

となどが原因で、右肝動脈領域が虚血に陥り右肝管の虚血壊死をきたし、その結果脱落した胆管壁を核として結石を形成すると共に胆管狭窄をきたしたものと考えられた。また症例2は初回胃癌切除術に際して術中に胃十二指腸動脈を切離していること、術翌日にGOT、GPTが上昇していたことから、なんらかの原因で肝動脈血流低下をきたしたと考えられた。あくまでも推測の域を出ないが、右肝動脈が胃十二指腸動脈から分岐していたとすると、症例1と同様に右肝動脈領域の虚血が起き、その結果虚血に陥った胆管壁が脱落し結石が形成された可能性があった。さらに症例2の場合、摘出された結石は弾性に富んでおりその断面は層状で内腔を認め、あたかも胆管の構造を保っているかのようであった。組織像でも血管を思わせる構造物がみられ、このことも結石の核が胆管壁である可能性を支持する所見であった。

また当科では、肝機能異常を契機に発見された、右前上枝(B8)と下部胆管に限局してビリルビンカルシウム結石を認めた肝内結石症例も経験している⁹⁾。この症例は結石の大きさが数mmの小結石であること、結石の上流側胆管の拡張が軽度で下流側胆管には狭窄を認めない、他の肝内胆管枝の拡張所見や胆管炎所見を認めない、など通常のビリルビンカルシウム石の肝内結石症^{10) 11)}とは異なる特徴を有していた。血行再建術やTAE後と同様の機序で、特発性に限局した範囲で胆管梗塞が起これば、肝内結石が形成される可能性を示唆する症例と思われた。

肝膿瘍も肝内結石も同一の発生機序とすると、肝膿瘍を形成する場合と肝内結石を形成する場合の違いは何か、という疑問が生じてくる。これまでの報告にもみられるように肝膿瘍を形成するには、1) 感染胆汁が存在すること、2) 胆汁が肝実質に穿破すること、が必要であろう。今回の2例は胆管が壊死に陥ったものの、壊死組織が肝実質に穿破することなくそのまま胆管内にとどまったために膿瘍を形成することなく、結石の核となったものと考えられた。最後に治療について述べる。症例1は血行再建

を伴った臍頭十二指腸切除術後であり、症例2は胃癌再発が疑われた患者であった。そのため患者への負担が少なく、かつ十分な治療効果が期待できるPTCS下結石摘出術を選択した。2例とも結石はほぼ完全に摘出することが可能であった。さらに当科で数年前より用いているシリコン製T-tubeを2例とも胆管内に留置し内外瘻とした。このチューブは1) 皮膚への固定を必要とせず刺入部痛の訴えが少ないこと、2) 結石再発、胆管狭窄に備えてルートが確保できること、3) 低価格、など有用でありかつ患者のQOLを損ねない方法である。

結 語

肝動脈血流の低下により胆管の虚血壊死を原因として生じたと考えられた肝内結石の2例について報告した。肝胆膵領域の悪性疾患に対し血管切除を伴う拡大手術やTAE後に、肝膿瘍と同様に起こりうるものであり、興味深い症例と考えられた。また結石の再発や胆管狭窄に備えて用いたシリコン製T-tubeは有用かつお薦めしたい手技であり紹介した。

文 献

- 1) 中田勝次, 芝山雄老: 肝臓の微小循環 肝臓の研究, 織田敏次 監修, 同文書院, 東京, 1987; p63-69
- 2) 尾形佳郎: 血管外科手技の一般外科への応用. *手術* **42**: 591-606
- 3) 田中紘輝, 西村明大, 山田和彦, 他: 肝胆膵領域の悪性腫瘍手術中に生じた肝動脈損傷あるいは切離例の検討. *日臨外医会誌* 1994; **55**: 145-149
- 4) 鎌迫 陽, 若月俊郎, 野坂仁愛, 他: 右肝動脈および胃十二指腸動脈切除を伴う胃癌根治術後に胆管壊死を来したAFP産生胃癌の1例. *手術* **51**: 2185-2189
- 5) Chuang VP: Hepatic artery embolization in the treatment of hepatic neoplasms. *Radiology* 1981; **140**: 51-58
- 6) Allison DJ and Jordau H: Therapeutic embolization of the hepatic artery; review of 74 procedure. *Lancet* 1985; **8429**: 595-599

脱落した胆管壁を核として形成されたとと思われる肝内結石の2例

- 7) 小泉 淳, 古寺研一, 金田 智: TAE後の合併症としての肝膿瘍. *日医放会誌* 1990; **504**: 592-598
- 8) 黒沢治樹, 仲野 明, 三浦靖彦, 他: 肝動脈の虚血, 阻血による胆管壊死性肝膿瘍. *胆道* 1995; **9**: 312-320
- 9) 山田達治, 神谷順一, 柳野正人, 他: 円筒状に拡張した右前上枝にビリルビンカルシウム石を認めた肝内結石症の1例. *消化器画像* 2001; **3**: 369-372
- 10) 近藤 智, 二村雄次, 早川直和, 他: 原発性コレステロール結石症の胆道X線像および内視鏡像の検討. *日消誌* 1989; **86**: 2779-2786
- 11) Kondo S, Nimura Y, Hayakawa N, *et al*: A clinicopathologic study of primary cholesterol hepatolithiasis. *Hepatogastroenterology* 1995; **42**: 501-505

厚生科学研究費補助金
特定疾患対策研究事業
肝内結石症調査研究班

**平成 13 年度
班会議プログラム**

厚生科学研究費補助金
特定疾患対策研究事業
肝内結石症調査研究班

肝内結石症 平成13年度第1回班会議プログラム

日 時：平成13年7月3日(火) 10:00～17:40
場 所：大正セントラルホテル（高田馬場駅前）

1. 開会の辞 10:00
2. 研究総括 班長 二村 雄次 10:10
3. 研究発表（発表時間 各10分、討論時間 10分）
- A. 疫 学** 座長 古川 正人 10:40～
-
- 1) 疫学の立場からの肝内結石症の原因
九州大学健康科学センター 馬場園 明
- 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 —第3報—
国立病院長崎医療センター外科 八坂 貴宏, 古川 正人
長崎県離島医療圏組合上五島病院内科 白浜 敏
九州大学健康科学センター 馬場園 明
- 3) 台湾における肝内結石症に関する疫学的研究
名古屋大学大学院器官調節外科 初山 正人, 小田 高司, 神谷 順一
二村 雄次
- *** 昼 食 (60分) ***
- B. 実験モデル** 座長 佐々木睦男 13:00～
-
- 4) ラットを用いた肝内結石症実験モデルの作成 —第2報—
九州大学大学院臨床・腫瘍外科 水田 篤志, 千々岩一男, 能城 浩和
田中 雅夫
同 形態機能病理 西山 憲一
- 5) 肝内結石症モデル犬の作成 —第3報—
弘前大学医学部外科学第2 佐々木睦男, 吉原 秀一, 豊木 嘉一
石戸圭之輔
- 6) 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 泉里 友文, 森 俊幸, 杉山政則
跡見 裕

C. 結石生成	座長 安藤 久實	14:00～
7) 肝内結石症におけるマトリックス蛋白としてのオステオポンチンおよびカルプロテクチンの関与	金沢大学大学院形態機能病理 原田 憲一, 中沼 安二	
8) DNA マイクロアレイ法と Differential I Display 法を併用した肝内結石症関連遺伝子の検索	愛媛大学医学部外科学第1 本田 和男, 児島 洋, 大谷 広美 小林 展章	
D. 病 態	座長 中沼 安二	15:00～
9) 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 金子健一朗, 安藤 久實	
10) 肝内胆管癌の進展にかかわる慢性増殖性胆管炎の役割 —アラキドン酸代謝およびムチン形質より—	筑波大学臨床医学系消化器内科 正田 純一, 浅野 徹, 加納 雅仁 松崎 靖司, 田中 直見 京都大学薬学系大学院 杉本 幸彦, 市川 厚 東京大学薬学系大学院 入村 達郎	
11) 肝内結石合併および非合併肝内胆管癌の K-ras 変異	新潟大学大学院分子・病態病理学分野 赤川 高志, 味岡 洋一, 渡辺 英伸	
4. 班長あいさつ		16:00
5. 班研究の進め方に関する打合せ会		16:05
6. 評価小委員会		16:05
7. 閉会の辞		17:00

平成13年度第1回班会議発表演題抄録

A-1) 疫学の立場からの肝内結石症の原因

九州大学健康科学センター 馬場園 明

疾病の原因を探究する場合、物理的な概念図式で要素還元主義的にアプローチしがちである。生命現象として生じている疾病をシンプルなモデルで説明しようというのである。しかしながら、遺伝子要因を含めて多要因によって複雑なメカニズムによって起こる疾病においては、本当の唯一の原因は存在しないし、疾病の発生をモデルで完全に説明することはできない。疫学においては、多要因のなかからもっとも疾病の予防に役に立つ原因を特定することが重視されるべきである。ここでいう原因とは要素還元主義的な原因ではなく、予防に役立つプラグマティックなものでなければならない。すなわち、ジョン・スノーのコレラの研究ではコレラ菌ではなく、給水の水であり、水俣病の問題では有機水銀というよりも水俣湾産魚介類の摂取である。上五島地区における肝内結石症の疫学研究により、肝内結石症のリスクと考えられる要因は、上水道、下水道などの生活背景、ATLやC型肝炎の感染、回虫感染の既往である。これらの研究結果を利用して、もっとも有効でプラグマティックな原因を同定して、台湾などの肝内結石症の発生の予防に役立てるべきであろう。

A-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 —第3報—

国立病院長崎医療センター外科 八坂 貴宏

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昨年より、当地区における疫学的調査を行ってきた。

これまでの検討では、1. 肝内結石症患者は対照

群と比べ、世帯主が農漁業である者が多く、小中学生時に腹痛が頻発しよく病欠していた。2. 既往歴では、黄疸、肝機能障害、回虫のあるものが多かった。3. 生活環境では、生家の飲料水が井戸水や河川水であるものが症例で多かった。4. ATLウイルス抗体陽性のものが多かった。などが確認された。

以上のことから、何らかの環境因子(衛生状態、感染など)が、結石の発生と関連している可能性があり、今回、第3報として、環境因子の再検討、また回虫やATLウイルスの血清抗体価の追加測定を行い、その結果を報告する。

A-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 粉山 正人

【目的】肝内結石症における環境要因の影響を調査するため台湾で症例対照研究を行った。

【調査項目】一般健康状態、婚姻状況、教育歴、生活習慣、飲料水、食品摂取頻度等を調査項目とした。

【対象、方法】症例は1999年3月から2000年12月までに台北のChang Gung Memorial Hospitalで肝内結石症と診断された153例とした。対照は性別と年齢をマッチングした304例とした。分析ではlogistic modelを用いてオッズ比を算出した。

【結果】女性で有意に低い身長を認めた。養育児童数が多いほどオッズ比は上昇した。教育レベルでは高学歴になるほどオッズ比は低下した。女性において1日200 ml以上の珈琲の飲用でオッズ比が低下した。河川の水を飲用水とした場合、オッズ比は上昇した。ほうれん草を食べるほどオッズ比が低下した。

【考察】今回の調査では社会経済状態が不良な状況で肝内結石症のリスクが上昇する傾向を認め

た。不良な経済状態は不十分な衛生状態の背景となる可能性があると思われた。

B-4) ラットを用いた肝内結石症実験モデルの作成 —第2報—

九州大学大学院臨床・腫瘍外科 水田 篤志

【目的および背景】我々は前回ラットを用いた肝内結石実験モデル作成を試み、高率に肝内結石もしくは胆泥の発生を認めたことを報告した。今回さらに結石の成分分析と病理組織検査を追加報告する。

【方法】雄性 Wistar Rat を用いて総胆管十二指腸チューブバイパスの作成と門脈右枝の結札を行い、上行性感染と肝血流障害を起こさせ、6ヶ月以降に再開腹した。

【結果】胆管拡張と肝右葉の萎縮が確認され、2例において萎縮した肝右葉の拡張胆管内に層状構造を持つ径1 cm以上の結石を認めた。この結石の化学組成分析では前回の報告同様に胆汁性分であるビリルビン、カルシウムおよびコレステロールの含有量は数パーセント以下でしかなく、ヒトに見られる肝内結石症のものとは異なっていた。胆管の組織学的変化では、胆管壁の肥厚、腺管の増生、過形成、炎症細胞浸潤があり増殖性胆管炎に類似した変化がみられた。

【考察】ラットモデルで上行性胆道感染および門脈血流障害をおこすことで高率に肝内胆管に結石および泥状沈殿物を引き起こすことができ、胆管組織像では増殖性胆管炎に類似した変化がみられた。しかし結石の成分分析ではヒト肝内結石症で見られるようなものとは異なり、肝内結石症のモデルとしてはさらに検討を要すると思われた。

B-5) 肝内結石症モデル犬の作成 —第3報—

弘前大学医学部第二外科 佐々木陸男

これまで、われわれは肝内結石症の動物モデルを開発してきた。その結果長期間の胆汁うっ滞負荷と

胆道細菌感染により人の肝内結石症とよく類似した増殖性胆管炎を伴う肝内結石症を作成しうることを観察してきた。しかし、本モデルは作成期間が18ヶ月から24ヶ月と長期にわたり管理運営の上で多くの困難があった。そこでより簡便で確実に肝内結石症を発症するモデルの開発が期待された。

【方法】雑種成犬(8-12 kg)を全身麻酔下に開腹し、胆嚢摘出後、総胆管に5Frのシリコンコーティングチューブを間置し胆道狭窄を作成した。さらに、胆管壁に炎症を与える目的でそのチューブより総胆管内に純エタノール10 ml注入した。その後28日で犠牲死させ結石の有無と胆管壁を観察した。

【結果】明らかな結石の生成は認められなかった。胆管壁は著明に肥厚していた。粘液腺と繊維化が著明に認められた。

【考察】エタノールによる胆管壁損傷の結果、早期に胆管の増殖性変化を来すことが可能となった。しかしエタノールの注入量と濃度によっては繊維化が主体となり、粘液腺の増殖が妨げられる可能性があった。したがって、エタノールの濃度と量を適切に調整することが肝内結石症に至る増殖性胆管炎の発生に重要と思われた。

B-6) 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 泉里 友文

【目的】肝内コレステロール結石の成因にコレステロールの代謝異常が関与していることが明らかにされてきたが、粘液の関連も考えられている。我々はプレリードッグによる実験的肝内コレステロール結石モデルを作成し、肝胆道組織に粘液染色を行ない、肝内結石の成因と粘液との関連性を調べた。

【方法】プレリードッグは3週間にわたり高コレステロール食を投与した後、左肝管を結紮し、さらに2週間後に屠殺して検体に供した(高コ食群、n=6)。対照群(n=6)は精製飼料を投与したのち同

様に左肝管を結紮した。両群における肝内胆管、肝外胆管、胆嚢に対し、HE染色のほか粘液染色(コロイド鉄染色、HID-alcian blue pH2.5重染色、PAS染色)を行なって比較検討した。

【結果】高コ食群では、6匹中5匹に胆管結紮側の肝内に約120 μm のコ系石が形成された。高コ食群の胆管結紮側の胆管上皮は高円柱化、乳頭化、胆管壁肥厚により狭窄を呈し、肝内のグリソンと肝小葉の変化は著明であった。高コ食群の胆管結紮側では、コロイド鉄染色で粘液が優位に増加していた。HID-alcian blue pH2.5重染色では胆管結紮側の大型胆管内の粘液および粘液細胞内にシアロムチンの含有を認めた。PAS染色では胆管結紮側の粘液細胞に中性ムチンの含有を認めた。一方、高コ食群の非結紮側と対照群では組織学的変化は無く、粘液染色では大型胆管にわずかに粘液の染色性が見られた。

【まとめ】高コ食群の胆管結紮側では肝内胆管内の粘液の増加がみられた。肝内胆管内の粘液はシアロムチン優位であり、粘液細胞のムチンはシアロムチンと中性ムチン優位であった。一方、高コ食群の非結紮側と対照群では結石形成が無かったことから、肝内コレステロール結石形成の成因には胆管狭窄、高コレステロール環境、粘液増生が関与していることが示唆された。現在、インドメサシンによる粘液産生の変化について実験中である。

C-7) 肝内結石症におけるマトリックス蛋白としてのオステオポンチンおよびカルプロテクチンの関与

金沢大学大学院形態機能病理 原田 憲一

結石は無機物質を主成分とするが、少量の有機物質(結石マトリックス)も含まれており、このマトリックス成分が結石形成機序において重要な役割を担っている。我々は、分泌型糖蛋白で強いカルシウム結合能を有するオステオポンチン(OPN)とカルプロテクチン(CPT)に注目し、昨年の本会で肝内結石症の胆管上皮から産生され胆汁中に分泌される

OPNが、結石のマトリックス成分となっていることを報告した。

今回、肝内結石症におけるCPTの発現を検討した結果、結石内にCPTの層状沈着を認め、CPTも肝内結石を構成するマトリックス成分の一つであることが示された。また、胆泥内および胆管上皮内に多数のCPT陽性浸潤単核細胞(形態的に好中球)が認められ、好中球が主要なCPT産生細胞と考えられた。なお、胆管付属腺を含め胆管上皮に明らかなCPTの発現は認めなかった。

以上のことより、肝内結石のマトリックス成分としてOPNのみならずCPTも存在しており、両者とも結石形成過程の石灰化において重要な因子と考えられた。また、結石に沈着しているCPTは胆管上皮内に浸潤している好中球由来と考えられ、胆道感染症などによる化膿胆管炎が肝内結石形成に関与していることが示唆された。

C-8) DNAマイクロアレイ法とDifferential Display法を併用した肝内結石症関連遺伝子の検索

愛媛大学医学部外科学第1 本田 和男

DNAマイクロアレイ法は数百の既知の遺伝子のcDNAをスライドガラス上にスポットし、組織より抽出し蛍光標識したmRNAをハイブリダイズさせ発現の差を解析する方法である。Takaraより癌関連で550種類、アポトーシス関連で164種類、サイトカイン関連で220種類のcDNAがスポットされたスライドが発売された。

mRNAの発現の差を解析する点ではDifferential Display法と同じであるが、既知の遺伝子についてはこの方法で検討することにより、肝内結石症に関連する遺伝子のスクリーニングがより効率よくできる。

また、文部科学省、厚生労働省、経済産業省より発表され平成13年4月1日施行の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づいた臨床検体の取り扱いについて概説する。

**D-9) 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 金子健一郎

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(先天性)胆管狭窄にある。しかし、肝内結石は根治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、別の因子の関与が考えられる。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。

先天性胆道拡張症で肝外胆道切除時に胆汁中の細菌培養検査を実施した自験98例と肝内結石発生時に胆汁中の細菌培養検査が実施された10例を対象とした。胆管切除時の98例中25例(25.5%)で細菌が検出され、肝内結石例では10例中10例(100%)で検出された($p < 0.01$)。胆管切除時に検出された25例のうち10例は過去に拡張胆管と腸管の内瘻術の既往があり、初回根治術で検出された15例との間で検出菌の違いが見られた。内瘻既往例では*E. coli*, *Klebsiella*などのグラム陰性腸管内常在菌が多いのに対し、初回根治例では*Pseudomonas*や*Acinetobacter*といった非常在菌が中心であった。肝内結石例の胆汁は内瘻既往例と同様で、全例においてグラム陰性腸管内常在菌が複数検出された。

以上より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肝内結石が発生すると考えられた。

D-10) 肝内胆管癌の進展にかかわる慢性増殖性胆管炎の役割

—アラキドン酸代謝およびムチン形質より—

筑波大学臨床医学系消化器内科 正田 純一

肝内結石症はその約10%に肝内胆管癌が発生すると報告されており、肝内胆管癌のハイリスクグループに位置付けられる。発癌および癌進展の背景には、慢性増殖性胆管炎に代表される活動性かつ持続

性の胆管炎症が重要であると推測されているが、その発癌過程、浸潤・転移の機序は未だ不明である。

前回我々は慢性増殖性胆管炎におけるアラキドン酸代謝の活性化因子(シクロオキシゲナーゼ2・プロスタグランジンE受容体)の病態因子としての重要性を強調したが、今回は胆道癌標本ならびに胆道癌細胞を用いてこれら因子の発現を解析し、またアラキドン酸代謝活性化の癌細胞の腫瘍生物学に与える影響について検討した。さらに胆道癌の浸潤・転移にかかわる細胞形質として重要であるムチン形質の点からも考察を加えた。

D-11) 肝内結石合併および非合併肝内胆管癌の K-ras 変異

新潟大学大学院分子・病態病理学分野 赤川 高志

【目的】肝内結石症合併および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、およびK-ras変異と癌の進行度、細胞異型、粘液形質との間に関連があるかどうかを、明らかにすること。

【対象と方法】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胆管癌13例(肝内結石合併群7例、非合併群6例)を対象とし、1)結石合併の有無、癌の深達度、細胞異型度、粘液形質別のK-ras変異陽性率、2)K-ras変異陽性領域と陰性領域の細胞増殖能(Ki-67 labeling index)の比較、を行った。DNAの抽出はホルマリン固定・パラフィン切片を用いたmicrodissection法で行い、遺伝子検索はPCR-RFLP法を用いた。

【結果】1)各比較項目別のK-ras変異陽性率。①結石の有無別：結石合併 vs 非合併；1/7 (14%) vs 3/6 (50%) ($p=0.26$)、②深達度：上皮内 vs 浸潤部；30% vs 31%、③細胞異型度：低異型度癌 vs 高異型度癌；40% vs 23%、④粘液形質：固有型 vs 固有・胃型 vs 胃型 vs 胃腸型 vs 分類不能；0% vs 0% vs 27% vs 40% vs 33%。

2) K-ras変異の有無別のKi-67 labeling index (%)
(癌の細胞異型度別に比較)

①低異型度癌：K-ras (+) vs K-ras (-) ; 17.6 ± 13.9 vs 9.1 ± 5.8 、②高異型度癌；K-ras (+) vs K-ras (-) ; 27.4 ± 14.8 vs 20.8 ± 13.7 。

【結論と考察】今回までの検討では、肝内結石症合併の有無、組織学的所見、粘液形質とK-ras変異の有無との間には有意の相関は認められなかった。しかし、結石合併例はK-ras変異率が低い傾向があり、今後検討症例数を増やすことで結石合併の有無とK-ras変異率との間に有意の相関が得られる可能性が期待される。一方、Ki-67 labeling indexは高・低異型度癌ともにK-ras変異領域では高値であり、K-ras変異が同部の癌のgrowth advantageに関与している可能性が示唆された。

厚生科学研究費補助金
特定疾患対策研究事業
肝内結石症調査研究班

肝内結石症 平成13年度第2回班会議プログラム

日 時：平成14年1月8日(火) 10:00～17:10

場 所：大正セントラルホテル（高田馬場駅前）

- | | | |
|--------------------------------|------------------|-------|
| 1. 開会の辞 | 班長 二村 雄次 | 10:00 |
| 2. 厚生労働省挨拶 | 健康局疾病対策課長補佐 名越 究 | 10:05 |
| 3. 研究総括 | 班長 二村 雄次 | 10:30 |
| 4. 研究発表（発表時間 各10～15分、討論時間 10分） | | |

A. 疫 学 座長 馬場園 明 11:00～

- 1) 長崎県における肝内結石症の実態調査
国立病院長崎医療センター外科 古川 正人, 八坂 貴宏, 佐々木 誠
- 2) 肝内結石症の原因としての回虫症の疫学的検討
九州大学健康科学センター 馬場園 明
- 3) 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 —第4報—
国立病院長崎医療センター外科 八坂 貴宏, 古川 正人
長崎県離島医療圏組合上五島病院内科 白浜 敏
九州大学健康科学センター 馬場園 明

*** 昼 食 (60分) ***

B. 実験モデル 座長 田中 直見 13:00～

- 4) 肝内結石症モデル犬の作成 —第4報—
弘前大学医学部外科学第2 佐々木陸男, 吉原 秀一, 石戸圭之輔
豊木 嘉一
- 5) 実験的肝内コレステロール結石形成と粘液の関連、インドメサシンによる結石形成抑制効果
杏林大学医学部第一外科 泉里 友文, 森 俊幸, 杉山 政則
跡見 裕
- 6) ラットとウサギにおける胆管結紮モデルの cholesterol 7 α -hydroxylase の活性および mRNA レベルの変動について
宮崎医科大学外科学第1 前田 資雄, 甲斐 真弘, 永友 淳司
東 秀史

C. 結石生成

座長 佐々木睦男

14:00～

7) 肝内結石症の肝内胆管系における自然免疫機能

金沢大学大学院形態機能病理 中沼 安二, 原田 憲一

8) イリドイド化合物 (特にゲニピン) の胆汁分泌促進効果は肝内結石症における胆汁うっ滞因子 (肝輸送蛋白の発現異常) を改善できるか?

筑波大学臨床医学系消化器内科 正田 純一, 田中 直見

名古屋大学大学院器官調節外科 小田 高司, 二村 雄次

和歌山医科大学第二病理 宇都宮洋才

東京大学薬学部製剤学教室 鈴木 洋史, 杉山 雄一

9) DNA マイクロアレイによる肝内結石症の遺伝子発現解析

愛媛大学医学部外科学第1 児島 洋, 本田 和男, 小林 展章

10) 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 國料 俊男, 山本 竜義, 小田 高司

神谷 順一, 二村 雄次

名古屋大学大学院分子病態研究部門 濱口 道成

*** コーヒーブレイク (15分) ***

D. 病 態

座長 中沼安二

15:35～

11) 肝内結石合併および非合併肝内胆管癌の粘液形質 —第3報—

新潟大学大学院分子・病態病理学分野 味岡 洋一, 赤川 高志, 渡辺 英伸

12) 先天性胆道拡張症から肝硬変・肝癌に至った症例

名古屋大学大学院小児外科 金子健一朗, 安藤 久實

13) 脱落した胆管壁膜を核として形成されたとされる肝内結石の2例

名古屋大学大学院器官調節外科 粕山 正人, 東島由一郎, 小田 高司

神谷 順一, 二村 雄次

14) 肝内結石症の乳頭括約筋機能 —総胆管結石症との比較から—

九州大学大学院臨床・腫瘍外科 宇都宮成洋, 清水 周次, 千々岩一男

田中 雅夫

5. 班長挨拶

16:55

6. 閉会の辞

17:00

平成13年度第2回班会議発表演題抄録

A-1) 長崎県における肝内結石症の実態調査

国立病院長崎医療センター外科 古川 正人

【目的】上五島地区に高率に認められる肝内結石症が、上五島地区の特有の現象なのか、あるいは、長崎県でも認められる現象なのかを知るために、長崎県における肝内結石症の実態調査をした。

【対象と方法】長崎肝・胆・膵外科研究会に所属する長崎県内48施設を対象として、過去20年間の胆石症手術症例についてアンケート形式にて調査し、43施設(89.6%)より回答を得た。

【成績ならびに結語】この間の全胆石症手術症例29181例で、その内肝内結石症は673例3.3%であった。都市部の長崎地区は3.1%であったが、離島である五島地区では12.0%と高率であった。その推移は、長崎県全体では20年前の5.4%から1.9%に減少したが、長崎地区は6.5%から1.5%に減少していたのに比し、五島地区では減少はしているものなお、3.4%と高率であった。男女比は1:1.5、平均年齢は男性58.4才、女性60.0才で、ともに50~60才代にピークを認めた。病型では長崎県でも肝内外型が減少していた。居住地区別にみると、人口10万対症例数は長崎地区が31.9に比し、五島地区は175.1と極めて高く、改めて、長崎県五島地区が肝内結石症多発地区であることが示唆された。

A-2) 肝内結石症の原因としての回虫症の疫学的検討

九州大学健康科学センター 馬場園 明

現代疫学においては、疾病の原因の判断は、特定の要因がその疾病の罹患率の上昇に独立して貢献していたかどうかによってなされる。真の要因と関連しているために罹患率の上昇に関与している要因は交絡要因として区別される。

現在までの上五島地区における肝内結石症に関する疫学で、肝内結石症の原因と考えられる要因は、生家の飲料水、緑黄色野菜、HCV抗体、ATLV抗体、回虫抗体の感染である。このなかで、どれが真の原因たるか検討されなければならない。真の要因は、Humeが1778に、

“We may define a ‘cause’ to be an object, followed by another, …… where, if the first object had not been, the second had never existed.”

と定義したように、その要因がなければ疾病が発生しなかったものと考えれば、回虫感染が原因である可能性が高い。

わが国では回虫症も肝内結石症の発生も低くなったことを考えれば、回虫症の有病率と肝内結石症の罹患率(新規患者発生率)との関連を年代的にあるいは地理的に検討することが、回虫感染症と肝内結石症との関連を明らかにする一つの疫学的課題であると考えられる。

A-3) 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 —第4報—

国立病院長崎医療センター 八坂 貴宏

【背景】長崎県上五島地区における肝内結石症の成因追求のための疫学的調査を行った。

【方法】平成12年10月~平成13年9月までの1年間に、上五島地区在住で当院に通院中の肝内結石治療後患者56例を症例として抽出し、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112例を対照として、症例対照研究を行った。調査方法は面接による聞き取り調査で、居住・職業歴、既往歴、家族歴、発育状況・婚姻歴、生活環境、食事・嗜好について行った。

【結果】肝内結石症例では、世帯主の職業が農漁業で、生家の飲料水が井戸水、河川水であるものが多かった。また、学童期から成人までに健康状態が悪く、学校や仕事を休むことが多かった。既往歴としては、黄疸、肝機能障害、回虫の既往が多かった。

【結論】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ことが示唆された。

B-4) 肝内結石症モデル犬の作成 (第4報)

弘前大学医学部外科学第2 佐々木睦男

【目的】肝内結石症の病態解明には本性をよく再現できる動物モデルの開発が必要となる。これまでわれわれは雑種成犬を用い種々の条件下で本症の発症を試みてきた。その結果長期にわたる胆汁うっ滞と胆道感染を負荷すれば本症を発症することが知られた。しかし、このモデルは発症まで約2年と長期にわたり、胆道感染のため死亡する場合も多く病態の解明や治療開発に利用するには効率が悪かった。そこで、早期に本症を発症し、生存率も高い実験モデルの開発を試みた。本モデルは全胆管系に胆汁うっ滞の負荷をかけ、胆管壁に化学的損傷を与えるものである。

【方法】雑種成犬(8-10kg)8頭を全麻下に開腹し胆嚢摘出後、総胆管内に7Frシリコンコーティングチューブを約30cm間置した。このチューブより無水エタノールを0.5ml注入し胆管に化学的損傷を与えた。この状態で60日飼育し犠牲死させて結石形成の有無、増殖性胆管炎の有無を確認した。

【結果】60日の間に死亡するイヌはなく、また経過中に黄疸などは認められず健常な状態であった。肝外および肝内胆管に粘液と胆砂は認められたが、明らかなビリルビンカルシウム石は形成されていなかった。胆管は肝外、肝内胆管とも著明に拡張していた。また、肝内胆管には胆管壁の肥厚が認められ増殖性胆管炎に類似した所見が認められた。

【考察】本モデルでは肝内胆管の著明な拡張と胆管壁の肥厚が認められたが、明らかな結石は形成

されなかった。しかし、形態的には肝内結石症と類似しているため、負荷期間を長くすれば結石形成の可能性が考えられた。

B-5) 実験的肝内コレステロール結石形成と粘液の関連、インドメサシンによる結石形成抑制効果

杏林大学医学部第一外科 泉里 友文

【目的】肝内コレステロール結石の成因にコレステロールの代謝異常が指摘されているが粘液の関与も考えられる。我々はプレリードッグによる実験的肝内コレステロール結石モデルを作成し、肝胆道組織の粘液染色を行い、肝内コ石の成因と粘液との関連性を調べた。さらに、prostaglandinが粘液産生を抑制することから、インドメサシンを投与し肝内結石生成に対する効果を調べた。

【方法】プレリードッグを4群に分けた。3週間の高コレステロール食の投与後に左肝管を結紮、さらに1週間または2週間後に屠殺した(高コ食1週群n=6、2週群n=6)。インドメサシン群(I群、n=6)は左肝管結紮後、連日インドメサシン1mg/kgを投与し、2週間後に屠殺。対照群(n=6)は精製飼料を3週間投与後に左肝管を結紮、2週間後に屠殺。各群の肝内胆管、肝外胆管、胆嚢の組織をHE染色および粘液染色(コロイド鉄染色、HID-alcian blue pH2.5重染色、PAS反応)により観察した。

【結果】高コ食1週群(3/6)、高コ食2週群(5/6)、I群(1/6)の結紮側胆管内にコレステリン結晶が観察された。高コ食1週群(6/6)とI群(5/6)の結紮側胆管内に粘液網が観察されたが、I群の粘液網の大きさや量は1週群よりも少ない傾向にあった。高コ食両群とI群の胆管結紮側の胆管上皮に粘液産生細胞の増加、高円柱化、乳頭化、胆管壁肥厚、肝内のグリソンの線維化が観察された。これらの所見は高コ食2週群>1週群>I群の順で著明であった。コロイド鉄染色では高コ食両群とI群の胆管結紮側に優位に粘液が増加していた。HID-alcian

blue pH2.5 重染色と PAS 反応の検討では、胆管内粘液にシアロムチンを、粘液産生細胞内の粘液がシアロムチンと中性ムチンを含んでいた。一方、各群の非結紮側、対照群両側では結石および組織学変化はみられなかった。

【まとめ】高コ食両群の結紮側肝内胆管内に粘液の増加が認められた。1 週群は 2 週群よりも結石形成率は少なかったものの、全例に粘液網が観察されたことから、この粘液網が結石形成の骨格の役割を果たしていることが考えられた。よって、肝内コレステロール結石形成の成因には高コレステロール環境、粘液増生、胆管狭窄が関与していることが示唆された。さらに、インドメサシンの投与によって粘液産生と結石形成が抑制されることが明らかになった。

B-6) ラットとウサギにおける胆管結紮モデルの cholesterol 7 α -hydroxylase の活性および mRNA レベルの変動について

宮崎医科大学外科学第 1 前田 資雄

【背景】肝内結石症における肝臓の種々の代謝変動を研究する上での動物実験モデルの一つに胆管結紮モデルがある。われわれは胆管結紮によってひき起こされる胆汁酸代謝の変化をラットとウサギとを使用し、cholesterol 7 α -hydroxylase について活性および mRNA レベルを測定し、動物による種差について検討した。

【方法】Wistar rat および New Zealand white rabbit を用いた。Ether 麻酔下に開腹し、胆管を二重結紮下に切離した。Sham operation group として単開腹群を用いた。5 日目に肝臓を摘出し、cholesterol 7 α -hydroxylase の活性および mRNA レベルを測定した。

【結果】血清胆汁酸値、コレステロール値はラット、ウサギともにコントロール群にくらべて有意に上昇していた。Wistar rat においては cholesterol 7 α -hydroxylase は活性および mRNA レベルは両者

ともに有意に上昇していた。一方、New Zealand white rabbit においては両者ともに有意に減少していた。

【結語】われわれの結果から胆管結紮モデルを作成するうえで種差による胆汁酸代謝変動の違いを考慮に入れることが重要であることが示唆された。

C-7) 肝内結石症の肝内胆管系における自然免疫機能

金沢大学大学院形態機能病理 中沼 安二

肝内結石の結石成分として、胆管上皮から分泌されるオステオポンチン、好中球から産生されるカルプロテクチンが重要であることを、昨年度報告した。今回、肝内胆管系と細菌感染との関連性を自然免疫の観点から検討し、肝内結石症における生体防御機構の解析を行った。肝門部大型胆管は、菌体成分を認識する受容体 Toll-like receptor (TLR) -3、-4、-5 を恒常的に発現していたが、肝内結石症の結石含有胆管では TLR の発現は減弱または消失していた。また、抗菌ペプチドである defensin-2 は、肝内結石症の肝門部胆管で異常発現していたが、結石含有胆管では defensin-2 の発現は乏しかった。

以上より、肝内結石症の肝内胆管上皮は、自然免疫である TLR を介した細菌認識機構と defensin-2 による抗菌作用が減弱あるいは消失していることが示唆され、これが慢性胆管炎の持続、オステオポンチンやカルプロテクチン産生亢進、さらには結石形成に何らかの役割を果たしていると考えられた。

C-8) イリドイド化合物 (特にゲニピン) の胆汁分泌促進効果は肝内結石症における胆汁うっ滞因子 (肝輸送蛋白の発現異常) を改善できるか?

筑波大学臨床医学系消化器内科 正田 純一

肝内結石症は日本を含む東南アジアに多発する難治性疾患であり、本症の結石成因の背景には疾病肝における胆汁うっ滞が重要であるとされてきた。最近我々は、本症における肝輸送蛋白の発現異常が胆汁

うっ滞の病態因子として重要であること見出し報告した (Hepatology 33: 1194, 2001)。

漢方製剤であるインチンコウ湯は、古くから黄疸の治療薬として広く使用されており、その臨床効果は本剤に含まれるGeniposideによる利胆作用と考えられている。そこで今回は、Geniposideが本症の胆汁うっ滞に対する治療薬となる可能性を追求する目的で、Geniposideの活性本体であるGenipinの胆汁分泌促進機構の解明を行った。

SDラットにGenipinを静脈内に持続注入することにより顕著な利胆作用が認められ、胆汁組成では、総ビリルビンおよび還元型グルタチオン濃度の増加が認められた。総胆汁酸濃度には影響を与えなかった。一方、遺伝的にMrp2が欠損している黄疸ラット(EHBR)においてはGenipinの効果は認められなかった。Genipinによる利胆は総ビリルビンおよび還元型グルタチオンの排泄を伴うこと、またEHBRでは効果を認めなかったことより、胆汁酸非依存性であり、Mrp2を介する利胆効果である可能性が示唆された。またGenipinによる利胆効果は、ウルソデオキシコール酸によるものとは異なる作用機序であると考えられた。

C-9) DNAマイクロアレイによる肝内結石症の遺伝子発現解析

愛媛大学医学部外科学第1 児島 洋

肝内結石症患者の結石側肝臓と非結石側肝臓の手術標本からmRNAを抽出し、逆転写反応により蛍光標識したcDNAを作成した。アポトーシス関連の遺伝子とサイトカイン関連の遺伝子がスポットされたDNAチップ(Takara)上でハイブリダイゼーションし、スキャンニングして発現の差をもとめた。非結石側肝臓ではアポトーシス抑制、細胞増殖抑制の遺伝子発現が認められた。一方、結石側肝臓ではアポトーシス、炎症反応に関連する遺伝子の発現が多く認められ、活発な免疫反応と肝萎縮の病態を反映していると考えられた。DNAマイクロアレイによ

る網羅的な遺伝子発現解析は、肝内結石症の病態の解明に有用であると考えられた。

C-10) 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管調節外科 國料 俊男

肝内結石症に肝内胆管癌を併発する場合の病因に関しては多くの研究がされ、病態が少しずつ明らかにされている。また発癌に関する遺伝子解析にていくつかの遺伝子が結石存在部位の肝葉に特異的に発現していることも報告されている。しかしそれらは単一遺伝子についての解析であり、網羅的に遺伝子発現を調べた報告はされていない。

前回報告した肝内結石症2例、肝内胆管癌を合併した肝内結石症2例にくわえて新たに肝内結石症3例にDNAアレイ(Atlas Human Cancer 1.2 Array、CLONTECH)による網羅的遺伝子解析をおこなった。前回と同様に結石存在部位の肝葉ではtumor suppressor gene、proto-oncogeneの広範囲な発現の亢進を認め、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、活性化していた。また癌合併例ではtumor suppressor gene、proto-oncogene、DNA damage repair geneに関して結石存在部位の肝葉と癌で共通した遺伝子が発現亢進または発現低下を示し、類似した発現パターンを認めた。これらの遺伝子の活性化、不安定性が発癌機序に大きな影響をあたえていること、結石存在部位の肝葉が癌にきわめて近い状態であり、結石病変が前癌病変である可能性が推測された。

D-11) 肝内結石合併および非合併肝内胆管癌の粘液形質 —第3報—

新潟大学大学院分子・病態病理学分野 味岡 洋一

肝内結石併存(7例)・非併存(6例)肝内胆管癌のK-ras遺伝子変異率を、癌の深達度、細胞異型度、粘液形質別に比較検討した。

結石(+)群と(-)群の変異率は全体、深達度、

異型度、別にみて有意差はなかったが、化生型(胃型もしくは胃・腸型)粘液形質領域では結石(+)で11%(1/9)、結石(-)で63%(5/8)と、有意差が見られた($p=0.00498$)。すなわち、化生型粘液形質を有する肝内胆管癌では、結石の有無がK-ras変異と相関しており、結石による持続性慢性炎症刺激が癌の発生もしくは進展にK-ras変異と同質の影響を与えている可能性が示唆された。

D-12) 先天性胆道拡張症から肝硬変・肝癌に至った症例

名古屋大学大学院小児外科 金子健一郎

先天性胆道拡張症には約8%の頻度で肝内結石が発生する。ほとんどが胆管切除後に発生し、原因は(先天性)肝内胆管狭窄と胆道再建による胆道感染にあると考えられる。治療は胆管狭窄の解除にあるが、時に難渋する。今回、先天性胆道拡張症術後の肝内結石の治療過程で肝腫瘍を生じた症例を経験したので報告する。

症例：11歳時に総胆管空腸吻合術が施行された。12年後から頻回に胆管炎が生じ、14年後に肝内結石が発見されて胆管切除・左右肝管バルン拡張術が施行された。しかし、3年後に胆管炎生じ、左肝内結石をPTCSで摘出した。その後も肝障害続き、胆管切除後10年で肝硬変症状が顕著となり、遠位脾腎シャント・左肝管膜様狭窄切除術が施行されたが、徐々に肝不全が進行した。胆管切除後13年で、S7に肝腫瘍が発見され、生体部分肝移植を行ったが、術後4日で敗血症死した。摘出標本では高分化から中分化の肝癌で肝内結石も再発していた。

D-13) 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 初山 正人

【はじめに】胆管壁の炎症や虚血が原因と考えられた、通常とは異なる性状を示した肝内結石を2例経験したので報告する。症例1は胃癌術後3ヶ月目に、症例2は胆管癌術後1ヶ月目にPTCSによって結石を認め除去した。いずれも黒褐色で弾性軟の特異な結石であった。

【症 例】症例1は57歳男性。胃癌で幽門側胃切除、Billroth-1を施行。3ヶ月後胆道系酵素が上昇し肝内胆管の拡張を認めたため、胃癌再発を疑い経皮経肝胆道ドレナージを施行した。胆管造影で左右胆管から総胆管に、鑄形状の陰影欠損を認めた。PTCSで5×1cmの黒褐色の結石を認め除去した。

症例2は56歳男性。胆管癌で膵頭十二指腸切除、右肝動脈・門脈合併切除を施行。術直後から熱発が続き、CTで肝S4、5に虚血性所見を認めた。術後1ヶ月の胆管造影で右胆管の不整狭窄像を認めた。PTCSで右胆管壁に黒褐色の付着物を認め除去した。

2例とも弾性軟の結石で、結石除去後の胆管内腔は赤白色を帯び炎症所見を認めた。組織像では、胆管壁のghostと考えられる物質が結石の中心に存在していた。結石の再発や胆管の再狭窄の可能性を考慮してシリコン製Tチューブで内瘻化した。

【考 案】2つの症例における肝内結石は性状が通常の肝内結石と異なり、術後の炎症や虚血性変化の後に比較的早期に発生した。発生機序として、胆管周囲の炎症や虚血によって胆管壁の脱落がおき、それを核として結石が形成された可能性が考えられた。

D-14) 肝内結石症の乳頭括約筋機能
—総胆管結石症との比較から—

九州大学大学院臨床・腫瘍外科 宇都宮成洋

【背景】近年肝内結石症(IHS)の肝内肝外型(IE型)が減少し、肝内型(I型)の頻度が増加しているが、IHSにおける十二指腸乳頭機能の関与は報告が少ない。I型及びIE型、総胆管結石症(CBDS)の3群の乳頭括約筋(SO)機能を比較検討した。

【方法】PTCDまたはTチューブドレナージ中のIHS(I型)5例・IHS(IE型)15例・CBDS6例で灌流法による十二指腸及びSO内圧測定を行い、Migrating Motor Complex(MMC)と連動したSOの基礎圧・収縮圧・収縮頻度を記録した。

【結果】基礎圧は(第I、II相)IHS(I): 11.3 ± 2.9 、IHS(IE): 5.0 ± 2.2 、CBDS: 5.6 ± 4.5 (第III相)IHS(I): 25.6 ± 5.1 、IHS(IE): 18.9 ± 10.3 、CBDS: 21.0 ± 2.8 (mmHg)であり第I、II相のIHS(I)群とIHS(IE)群、IHS(I)群とCBDS群との間に有意差が認められた。 $(P < 0.05)$ 収縮圧及び収縮頻度には3群間で有意差は認められなかった。

【考察】肝外に結石が存在するIE型肝内結石症及び総胆管結石症においてはSOが比較的弛緩した状態にあり、結石の存在によって結果的に徐々に括約筋機能が障害されていく可能性が考えられた。