YY, Wang CS, *et al*: A reappraisal of cholangiocarcinoma in patient with hepatolithiasis. *Cancer* 1993; **71**: 2461-2465
- 5) Ohta T, Nagakawa T, Ueda N, *et al*: Mucosal dysplasia of the liver and the intraductal variant of peripheral cholangiocarcinoma in hepatolithiasis. *Cancer* 1991; **68**: 2217-2223
- 6) Fujii H, Hang Y, Matsumoto Y, *et al*: Current problem with intrahepatic bile duct stones in Japan: Congenital biliary malformation as a cause. *Hepato-Gastroenterology* 1997; **44**: 328-341
- 7) 松永忠東, 松本由朗, 三浦和夫. 原発性肝内結石症に併存した肝内胆管癌の1切除例—抗BrdUモノクローナル抗体による胆管上皮の細胞動態の検索—. *肝胆膵* 1989; **30**: 573-578
- 8) Sidransky D, Mikkelsen T, Vogelstein B, *et al*: Clonal expression of p53 mutant cells is associated with brain tumor progression. *Nature* 1992; **355**: 846-847
- 9) Kinzler KW, Vogelstein B: Landscaping the cancer terrain. *Science* 1998; **280**: 1036-1938
- 10) Terada T, Ashida K, Endo K, *et al*: c-erbB-2 protein is expressed in hepatolithiasis and cholangiocarcinoma. *Histopathology* 1998; **33**: 325-331
- 11) Terada T, Nakanuma Y, Sirica AE: Immunohistochemical demonstration of MET overexpression in human intrahepatic cholangiocarcinoma and in hepatolithiasis. *Hum Pathol* 1998; **29**: 175-180
- 12) Schera M, Shalon D, Davis RW, *et al*: Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995; **270**: 467-470
- 13) Heller RA, Schena M, Chai A, *et al*: Discovery and analysis of inflammatory disease-related genes using cDNA microarrays. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **94**: 2150-2155
- 14) Douglas TR, Uwe S, Michael BE, *et al*: Systematic variation in gene expression pattern in human cancer cell lines. *Nature Genetics* 2000; **24**: 227-235
- 15) Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, *et al*: Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; **403**: 503-511
- 16) Jangchun X, John AS, Xinqun Z, *et al*: Identification of differentially expressed genes in human prostate cancer using subtraction and microarray. *Cancer Research* 2000; **60**: 1677-1682
- 17) Chanseob S, Wei Z, Chang HR, *et al*: Profiling of differentially expressed genes in human primary cervical cancer by complementary DNA expression array. *Clinical Cancer Research* 1998; **4**: 3045-3050

肝内結石合併および非合併肝内胆管癌の K-ras 遺伝子変異

新潟大学大学院 分子・病態病理学分野

研究協力者 味岡 洋一

共同協力者 赤川 高志, 渡辺 英伸

はじめに

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で、K-ras 遺伝子変異率に違いがあるかどうかを、癌の深達度、細胞異型度、粘液形質別に比較検討する。

対象と方法

1) 対象

台湾Chang Gung Memorial Hospitalより名古屋大学第一外科を通じて供与された、肝内結石合併肝内胆管 7 例と、非合併肝内胆管癌 6 例。

2) 癌を①深達度（上皮内、浸潤部）、②細胞異型度（高異型度、低異型度）、③粘液形質（固有型、胃型、腸型、胃・腸型）別に領域分けし、それぞれの領域から DNA を抽出して K-ras 遺伝子変異の有無を検索した。

3) 粘液形質分類

省略（平成 12 年度研究報告書を参照）

4) K-ras 遺伝子変異の検索

ホルマリン固定パラフィン包埋切片を用い、各領域別に microdissection 法で DNA を抽出し、PCR-RFLP法で K-ras codon 12 の変異を検索した。遺伝子変異の intratumoral heterogeneity を考慮し、同一領域でも 2 カ所以上から別個に DNA を抽出した。総計で 174 箇所 of K-ras 変異を検索した。

結果

結石の有無および検討諸因子別の K-ras 遺伝子変異 (表 1)

1) 結石の有無別の変異率

結石 (+) で 14% (1/7)、(-) で 50% (3/6) であり、有意差はなかったものの、結石 (-) 群

表 1. 肝内胆管結石の有無別にみた、癌の粘液形質と K-ras codon12 mutation (上皮内癌部 10 症例 14 領域、浸潤部 13 症例 18 領域)

			固有	固有 = 胃	固有 = 胃 >> 腸	胃	胃 >> 腸	胃 = 腸	分類不能
結石 (-)	上皮内	CAL	○	○		○●	●	○●	
		CAH				○	●		
	浸潤部	CAL				○		○●	
		CAH	○			○●●		●	○
結石 (+)	上皮内	CAL			○	○●	○○		
		CAH							
	浸潤部	CAL				○●			
		CAH				○○○	○○	○	●

CAH: 高異型度癌、CAL: 低異型度癌

○: mutation (-)、●: mutation (+)

でK-ras変異率が高い傾向があった。

2) 深達度別の変異率

上皮内癌部、浸潤部別の変異率は結石 (+) で30% (3/10)、(-) で31% (4/13) であり、有意差はなかった。

3) 細胞異型度別

低異型度癌、高異型度癌別の変異率は結石 (+) で40% (4/10)、(-) で23% (3/13) であり、有意差はなかった。

4) 粘液形質別

- ① 固有型を含む領域：結石 (+) 例、(-) 例ともにK-ras変異はなかった (0/1、0/3)。
- ② 化生型領域：胃型もしくは胃・腸型からなる領域の変異率は結石 (+) で(1/9、11%)、結石 (-) で(5/8、63%) であり、有意差が見られた ($p=0.00498$)。

考 察

結石の有無別のみの比較では、肝内胆管癌 K-ras 遺伝子変異に有意差はなかった。しかし、癌の粘液形質を考慮すると、胃型もしくは胃・腸型の形質を持つ化生型癌では、無結石例が有結石例に比べ有意にK-ras変異率が高かった。このことから、化生型の粘液形質を持つ肝内胆管癌では、結石による持続性慢性炎症刺激が肝内胆管癌の発生もしくは進展において、K-ras 遺伝子変異と同等の影響を与えている可能性が示唆される。今後、無結石例化生型癌におけるK-ras 遺伝子変異の時期（発生に関与するのか、進展、clonal expansionに関与するのか、等）や、有結石例において具体的にどのような変化（K-ras 遺伝子以外の遺伝子変異もしくはmethylation等のepigeneticな変化）がK-ras 遺伝子と同等の影響を与えているのか、の検討が必要と考えられる。

先天性胆道拡張症術後の肝内結石発生の成因： 胆道感染の検討

名古屋大学大学院 小児外科

研究協力者 安藤 久實

共同協力者 金子健一郎

はじめに

先天性胆道拡張症には7-8%の頻度で肝内結石が発生し、その原因は主に先天性の肝内胆管狭窄にある(平成12年度報告書)。しかし、肝内結石は根治手術前に発生する例は少なく、ほとんどが肝外胆道切除後に発生することから、胆管狭窄とは別の因子の関与も考えられる。そこで、今回、胆道感染と肝内結石発生との関連につき検討した。

対象と方法

当科で肝外胆道切除を施行した139例の先天性胆道拡張症のうち、肝外胆道切除時に胆汁中の細菌培養検査は98例に実施された。98例のうち13例は過去に肝外拡張胆管と腸管を吻合する内瘻術の既往がみられ、残りの85例は初回手術として肝外胆道切除

がなされた。自験例で肝外胆道切除後に肝内結石が発生した12例のうち、肝内結石治療時に胆汁の細菌培養検査は6例に実施された。また、平成12年度のアナケート調査では、先天性胆道拡張症と肝内結石が合併した11例が集計されたが、そのうち肝内結石発生時に胆汁の細菌培養検査は4例に実施されていた。以上胆汁の細菌検査が実施された計108例を、初回手術群85例、内瘻既往群13例、肝内結石群10例に分けて検討した。

結 果

肝外胆道切除時に内瘻の既往があった内瘻既往群では13例中10例(76.9%)が胆汁中細菌が検出され、手術既往のない初回手術群では85例中15例(17.6%)しか検出されなかった。また、肝内結石群では10例中10例(100%)で細菌が検出された(図1)。

検出菌の種類では、内瘻既往群と、初回手術群で違いが見られた。内瘻既往群では*E. coli*、*Klebsiella*などのグラム陰性腸管内常在菌が多いのに対し、初回手術群では*Pseudomonas*や*Acinetobacter*、*Staphylococcus epidermidis*といった非常在菌が中心であった(表1、2)。肝内結石例の胆汁で検出された細菌は内瘻既往群と同様で、全例でグラム陰性腸管内常在菌が複数の種類検出された(表3)。また、検出菌の種類も肝内結石例でより複数の菌が感染していた。

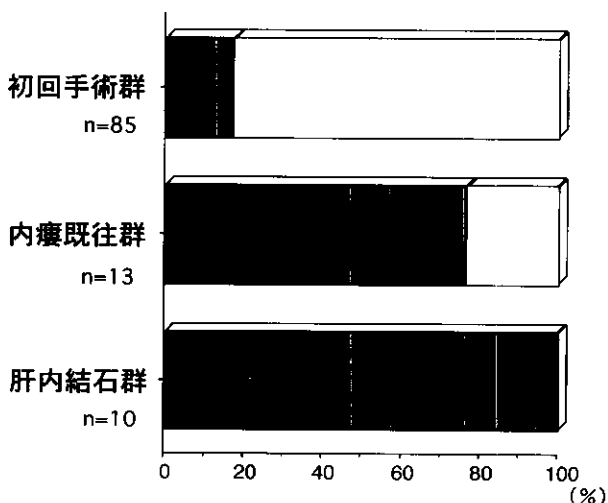


図1. 胆汁からの細菌検出率

表 1. 手術既往のない症例で検出された胆汁中細菌

症例	検 出 菌
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2	<i>Pseudomonas</i> spp.
3	<i>Pseudomonas putida</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
4	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
5	<i>Serratia marcescens</i>
6	<i>Moraxella</i> spp.
7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>
8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>
9	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Enterobacter</i> spp.
10	<i>Escherichia coli</i>
11	<i>Citrobacter freundii</i>
12	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
13	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
14	<i>Micrococcus</i> spp.
15	gram-positive rod

表 2. 内瘻術の既往がある症例で検出された胆汁中細菌

症例	検 出 菌
1	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>
2	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i>
3	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>
4	<i>Escherichia coli</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
5	<i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterococcus avium</i>
6	<i>Enterobacter</i> spp., <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
7	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
8	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
9	<i>Escherichia coli</i>
10	<i>Enterococcus faecium</i>

表 3. 肝内結石例で検出された胆汁中細菌

症例	検 出 菌
1	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Prevotella loescheii</i>
3	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , Enterobacteriaceae
4	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>
5	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
6	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>
7	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>
8	<i>Escherichia coli</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>
9	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Aeromonas</i> spp.
10	<i>Escherichia coli</i> , <i>Micrococcus</i> spp.

考 察

先天性胆道拡張症に発生する肝内結石の種類はビリルビンカルシウム石であった。ビリルビンカルシウム石の成因として、胆汁うっ滞と細菌感染が重要な因子であるとされてきた¹⁾。肝内結石を合併した先天性胆道拡張症のほとんどが肝内胆管の拡張を伴う戸谷IV-A型であり、拡張胆管における胆汁うっ滞が結石生成の背景因子と考えられる。しかし、肝内結石は肝内胆管の拡張を伴わない症例にも発生する(平成12年度報告書)。自験例では肝内結石が発生した症例では、全例において先天性と考えられる胆管狭窄が観察され、この狭窄に対する治療を行ったところ結石再発を防止できたことから、胆汁うっ滞の主因は胆管狭窄にあると考えられる²⁾。

しかし、肝内結石は根治手術前に発生する例は少なく、ほとんどが肝外胆道切除後に発生することから、胆管狭窄とは別の因子の関与も考えられる。今回の検討により、肝内結石例では全例において胆汁の細菌感染が証明された。初回手術例では17.6%しか細菌感染がなく、また検出菌もcontaminationを疑わせる菌種が多い点から、胆管切除前には胆汁の細菌感染はほとんどみられないと推定される。内瘻術既往例では再手術時に76.9%の高頻度で腸管内常在菌が検出されており、腸管吻合がlithogenicに働くと考えられる。同様に、胆管切除を行った場合は、胆道再建に腸管を吻合するために、腸内の細菌が逆行性に胆道感染することは容易に推定される。

他方、ビリルビンカルシウム石形成における細菌の役割は、細菌が産生する β -glucuronidaseによってビリルビングルクロナイドが加水分解され遊離ビリルビンが形成されることにある¹⁾。 β -glucuroni-

daseを産生する菌としては*E.coli*以外には、*Klebsiella*、*Bacteroides*、*Clostridium*³⁾や*Citrobacter*⁴⁾が報告されている。今回の検討では、肝内結石例では全例が、また、内瘻例でも10例中9例が β -glucuronidase産生菌に感染していた。今回の検討はretrospectiveであり、嫌気性菌について特に配慮していなかったため、*Bacteroides*や*Clostridium*などの嫌気性菌の検出が見られなかった。しかし、肝内結石例では全例が複数菌の混合感染をきたしており、おそらく嫌気性菌も関与している可能性が高いと思われる。

以上より、先天性胆道拡張症における肝内結石の形成機序として、先天性胆管狭窄に加え、胆管空腸吻合に伴うグラム陰性腸管内常在菌を主体とした胆道感染が加わることにより結石が発生すると考えられた。

文 献

- 1) Maki T: Pathogenesis of calcium bilirubinate stone: role of *E.coli*, β -glucuronidase and coagulation by inorganic ions, polyelectrolytes and agitation. *Ann Surg* 1966; **164**: 90-100
- 2) Ando H, Ito T, Kaneko K, *et al*: Intrahepatic bile duct stenosis causing intrahepatic calculi formation following excision of a choledochal cyst. *J Am J Coll Surg* 1996; **183**: 56-60
- 3) Tabata M, Nakayama F: Bacteria and gallstones: etiological significance. *Dig Dis Sci* 1981; **26**: 218-24
- 4) Skar V, Skar AG, Bratile J, *et al*: Beta-glucuronidase activity in the bile of gallstone patients both with and without duodenal diverticula. *Scand J Gastroenterol* 1989; **24**: 205-12

肝内結石症患者の乳頭括約筋機能に関する検討

九州大学大学院 臨床・腫瘍外科

研究協力者 田中 雅夫

共同研究者 千々岩一男, 清水 周次
宇都宮成洋

はじめに

胆石症患者に十二指腸乳頭括約筋 (Sphincter of Oddi, 以下 SO) の機能異常が合併するとの報告はあるが、その内容は必ずしも一致していない。経過が長く、再発を繰り返したような場合に乳頭が非常に弛緩しているという症例をしばしば経験することから、我々は結石の存在によって結果として乳頭括約筋機能が障害されるのではないかという仮説を立て、その検証を試みた。すなわち肝内結石症を肝内胆管のみに結石が存在して総胆管径が正常の症例 (I 型)、肝内及び肝外胆管に結石が存在し総胆管の拡張が認められる症例 (IE 型) の 2 群に分類し、今回はそれに総胆管結石症例群をを対照として、3 群の乳頭機能を比較検討した。

対象と方法

対象患者：1996年1月から2001年12月まで九州大学大学院医学研究院臨床・腫瘍外科及び高雄医学

院肝胆外科において外科的または内視鏡的治療を行った胆石症26例を対象とした。症例は以下の3群に分類された。結石が肝内に限局していて総胆管の最大径が1 cm未満の5例 (I 型) を総胆管非拡張 (I) 群、結石が肝内胆管及び肝外胆管に存在し総胆管径が1 cm以上の10例 (IE 型) を総胆管拡張 (IE) 群、肝内に結石を認めず、総胆管のみに結石がある (CBD) 群とした。検査の必要性及び安全性については全症例でインフォームド・コンセントが得られた。各群の臨床データを表1に示した。

全ての症例は開腹術後で T-tube が留置されているか、または経皮経肝的胆道ドレナージ及び経皮的胆道鏡による結石除去が行われて PTCSカテーテルが留置されていた。また今回の胆道内圧測定の前に遺残結石のないことを胆管造影及び経皮的胆道鏡で確認されていた。

I 群は男性1例、女性4例で平均年齢は 58.2 ± 3.3 歳 (50-67歳) であった。結石の種類は全例ビリルビンカルシウム石であった。また3例は開腹術後 T-

表1 患者の臨床像

	II (肝内)型	IE (肝内・肝外)型	CBDS
症 例 数	5	15	6
年 齢	58.2 ± 3.3	57.3 ± 10.2	68.7 ± 8.5
性別 (男性：女性)	1：4	3：12	4：2
内圧測定ルート			
PTCD	3	11	5
T-tube	2	4	1

CBDS=総胆管結石

tube留置例であり、2例は非開腹(PTCD)例であった。

IE群は男性3例、女性12例で平均年齢は 57.3 ± 10.2 歳(38-72歳)であった。結石の種類は全例ビリルビンカルシウム石であった。また4例は開腹術後T-tube留置例であり、11例は非開腹(PTCD)例であった。

CBD群は男性4例、女性2例で平均年齢は 68.7 ± 8.5 歳(55-77歳)であった。結石の種類は全例ビリルビンカルシウム石であった。また1例は開腹術後T-tube留置例であり、5例は非開腹(PTCD)例であった。

内圧測定：内圧測定はArndorfer型の内圧測定システムを用いた灌流法で行った。患者を一晩絶食させた後に、透視下において仰臥位で行った。PTCDカテーテルまたはT-tubeよりごく少量の造影剤を注入し、SOの位置を確認した後、先端から2cm、4cm、6cmの部位に三箇所測定孔のある内圧測定用カテーテルを挿入し、それぞれ十二指腸、SO、総胆管の圧を測定した。

十二指腸にMMCの第Ⅲ相の強収縮が現われた後、MMCを1周期測定し、二回目の第Ⅲ相が出現した後5分間測定してから検査を終了した。

データ解析：十二指腸のMMCの各相についてはCarlsonらの診断基準¹⁾によって分類した。第Ⅰ相はほとんど収縮の起こらない時期であり、第Ⅱ相は間欠的に不規則な収縮の起こる時期、そして第Ⅲ相は最も強い収縮が高い頻度で起こる時期である。第Ⅳ相は第Ⅲ相から第Ⅰ相への短い移行期である。今回の検討では第Ⅳ相は明確に区別できないことも多いため、確認できた症例についてもその検討は省略している。

今回の研究では乳頭括約筋機能を評価するために基礎圧・収縮圧・収縮頻度の三種類のパラメーターを検討の対象とした。基礎圧は収縮波の最低圧の平均とし収縮圧は収縮波の最高圧の平均とした。ここでいう圧とはすべて十二指腸圧を0とした場合の数値である。また収縮頻度は1分間当たりの収縮回数

とした。これらのパラメーターはすべて各相(第Ⅰ+Ⅱ相、第Ⅲ相)における全収縮波の総和を時間で除したものとして算出し、平均値及び標準誤差で表現した。

I群及びIE群、CBD群について第Ⅰ・Ⅱ相及び第Ⅲ相での乳頭括約筋の基礎圧・収縮圧・収縮頻度を比較検討した。また全症例を総胆管径(胆管造影X線写真上で測定したもの)によりA群(1.5cm以上)、B群(1.0cm以上1.5cm未満)、C群(1.0cm未満)の3群に分類し、同様に検討した。C群には肝外傷により肝切除を施行し、T-tubeを留置した3例を加えた。

十二指腸の運動周期とともに記録した場合、SOの運動は第Ⅰ、Ⅱ相ではほぼ一定で第Ⅲ相で亢進するため、これまでの報告でもほとんど第Ⅰ、Ⅱ相と第Ⅲ相に分けてSOの運動を論じている²⁾ので、本研究でもSOの運動を二つの区間に分けて検討した。3群間の比較にはOne-way ANOVAを用いて統計的解析を行い、 $P < 0.05$ を統計学的に有意とした。

結 果

1. 結石存在部位による比較(表2)

乳頭基礎圧：第Ⅰ、Ⅱ相の乳頭基礎圧はI群では 11.3 ± 2.9 mmHg、IE群では 5.0 ± 2.2 mmHgとIE群の基礎圧はI群に比べて有意に低かった($P < 0.05$)。またCBD群でも基礎圧 5.6 ± 4.5 mmHgとI群に比べて有意に低かった($P < 0.05$)。第Ⅲ相では3群間に有意差は認められなかった。

乳頭収縮圧：第Ⅰ、Ⅱ相ではI群の乳頭収縮圧は 97.5 ± 19.4 mmHg、IE群は 88.2 ± 22.7 mmHg、CBD群は 87.8 ± 25.7 mmHgと3群間に有意差は認められなかった。第Ⅲ相でもI群の乳頭収縮圧は 103.3 ± 18.0 mmHg、IE群は 121.3 ± 52.0 mmHg、CBD群は 116.0 ± 25.5 mmHgと3群間に有意差は認められなかった。

収縮頻度：第Ⅰ、Ⅱ相ではI群の収縮頻度は 4.1 ± 0.6 /分、IE群は 4.3 ± 0.9 /分、CBD群は 4.8 ± 1.1 /分と3群間に有意差は認められなかった。第Ⅲ相

表2 乳頭括約筋圧 (病型別比較)

	I 型	IE 型	CBD
MMC cycle(分)	86.7 ± 17.4	89.7 ± 33.3	84.9 ± 25.2
乳頭基礎圧(mmHg)			
第 I—II 相	11.3 ± 2.9	5.0 ± 2.2*	5.6 ± 4.5**
第 III 相	25.6 ± 5.1	18.9 ± 10.3	21.0 ± 2.8
収縮圧(mmHg)			
第 I—II 相	97.5 ± 19.4	88.2 ± 22.7	87.8 ± 25.7
第 III 相	103.3 ± 18.0	121.3 ± 52.0	116.0 ± 25.5
収縮頻度(/分)			
第 I—II 相	4.1 ± 0.6	4.3 ± 0.9	4.8 ± 1.1
第 III 相	11.5 ± 0.5	10.6 ± 0.7	11.1 ± 0.4

* I 型 vs IE 型 P < 0.05 ** B 群 vs C 群 P < 0.05

表3 乳頭括約筋圧 (胆管径別比較)

	A 群	B 群	C 群
総胆管径(cm)	≥1.5	1.0—1.5	≤1.0
MMC cycle(分)	91.3 ± 23.5	91.1 ± 42.3	81.5 ± 24.6
乳頭基礎圧(mmHg)			
第 I—II 相	5.2 ± 2.4*	4.4 ± 2.0**	13.0 ± 5.3
第 III 相	20.8 ± 10.0	17.6 ± 7.2	29.2 ± 9.9
収縮圧(mmHg)			
第 I—II 相	82.9 ± 25.5	96.1 ± 21.8	94.6 ± 7.0
第 III 相	122.9 ± 58.0	111.1 ± 30.9	131.2 ± 44.9
収縮頻度(/分)			
第 I—II 相	4.6 ± 1.5	4.2 ± 1.1	4.1 ± 1.2
第 III 相	10.9 ± 0.7	10.8 ± 0.9	12.1 ± 1.9

* A 群 vs C 群 P < 0.001 ** B 群 vs C 群 P < 0.001

でも I 群の収縮頻度は 11.5 ± 0.5 /分、IE 群は 10.6 ± 0.7 /分、CBD 群は 11.1 ± 0.4 /分と 3 群間に有意差は認められなかった。

2. 総胆管径による比較 (表3)

乳頭基礎圧：第 I、II 相の乳頭基礎圧は A 群では 5.2 ± 2.4 mmHg、B 群では 4.4 ± 2.0 mmHg、C 群では 13.0 ± 5.3 mmHg と A 群および B 群の基礎圧はそれぞれ C 群に比べて有意に低かった ($P < 0.001$)。第 III 相では 3 群間に有意差は認められなかった。

乳頭収縮圧：第 I、II 相では A 群の乳頭収縮圧は 82.9 ± 25.5 mmHg、B 群は 96.1 ± 21.8 mmHg、C 群は 94.6 ± 27.0 mmHg と 3 群間に有意差は認められなかった。第 III 相でも A 群の乳頭収縮圧は 122.9 ± 58.0

mmHg、B 群は 111.1 ± 30.9 mmHg、C 群は 131.2 ± 44.9 mmHg と 3 群間に有意差は認められなかった。

収縮頻度：第 I、II 相では A 群の収縮頻度は 4.6 ± 1.5 /分、B 群は 4.2 ± 1.1 /分、C 群は 4.1 ± 1.2 /分と 3 群間に有意差は認められなかった。第 III 相でも A 群の収縮頻度は 10.9 ± 0.7 /分、B 群は 10.8 ± 0.9 /分、C 群は 12.1 ± 1.9 /分と 3 群間に有意差は認められなかった。

考 察

今回の研究は胆石症患者において病型または胆管径により乳頭括約筋機能に相違が見られるのではないかという仮説の下に行われ、以下のような所見が

得られた。すなわち、総胆管拡張を伴わないI群症例に比べて、総胆管拡張を伴うIE群症例と総胆管結石症例では基礎圧が低く、いわゆる“乳頭がゆるい”という結果であった。また胆管径の拡張したIE型肝内結石症例および総胆管結石症例では、胆管径の正常なI型肝内結石症と肝外傷(ほぼ乳頭機能は正常と考えられる)症例に比べて乳頭基礎圧が低かった。

これまでに我々はERCP時の乳頭括約筋内圧測定で肝内結石症及び総胆管結石症では正常群及び胆管結石症に比べて収縮頻度・収縮圧は差がないものの、基礎圧では有意に低いことを報告してきた³⁾。これは内視鏡下での短時間の内圧測定の結果であり、十二指腸がMMC周期のどの相にあるかが不明であるので一概に同じ結果であるとする事はできないが、今回の結果と矛盾するものではなかった。経皮的胆道鏡を施行する際にも、何度も胆管炎を繰り返し、総胆管が高度に拡張した症例では乳頭が弛緩していて内視鏡が用意に通過するという事態に遭遇することがあるが、今回得られた結果は“肝内結石症患者(特にIE型)の乳頭はゆるい”という印象を裏付ける結果であると思われる。

総胆管に結石のある症例や胆管拡張のある症例では乳頭機能が傷害されているとすると、乳頭機能異常があるから結石が発生するというよりも、結石

の存在によって結果として乳頭機能異常が起こると考えるほうが自然である。結石によって総胆管が拡張したり、結石の通過によって乳頭炎を繰り返したりするうちに、徐々に乳頭機能が荒廃していくという可能性を我々は考えて今回のような検討を行ったがその仮説と矛盾しない結果であった。

今回は、症例数が少ない、空腹期のみでの検討で食後期については検討していないなどの問題点もあり、さらに截石して間もない時期の検査であるので長期的には乳頭機能が回復する可能性もある。肝内結石症と乳頭機能の関連については今後もさらに症例を重ねて検討することが必要と思われる。

文 献

- 1) Carlson GM, Bedi BS, Code CF: Mechanism of propagation of intestinal interdigestive myoenteric complex. *Am J Physiol* 1972; **222**: 1027-1030
- 2) Yuasa N, Nimura Y, Yasui A, *et al*: Sphincter of Oddi motility in patients with bile duct stones. *Dig Dis Sci* 1994; **39**: 257-267
- 3) Matsumoto S, Tanaka M, Yoshimoto H, *et al*: Sphincter of Oddi motor activity in patients with stones in gall-bladder, common bile duct or intrahepatic duct and the effect of morphine. *J Gastroenterol Hepatol* 1986; **1**: 213-220

脱落した胆管壁を核として形成されたと 思われる肝内結石の2例

名古屋大学大学院 器官調節外科

研究協力者 二村 雄次

共同研究者 法水 信治, 東島由一郎

萩山 正人, 小田 高司

神谷 順一

はじめに

近年、手術手技や手術機器の進歩により、肝胆膵領域の悪性疾患に対して根治性を追求した血管合併切除を伴う拡大手術が積極的に行われるようになった。血行再建術が普及するにつれて合併症も肝内胆管の虚血、壊死による肝膿瘍などが報告されている。一般に肝内胆管は肝動脈による毛細血管網(peribiliary plexus)により栄養されており¹⁾、そのため肝動脈血流の低下をもたらすような血管合併切除術やtranscatheter arterial embolization(以下TAE)後に肝内胆管の虚血壊死が起こりうる。最近当科で肝動脈の血流低下に起因すると思われる胆管虚血の結果胆管壁が脱落し、それを核として肝内結石の形成したと考えられる症例を2例経験したので報告する。

症 例

症例1

患 者：56歳、男性

臨床経過：2001年10月16日に中部胆管癌で膵頭十二指腸切除、右肝動脈合併切除・門脈合併切除術を行い、Child変法による再建を施行した。血行再建は、門脈は端端吻合を行い、右肝動脈は再建しなかった。

術後熱発が続き術後8日目に造影CTを行ったところ、肝左内側区域(S4)、右後上区域(S7)に不整形の造影不良領域を認めた(図1a)。画像上造影不良領域は膿瘍形成には至っておらず虚血性的変化と判断し穿刺せずに経過観察の方針とした。翌日経皮経肝胆管ドレナージ(以下PTBD)からの胆汁流量が減少したため、胆管造影を施行した。右肝管に不整狭窄像を認め(図1b)、CT所見と併せて右肝管周囲の肝動脈血流低下による虚血が狭窄の原因と考えられた。

術後20日目に経皮経肝胆道鏡(以下PTCS)を施行したところ、右肝管壁に黒褐色の結石を認めた。結石のほとんどは挙上空腸に押し流されて、バスケット鉗子で採取できたのは小片のみであった。結石摘出後の観察で胆管粘膜に発赤調の再生粘膜を認めた(図1c)。採取した結石のHE染色では、大部分が胆泥で一部に膿苔の付着を認めた(図1d)。

その後熱発は消退し、術後28日目に再度胆管造影を施行し、右肝管の不正狭窄像の改善を認めた(図2a)。術後45日目に再検した造影CTでも造影不良領域は縮小していた(図2b)。しかし結石の再発や胆管の再狭窄の可能性もあるため、右肝管にシリコン製Tチューブを留置し退院した(図2c)。退院前に行った血管造影では左肝動脈からの交通枝を経由し右肝動脈が明瞭に造影されていた(図2d)。

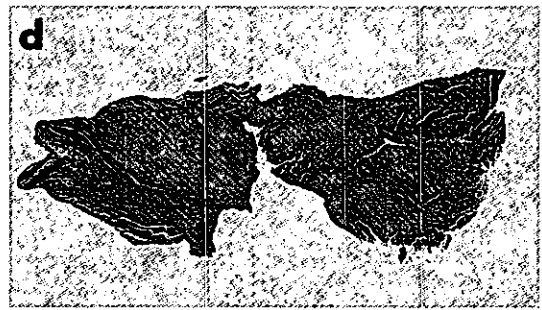
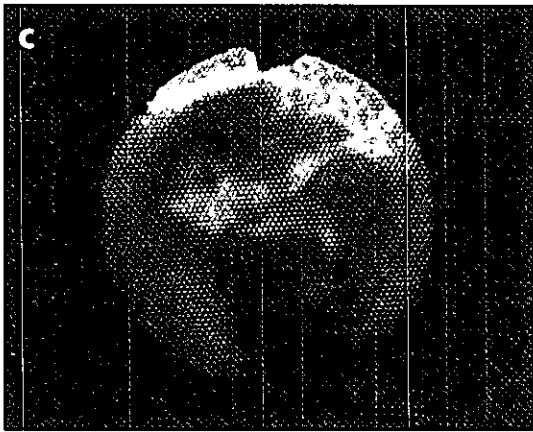
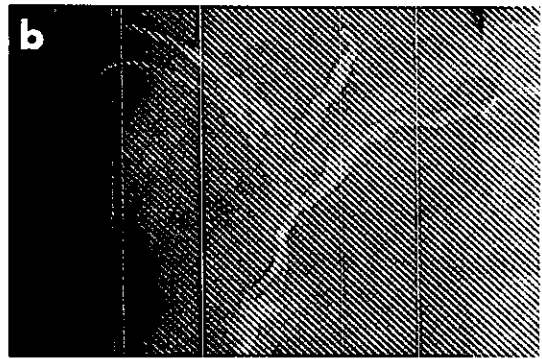
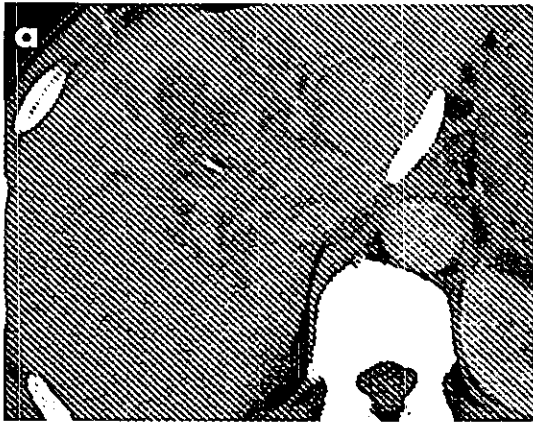


図 1a~d

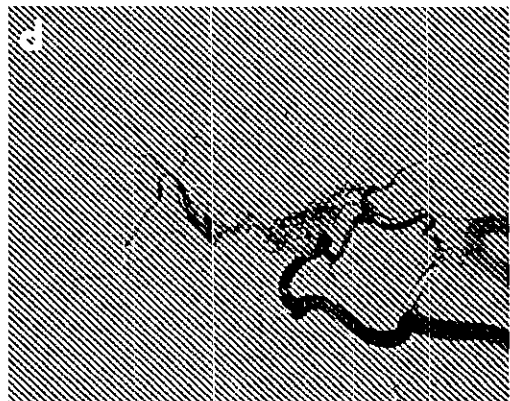
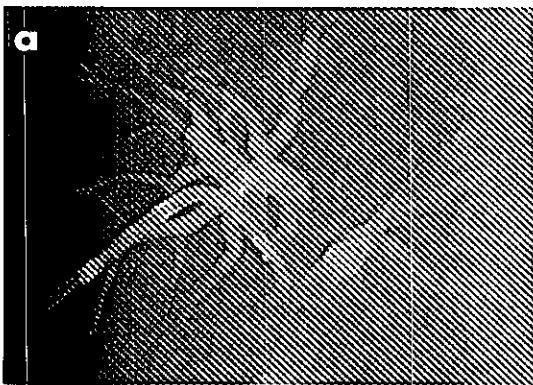


図 2a~d

症例2

患者：57歳、男性

臨床経過：2000年12月に胃癌で幽門側胃切除術を施行、Billroth-II法で再建した。術前のCTで肝内胆管拡張の所見はなかった（図3a）。術中に胃十二指腸動脈を損傷し術後1日目にGOT、GPTの上昇を認めたものの徐々に低下した。また同日よりドレーンから胆汁を混じた排泄を認めたが保存的に治療し、後日行ったドレーン造影では胆管との交通は認めなかった。

2001年3月に胆道系酵素の上昇がみられ、CT上両葉に肝内胆管の拡張を認めたため精査目的で入院した（図3b）。癌再発による胆管狭窄を疑いPTBDを施行し、胆管造影を行ったところ左右肝管から総胆管にかけて陰影欠損を認めた（図4a、4b）。

PTCSでは胆管内に茶褐色の結石を認め（図4c）、バスケット鉗子で結石を摘出した。結石摘出後の胆管粘膜は強い発赤を呈し肉芽が形成されていた（図4d）。摘出した結石は5×1cmで茶褐色であった（図5a）。結石は弾性に富んでおり、鉗子で容易に屈曲させることができ、折り曲げても割れなかった（図5b）。結石の断面は層状構造を呈していた（図6a）。HE染色では結石の中心部は層状構造を呈し内腔を認め、胆管壁構造のghostと考えられた（図6b、

6c）。結石の成分分析の結果はビリルビンカルシウムであった。この症例も症例1と同様にシリコン製Tチューブを留置して退院した。

考 察

近年肝胆膵領域の悪性腫瘍に対して根治性向上のため積極的に肝動脈、門脈の合併切除が行われるようになった。肝動脈切除後の再建については、左右肝動脈には肝内で交通があり、右、左肝動脈の一方を切除した場合には原則的に再建の必要はないと考えられている²⁾。しかし、田中らの報告³⁾によれば、肝胆膵領域悪性疾患の術中に生じた肝動脈損傷、切離7例の検討の結果、左右一側の肝動脈の結紮でも肝梗塞が発生していること、肝十二指腸間膜内リンパ節郭清を行うと側副血行路が形成されにくいこと、肝動脈は胆道再建時の吻合部血流保持に重要であることなどの理由から肝動脈を切離、損傷した場合、固有肝動脈では再建は必須で、左右いずれか一方の場合でも肝十二指腸間膜内リンパ節郭清の程度、胆道再建の有無、切離端からのback flowの程度などを考慮し再建の必要性を決定すべきとしている。また鎌迫ら⁴⁾は右肝動脈、胃十二指腸動脈切除を伴う胃癌切除後に左右肝内胆管から下流は膵上縁に至る広範な胆管壊死と胆嚢壊死をきたした症例を報告している。

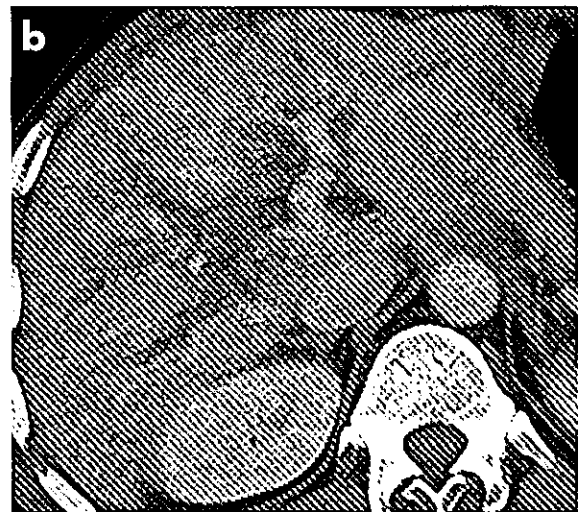


図 3a, b

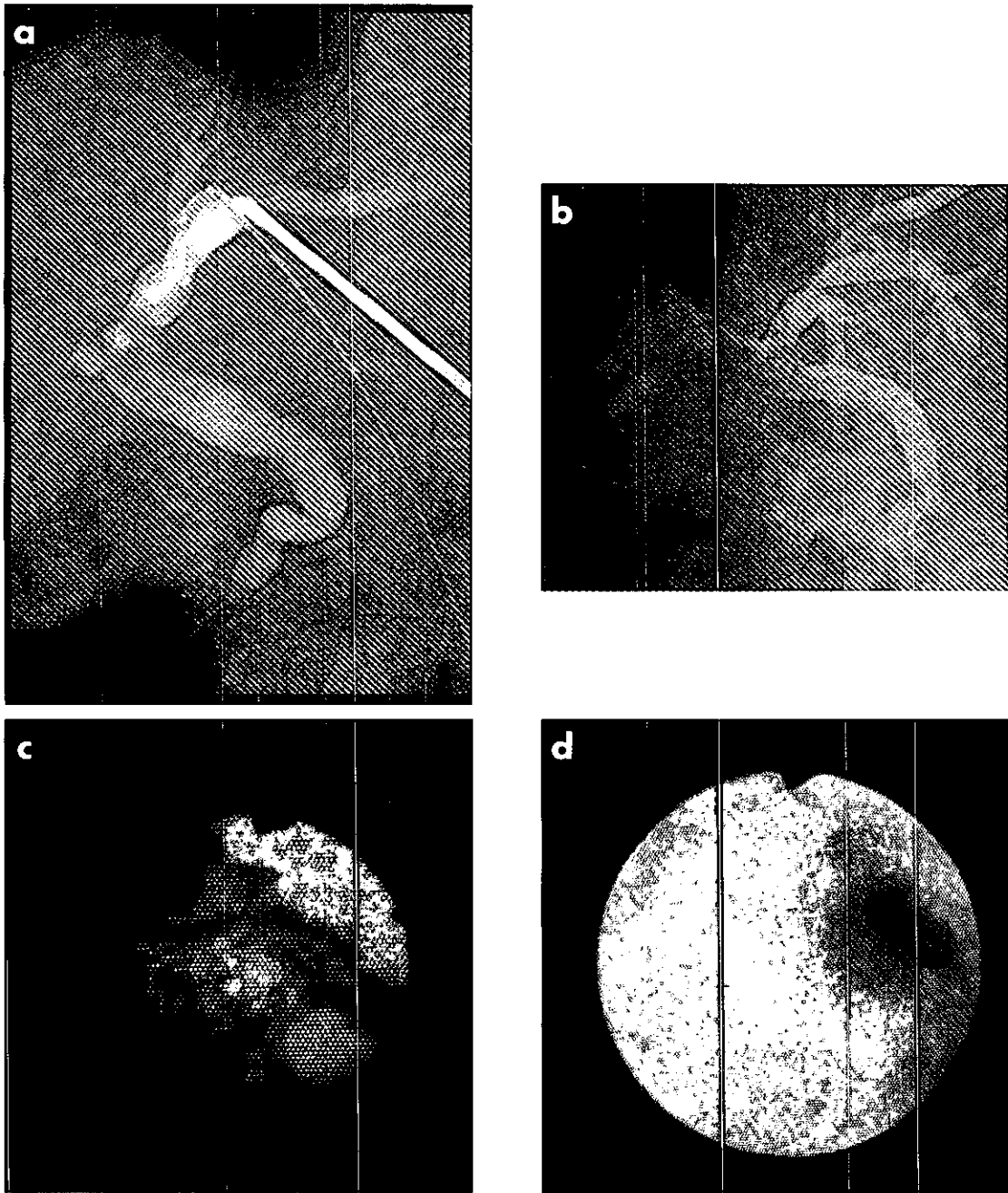


図 4a ~ d

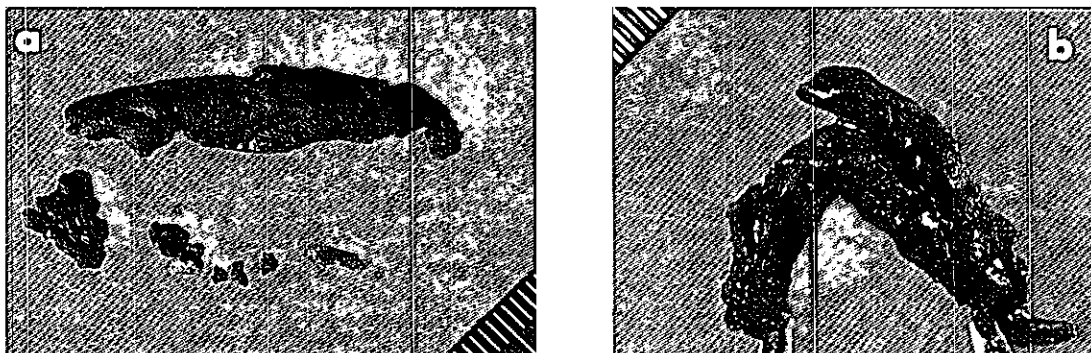


図 5a, b

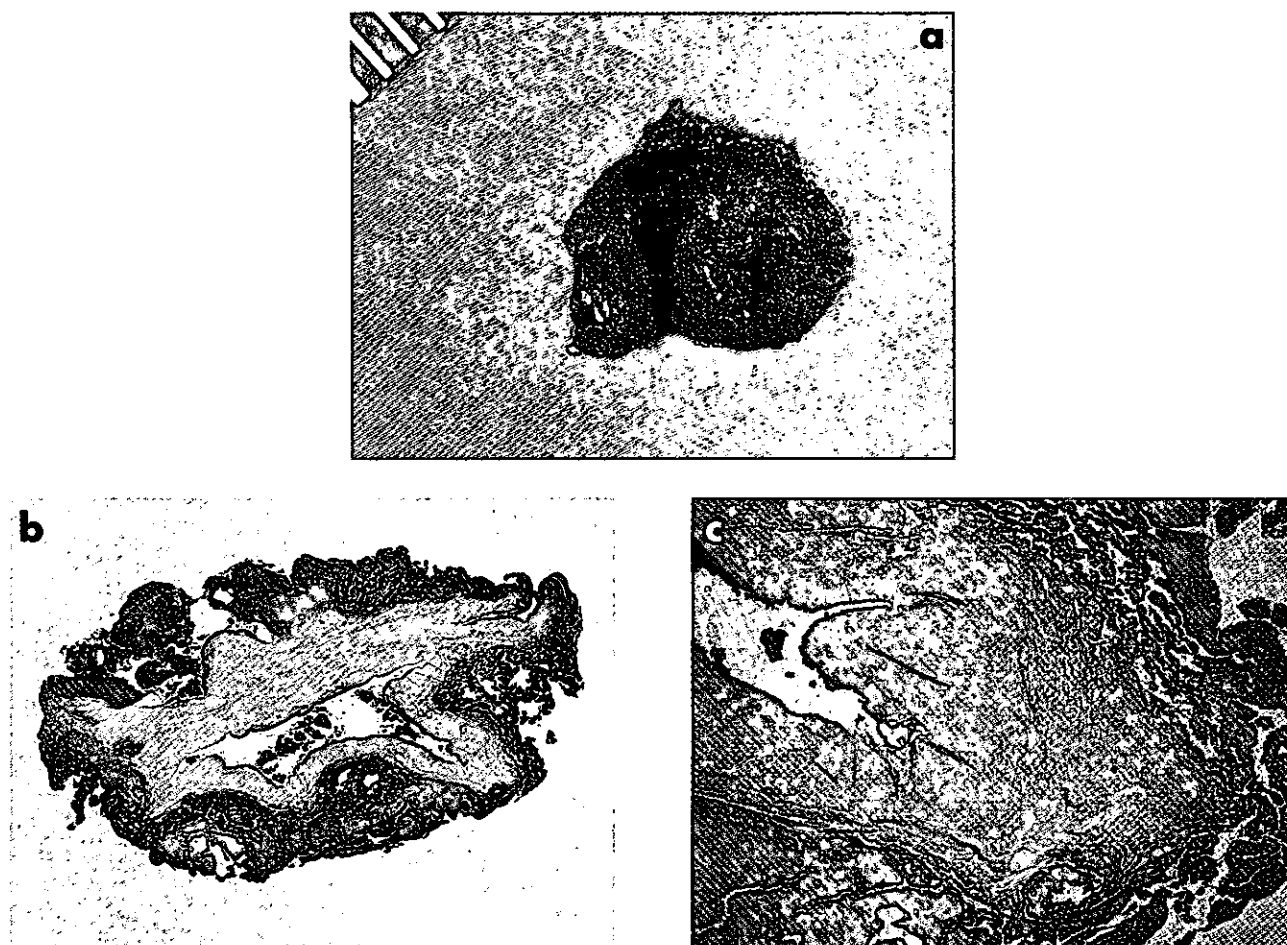


図 6a～c

TAEは原発性肝癌や転移性肝癌の治療法として普及しているが、合併症として胆管壊死や胆嚢壊死、肝膿瘍が知られている。肝膿瘍の発生頻度は0～5%と報告されている⁵⁾。TAE後の肝膿瘍の発生機序としてKanら⁶⁾は胆管壁破壊による肝膿瘍発生とリピオドールとの関係に注目している。すなわちリピオドールが肝動脈に注入された後、peribiliary plexusを通過し門脈に達する。その際リピオドールが停滞することによりperibiliary plexusの血流障害と抗癌剤の作用により胆管壁の破壊が起こる、と報告している。また小泉ら⁷⁾はTAE後の肝膿瘍の発生機序として1) TAEにより腫瘍の選択的壊死が生じ、それ自身に感染が併発して膿瘍化する、2) TAEにより腫瘍の壊死に加えて胆管系壊死が合併し、bile lakeに感染し膿瘍が生じる、3) TAEによりまず肝梗塞が生じ、そこに感染が及んで膿瘍が

できる、以上の3つを挙げている。そしていずれの場合も門脈血流の低下により腫瘍壊死、周囲の正常肝組織の障害が起こりやすくなる、としている。一方では、TAE後および再建肝動脈狭窄後の肝動脈の虚血、阻血による胆管壊死性肝膿瘍について検討した黒沢ら⁸⁾は、肝膿瘍の発生機序として、門脈血流の低下よりも肝動脈血流の低下が主原因であると考え、動脈血流低下による胆管壁の虚血壊死、感染胆汁の存在が重要な要因、と述べている。

今回報告した2症例は肝内結石の症例であるが、発生機序としては肝膿瘍と同様肝動脈血流の低下による胆管壁の虚血壊死が考えられた。症例1については門脈再建は行ったが、右肝動脈は結紮切離し再建は行っていない。肝十二指腸間膜内リンパ節の徹底郭清により側副血行路の形成が不十分であったことや左右肝動脈の交通枝の発達が不十分であったこと