

Experimental Study on the Morphological Changes of the Intrahepatic Bile Ducts After Loading Obstruction and Infection of the Biliary Tract

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8137

胆道感染による肝内胆管枝障害の実験的研究

金沢大学外科学第二講座 (主任: 宮崎逸夫教授)

上 田 順 彦

(平成1年7月28日受付)

肝内結石症の病態を解明することを目的として、雑種成犬を用いて部分肝に胆汁鬱滞兼胆道感染を負荷し、肝内胆管枝の変化およびそれに伴う二次的なグリソン鞘内の変化、肝実質の変化について形態学的な面より検討した。モデル犬製作方法としては、肝左葉2区域をドレナージする胆管内にチューブを挿入し、このチューブより *E. coli* を 10^7 個、*B. fragilis* を 10^7 個同時に注入した後、チューブを完全閉塞させたものを感染群とし、菌を注入しないものを非感染群とした。モデル犬作製後2週間目、1カ月目、3カ月目の各時期に屠殺し、肝臓を摘出し病理組織学的検索に供した。その結果、以下の成績を得た。大型胆管領域のグリソン鞘内の変化では、感染群は胆管の拡張とともに胆管壁の線維性肥厚、胆管上皮の乳頭状変化、導管様構造物および小葉構造物出現の程度が経日的に増強する傾向が認められた。さらに、胆管上皮および壁内構造物の細胞質内には経日的に中性ムチン、シアロムチン、スルホムチンの含量が増加する傾向が認められた。また、門脈周囲にも炎症の波及によると思われる線維性結合織の増生が経日的に認められた。一方、非感染群では胆管の拡張はあるものの、胆管壁の線維性肥厚、胆管上皮の増殖性変化の所見および胆管上皮の細胞質内の粘液含量の増加はほとんど認められず、門脈周囲にも線維性結合織の増生はほとんど認められなかった。隔壁性胆管領域のグリソン鞘内の変化では、感染群は胆管壁周囲を輪状に取り巻く線維の増生を経日的に認め、非感染群に比べ1カ月目では5%の危険率で、3カ月目では1%の危険率で有意に高度となった。また、門脈内腔は3カ月目において感染群は非感染群に比べ有意 ($p < 0.01$) に狭小化した。小葉間胆管領域のグリソン鞘内での変化においても同様に、感染群は胆管周囲を輪状に取り巻く線維の増生を経日的に認め、2週間目以降非感染群に比べ有意 ($p < 0.01$) に高度となった。また、門脈内腔は3カ月目において感染群は非感染群に比べ有意 ($p < 0.01$) に狭小化した。肝実質の変化では両群とも経日的に肝萎縮が進行したが、2週間目以降感染群は非感染群に比べ有意 ($p < 0.01$) に肝萎縮が認められた。以上の成績より、ヒト肝内結石症に高頻度に見られる増殖性胆管炎の所見は胆汁鬱滞と胆道感染により引き起こされることが示唆された。また、胆汁鬱滞に胆道感染を加えることにより、門脈血流量の低下がより高度となり肝実質の萎縮が著明になるものと推察された。

Key words biliary tract infection, bile stasis, intrahepatic bile duct glands, liver atrophy

これまでに肝内結石症の病態や成因の解明を目的として、臨床材料を用いて検討がなされてきた¹⁾⁷⁾。しかしながら、臨床材料のみの検討ではこれらの病態が肝内結石症の原因であるのか、結石が形成されたための二次的な結果であるのか判然としない。これまでその

病態を解明する実験的な研究がなされてきたが、いまだ成功するには至っていない⁸⁾⁹⁾。

そこで本研究では、肝内結石症の病態のうち、とくに胆汁鬱滞と胆道感染が肝内胆管枝に及ぼす影響を及ぼすかを知ることを目的として、雑種成犬の部分肝に

Abbreviations: AB, alcian blue; *B. fragilis*, *Bacteroides fragilis*; *E. coli*, *Escherichia coli*; EVG, Elastica van Gieson; HE, hematoxylin eosin; HID, high iron diamine; PAS, periodic acid-Schiff; グ鞘, グリソン鞘

胆汁鬱滞兼胆道感染を負荷し、肝内胆管枝の変化およびそれに伴う二次的なグリソン鞘(グ鞘)内の変化、肝実質の変化について形態学的な面より検討したところ、興味ある知見を得たので報告する。

対象および方法

I. 実験動物および方法

1. 使用動物

体重9~13Kgの雑種成犬を使用した。検索頭数は正常犬の肝臓の検討として10頭、感染群、非感染群の2週間目、1カ月目、3カ月目の各時期において各々4~7頭を使用した。

2. 感染群(胆汁鬱滞兼胆道感染群)の作製法

術前約18時間の絶食後、塩酸ケタミンを12.5mg/kg、硫酸アトロピン0.025mg/kgを筋注して背臥位に固定した。その後、チオペンタールナトリウムを50mgを静注し、経口的に気管カニューレを挿入して酸素・笑気・ミオブロック[®]にて調節呼吸を行った。ついで、上腹部正中切開にて開腹し、図1に示すように肝左葉2区域(left lateral and left central lobes)をドレナージする胆管内に外径1.0mm 節付ビニールチューブ(3 French size アトム静脈カテーテル[®])を

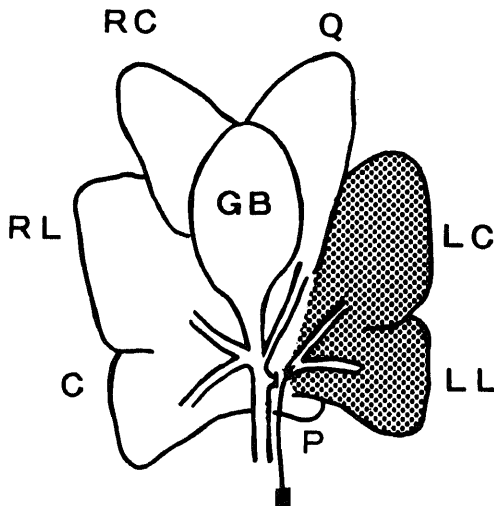


Fig. 1. Schema of the canine liver and operative procedure. LL, left lateral lobe; LC, left central lobe; Q, quadrante lobe; RC, right central lobe; RL, right lateral lobe; C, caudate lobe; P, papillary process; GB, gallbladder. A polyethylene tube is inserted into left lateral two lobes. The shaded area represents the damaged portion by procedure of bacterial injection and obstruction.

肝側に向けて挿入し、これより十二指腸側の胆管は結紮切離した。ついで、このチューブより臨床分離菌株である *Escherichia coli* (*E. coli*) を 10^7 個、*Bacteroides fragilis* (*B. fragilis*) を 10^7 個同時に注入した後、チューブを完全閉塞させて肝左葉2区域の部分肝にのみ胆汁鬱滞ならびに胆道感染の状態を作製したものを感染群とした(図1)。術中の補液として、5-10%グルコース加電解質輸液を500ml、術後の補液として1日1000-1500ml 3日間使用した。また、全手術操作は無菌的に行い、術後抗生物質の投与は行わなかった。術後12時間目以降は自由に水や食餌を摂取させた。なお、細菌の調整は以下のごとく行った。*E. coli* は Cystine Lactose Electrolyte Deficient 寒天培地 (DIFCO LABORATORIES, DETROITE MICHIGAN, USA) に菌を接種後、35°Cで一晩培養し、それを滅菌生理食塩水にて McFarland 1/2 ($1\sim 2 \times 10^8$ 個/ml) の濁度に調整して使用した。*B. fragilis* は Gife Anaerobic Medium 寒天培地(日水、東京)に菌を接種後、35°Cで一晩嫌氣的に培養し、*E. coli* と同様に菌数を調整した。注入時には各菌種の調節液をそれぞれ0.1ml ずつ注入した。

3. 非感染群(胆汁鬱滞群)の作製法

以上の操作で菌を注入しないものを非感染群とした。

II. 検査項目および方法

モデル作製後、2週間目、1カ月目、3カ月目の各時期に屠殺し、摘出肝臓の肝左葉2区域に対して以下の処理を行った後、病理組織学的検索に供した。まず、摘出後直ちに肝臓を70%エタノールで固定し、数日間固定後、組織切片を作製した。組織切片作製に際しては、障害肝のチューブ挿入部位直上より肝門部胆管の長軸に対してできる限り垂直方向に5mm間隔の階段切片を作製した。そして、組織切片を通常通りに脱水・パラフィン包埋し5 μ mの薄切を行い、hematoxylin-eosin (HE) 染色、Azan-Mallory 染色、Elastica van Gieson (EVG) 染色を行った。また、粘液の性状を知るために以下の二種類の粘液組織化学的検査を行った。中性ムチンと酸性ムチンの鑑別のために periodic acid-Schiff/alcian-blue pH2.5 (PAS/AB) 二重染色、シアロムチンとスルホムチンの鑑別のために high iron diamine/alcian-blue pH2.5 (HID/AB) 二重染色を行った。イヌにおいては肝内胆管系の詳細な報告がないため、摘出肝の病理形態像の検討に際しての肝内胆管系の名称については、中沼¹⁰⁾のヒトの肝内胆管系の組織学的分類を参考にして以下のように決定した。すなわち、本研究における大型胆管

(large bile duct) とは、肝門部近くに位置する肝内胆管で、肉眼的に各葉からドレーンされる胆管と識別できる太さの胆管とし、それより末梢の胆管をさらに中型の胆管と小型の胆管に二分した。その際、障害肝においても胆管と走行をともにし、かつあまり太さの異常を示さない肝内構造物として肝動脈枝を基準として両者の胆管の分類・観察を行った¹⁰⁾。なお、動脈径としてはアザン染色および EVG 染色で境界明瞭な中膜外弾性板間の最短径を用いた。正常犬10頭の肝臓の検索より、中型の胆管は動脈の中膜外弾性板間の最短径の平均 $173.4 \pm 39.5 \mu$ の動脈を同一グ鞘内に伴っており、小型の胆管は動脈の中膜外弾性板間の最短径の平均が $55.3 \pm 18.2 \mu$ の動脈を同一グ鞘内に伴っており、これらはそれぞれヒト肝内胆管の隔壁性胆管(septal bile duct)と小葉間胆管(interlobular bile duct)に相当するものと思われる。以上の結果をふまえ、本研究では中膜外弾性板間の最短径が $94.4 \sim 252.2 \mu$ の動脈に伴走する胆管を隔壁性胆管とし、中膜外弾性板間の最短径が $18.9 \sim 91.7 \mu$ の動脈に伴走する胆管を小葉間胆管として取り扱った。

病理組織学的検討に際しては、ヒト肝内結石症でしばしばみられる病理組織学的変化にとくに注目して、以下の項目を検討した。

1. グ鞘内の変化

グ鞘内の変化を、大型胆管、隔壁性胆管、小葉間胆管領域に分けて、それぞれ以下の項目を検討した。

- 1) 胆管壁の輪状線維化の程度
- 2) 胆管上皮の変化および胆管壁内構造物出現の有無

3) 門脈枝の変化

- 4) 炎症細胞浸潤の有無

2. 肝実質の変化

- 1) 肝実質の線維化の有無
- 2) 肝実質の萎縮の有無
- 3) 胆汁栓形成の有無
- 4) 肝膿瘍形成の有無

胆管壁内構造物の名称として、胆管壁内に奥深く管状に入り込み、単一管状腺様の像を呈したものを導管様構造物とし、小腺管が集簇し小葉状構造を形成するに至ったものを小葉構造物として取り扱った。また、病理組織学的検討に際してはできる限り客観性を持たせるために組織学的に計測が可能な項目に関しては、以下の如く定義し検討した。

1) 胆管壁周囲線維化率

胆管上皮を除く粘膜固有層から外膜最外縁までの距離(B)を動脈の中膜外弾性板間最短径(A)で除した値

(B/A)を胆管壁周囲線維化率とした(図2の1)。この比の上昇は胆管壁周囲の輪状の線維化が進んだことを意味する。大型胆管領域では各症例1カ所ずつ、隔壁性胆管領域では各症例3カ所ずつ、小葉間胆管領域では各症例6カ所ずつ求め検討した。

2) 門脈周囲線維化率

門脈壁のうち門脈外膜内縁から線維化最外層までの距離(Pw1)を門脈外膜内縁から縦走筋束最外縁までの距離(Pw2)で除した値(Pw1/Pw2)を門脈周囲線維化率とした(図2の2)。この比の上昇は門脈周囲の輪状の線維化が進んだことを意味する。

3) 門脈内腔率

門脈の最短内径(P)を動脈の中膜外弾性板間最短径(A)で除した値(P/A)を門脈内腔率とした(図2の1)。この比の低下は門脈内腔の狭小化および門脈血流の低下を意味し、増加は門脈の拡張および門脈血流の増加を意味する。

4) 組織学的肝萎縮度

組織学的肝萎縮に関しては、Benzら¹²⁾の方法に従い、顕微鏡中拡大視野下(40倍)で同定できる小葉間胆管領域のグ鞘数をもって評価した。各症例毎無作為に5カ所ずつ求めた。正常肝に比べグ鞘数が増加することは肝葉の萎縮を意味している。

III. 実験成績の統計学的検討

統計学的検討には unpaired t-test を用いて平均値の有意差検定を行い、P値が0.05以下の場合に有意差ありと判定した。なお、成績は Mean \pm S.D. で表わした。

成 績

I. 大型胆管領域のグ鞘内の変化

1) 胆管壁の輪状線維化の程度

正常肝の大型胆管壁は肉眼的に拡張および肥厚はなく、粗な結合織によりわずかに取り囲まれていた。感染群3カ月目では肉眼的に胆管壁の拡張と壁の著明な肥厚を認め、輪状にかつ密な結合織により取り囲まれていた。一方、非感染群3カ月目では胆管の拡張はあるものの、胆管壁を輪状に取り囲む結合織の増生は認められなかった。胆管壁周囲線維化率を経日的に検討すると、感染群の2週間目では 0.15 ± 0.05 、1カ月目では 1.08 ± 0.44 、3カ月目では 1.08 ± 0.43 となり、非感染群ではそれぞれ 0.17 ± 0.04 、 0.21 ± 0.04 、 0.26 ± 0.09 となり、2週間目では胆管壁周囲線維化率に差はなかったが、1カ月目では5%の危険率で、3カ月目では1%の危険率でそれぞれ感染群は非感染群に比べ有意に胆管壁周囲線維化率の上昇を認めた(図2の

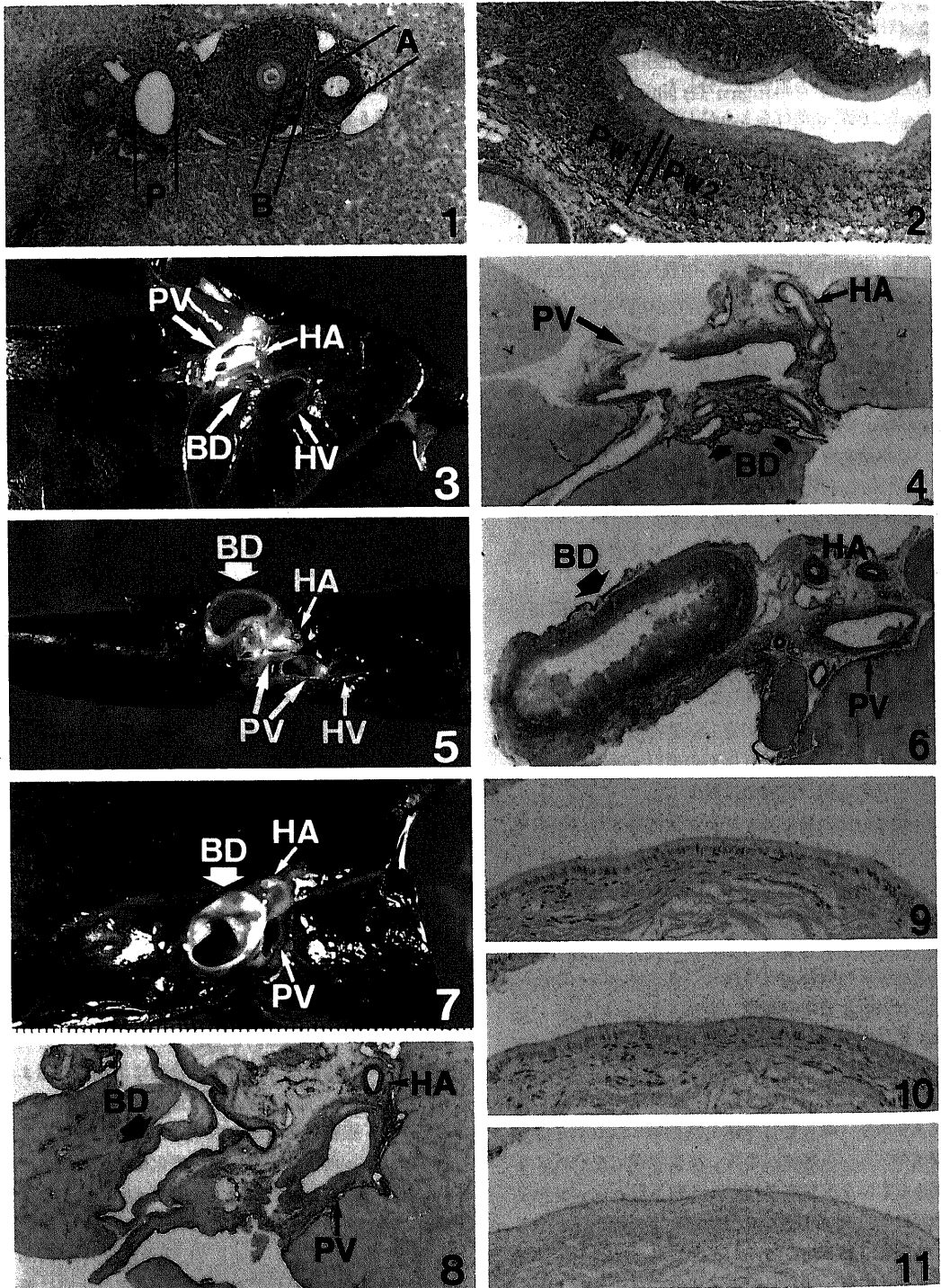


Fig. 2

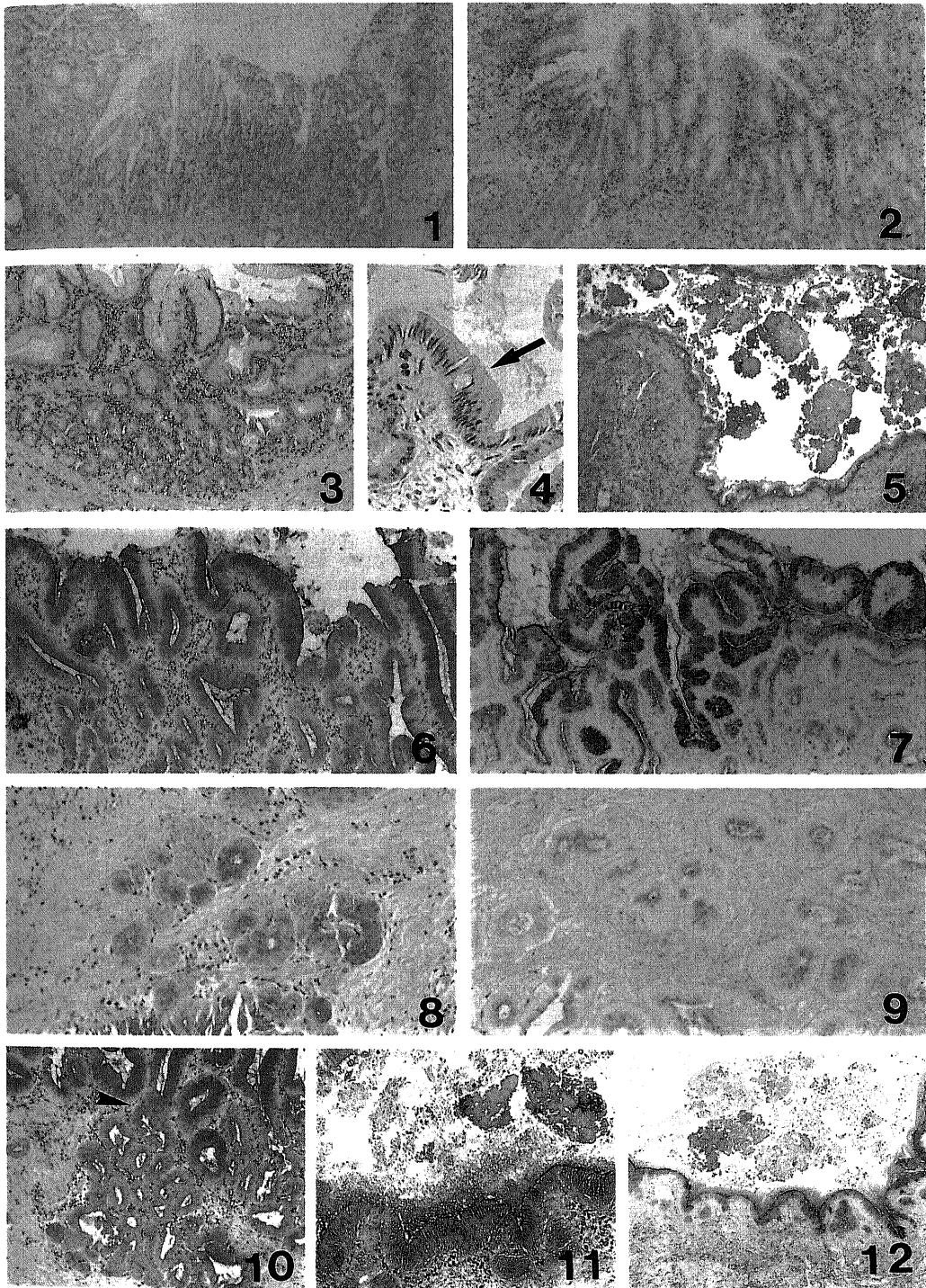


Fig. 4

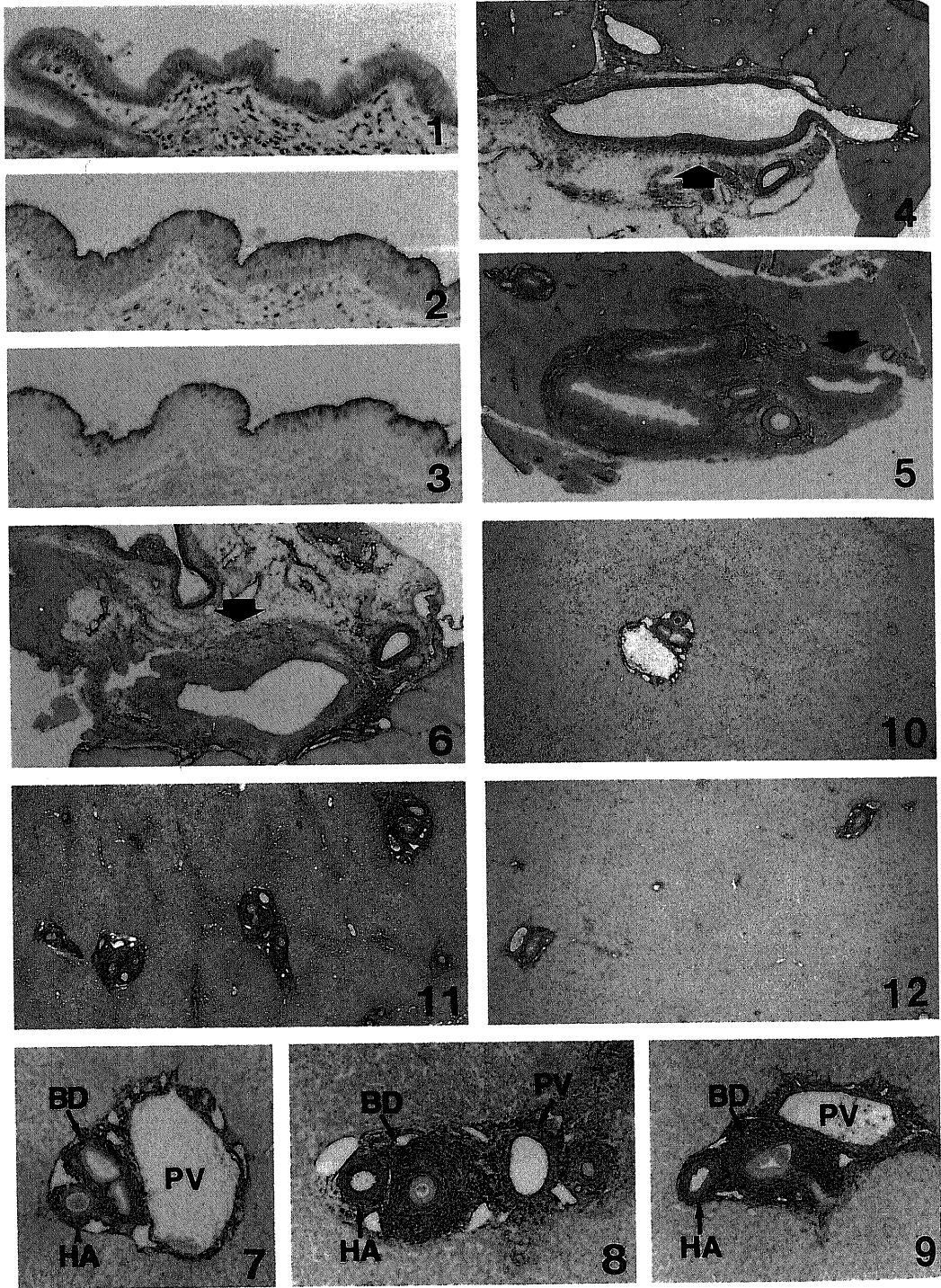


Fig. 5

- Fig. 2. 1. Glisson's capsule at the region of the interlobular bile duct in infective group on the 3rd month after operation. Periductal fibrosis ratio is calculated by B/A and caliber ratio of portal vein is P/A . A, caliber of artery between mediae; B, width from inner side of the lamina propria mucosae to the outer side of the periductal fibrosis; P, internal caliber of portal vein. (Azan-Mallory stain, $\times 100$).
2. Portal vein at the region of the large intrahepatic bile duct in infective group on the 3rd month after operation. Periportal fibrosis ratio is calculated by $Pw1/Pw2$. $Pw1$, width from the inner side of the adventitia to the outer side of the periportal fibrosis; $Pw2$, width from the inner side of the adventitia to the outer side of the external longitudinal muscle. (Azan-Mallory stain, $\times 1$).
3. A cross section at the region of the large intrahepatic bile duct in the normal liver. The lumen of the bile duct is not dilated and the wall is not thickened. BD, bile duct; HA, hepatic artery; HV, hepatic vein; PV, portal vein.
4. Low power view of a cross section at the region of the large intrahepatic bile duct in the normal liver. The wall of the bile duct is not associated with periductal fibrosis. BD, HA & PV, refer to Fig. 2-3. (Azan-Mallory stain, $\times 1$).
5. A cross section at the region of the large intrahepatic bile duct in infective group on the 3rd month after operation. The lumen of the bile duct is dilated and the wall is thickened. BD, HA, HV & PV, refer to Fig. 2-3.
6. Low power view of a cross section at the region of the large intrahepatic bile duct in infective group on the 3rd month after operation. The wall is associated with periductal concentric laminar fibrosis. BD, HA & PV, refer to Fig. 2-3. (Azan-Mallory stain, $\times 1$).
7. A cross section at the region of the large intrahepatic bile duct in non-infective group on the 3rd month after operation. The lumen of the bile duct is dilated but the wall is not thickened. BD, HA & PV, refer to Fig. 2-3.
8. Low power view of a cross section at the region of the large intrahepatic bile duct in non-infective group on the 3rd month after operation. The wall is not associated with periductal fibrosis. BD, HA & PV, refer to Fig. 2-3. (Azan-Mallory stain, $\times 1$).
9. Surface epithelia of the large intrahepatic bile duct in the normal liver. The epithelia are single and low columnar in shape with dark cytoplasm. Definite papillary projection, and formation of ductular and lobular structures is not recognized. (HE stain, $\times 200$).
10. Surface epithelia of the large intrahepatic bile duct in the normal liver. A little amount of PAS-positive neutral and AB-positive acid mucin are demonstrated on the luminal border of the surface epithelia. (PAS/AB stain, $\times 200$).
11. Surface epithelia of the large intrahepatic bile duct in the normal liver. A little amount of HID-positive sulphomucin and HID-negative sialomucin are demonstrated on the luminal border of the surface epithelia. (HID/AB stain, $\times 200$).

- Fig. 4. 1. Surface epithelia of the large intrahepatic bile duct in infective group on the 3rd month after operation. Striking papillary projection is recognized. (HE stain, $\times 40$).
2. Surface epithelia of the large intrahepatic bile duct in infective group on the 3rd month after operation. The epithelia are high columnar in shape with clear cytoplasm and nuclei in basal position. Papillary projection and formation of ductular structures is recognized. (HE stain, $\times 100$).
3. Intramural lobular structures in infective group on the 3rd month after operation. (HE stain, $\times 100$).
4. A goblet cell (\rightarrow) in the surface epithelia in infective group on the 3rd month after operation. (HE stain, $\times 200$).
5. Bilirubin intertwined with mucinous material in the large intrahepatic bile duct in infective group on the 3rd month after operation. (HE stain, $\times 40$).
6. Surface epithelia and ductular structures of the large intrahepatic bile duct in infective group on the 3rd month after operation. A large amount of PAS-positive neutral and AB-positive acid mucin are observed in the whole cytoplasm of surface epithelia and ductular structures. (PAS/AB stain, $\times 100$).
7. Surface epithelia and ductular structures of the large intrahepatic bile duct in infective group on the 3rd month after operation. A large amount of HID-positive sulphomucin and HID-negative sialomucin are demonstrated in the whole cytoplasm of surface epithelia and ductular structures. (HID/AB stain, $\times 100$).

8. Intramural lobular structures in infective group on the 3rd month after operation. Moderately amount of PAS-positive neutral and AB-positive acid mucin are observed in the supranuclear cytoplasm. (PAS/AB stain, $\times 200$).
9. Intramural lobular structures in infective group on the 3rd month after operation. Moderately amount of HID-positive sulphomucin and HID-negative sialomucin are found in the supranuclear cytoplasm. (HID/AB stain, $\times 200$).
10. The junction (\blacktriangleleft) between ductular and lobular structures in infective group on the 3rd month after operation. Note the change of staining between these structures. (PAS/AB stain, $\times 100$).
11. PAS-positive neutral and AB-positive acid mucin are found in the large intrahepatic bile duct in infective group on the 3rd month after operation. It appears as a band of neutral and acid mucin. (PAS/AB stain, $\times 200$).
12. HID-positive sulphomucin and HID-negative sialomucin are found in the large intrahepatic bile duct in infective group on the 3rd month after operation. It appears as a band of sulphomucin and sialomucin. (HID/AB stain, $\times 200$).

- Fig. 5. 1. Surface epithelia of the large intrahepatic bile duct in non-infective group on the 3rd month after operation. The epithelia are mediumsized columnar in shape with slightly clear cytoplasm. Definite papillary projection, and formation of ductular and lobular structures are not recognized. (HE stain, $\times 200$).
2. Surface epithelia of the large intrahepatic bile duct in non-infective group on the 3rd month after operation. Moderately amount of PAS-positive neutral and AB-positive acid mucin are observed in the luminal border of surface epithelia. (PAS/AB stain, $\times 200$).
 3. Surface epithelia of the large intrahepatic bile duct in non-infective group on the 3rd month after operation. Moderately amount of HID-positive sulphomucin and a little amount of HID-negative sialomucin are found in the luminal border of surface epithelia. (HID/AB stain, $\times 200$).
 4. Mild periportal fibrosis (\rightarrow) at the region of the large intrahepatic bile duct in the normal liver. (Azan-Mallory stain, $\times 40$).
 5. Striking periportal fibrosis (\rightarrow) at the region of the large intrahepatic bile duct in infective group on the 3rd month after operation. (Azan-Mallory stain, $\times 1$).
 6. Mild periportal fibrosis (\rightarrow) at the region of the large intrahepatic bile duct in non-infective group on the 3rd month after operation. (Azan-Mallory stain, $\times 1$).
 7. Glisson's capsule at the region of the interlobular bile duct in the normal liver. The wall of the bile duct is not associated with periductal fibrosis. BD, HA & PV, refer to Fig. 2-3. (Azan-Mallory stain, $\times 100$).
 8. Glisson's capsule at the region of the interlobular bile duct in infective group on the 3rd month after operation. The wall of the bile duct is associated with striking periductal concentric laminar fibrosis, but not with papillary projection and ductular structures. The caliber ratio of the portal vein is much smaller than that in the normal liver. BD, HA & PV, refer to Fig. 2-3. (Azan-Mallory stain, $\times 100$).
 9. Glisson's capsule at the region of the interlobular bile duct in non-infective group on the 3rd month after operation. The wall of the bile duct is associated with mild periductal concentric laminar fibrosis, but not with papillary projection and ductular structures. The caliber ratio of the portal vein is much smaller than that in the normal liver, but not so small as that in infective group on the 3rd month after operation. BD, HA & PV, refer to Fig. 2-3. (Azan-Mallory stain, $\times 100$).
 10. Hepatic parenchyma in the normal liver. (Azan-Mallory stain, $\times 40$).
 11. Hepatic parenchyma in infective group on the 3rd month after operation. There is a remarkable hepatic atrophy with little biliary cirrhosis, bile plug and abscess. (Azan-Mallory stain, $\times 40$).
 12. Hepatic parenchyma in non-infective group on the 3rd month after operation. There is a mild hepatic atrophy with little biliary cirrhosis, bile plug and abscess. (Azan-Mallory stain, $\times 40$).

3~8, 図3).

2) 胆管上皮の変化および胆管壁内構造物出現の有無

正常肝10例の検討では、胆管上皮は胆管内腔に乳頭状に突出したり壁内に入り込み導管様構造物を形成した部位はなく、小葉構造物も検索した範囲内では認められなかった。すなわち、イヌの正常肝では大型胆管周囲にはヒト正常肝で認められるような壁内腺および壁外腺は検索した範囲内では認められなかった。また、大型胆管の胆管上皮の細胞形態は単層の低円柱上皮よりなっていた。胆管内腔には組織学的に粘液は認められなかった(図2の9, 表1~3)。

正常肝の大型胆管の粘液組織化学的染色の結果の概要を表4に示す。胆管上皮はPAS/AB二重染色では内腔縁が弱く青色および赤色に染色された。HID/AB二重染色では内腔縁が弱く褐色および青色に染色されるのみであったが、その中でも褐色の方がより強く染色され青色はごく僅かにしか染色されなかった(図2の10, 11, 表4)。

感染群の胆管上皮の構造の経日的変化では、1カ月目より軽度から中等度の乳頭状変化や導管様構造物の

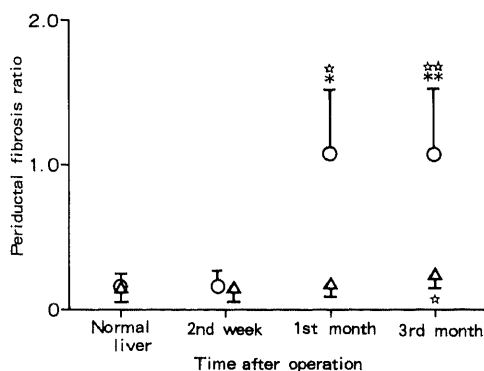


Fig. 3. Changes of periductal fibrosis ratio of the large bile duct in the normal liver and two experimental groups. ○, normal liver (n=10); ○, infective group (2nd week, n=6; 1st month, n=4; 3rd month, n=7); △, non-infective group (2nd week, n=5; 1st month, n=6; 3rd month, n=5). Each value represents the mean±S. D. in four to ten dogs. *, p<0.05 compared to non-infective group; **, p<0.01 compared to non-infective group; ☆, p<0.05 compared to normal liver; ☆☆, p<0.01 compared to normal liver.

Table 1. Changes of large bile duct epithelia and intraductal contents in the normal liver and two experimental groups

Time after operation	Infective group		Non-infective group	
	Papillary projection and/or ductular str.	Lobular str.	Papillary projection and/or ductular str.	Lobular str.
Normal liver	(-) (10)	(-)	(-) (10)	(-)
2nd week	(-)~(±) (6)	(-)	(-) (5)	(-)
1st month	(±)~(+) (4)	(-)~(±)	(-) (6)	(-)
3rd month	(+)~(+) (7)	(±)~(+) (7)	(-) (5)	(-)

Abbreviations and codes are as follows: str., structure; (-), no change compared with normal surface epithelia; (±), slight; (+), moderate; (+), strong. Figures in parenthesis indicate the number of dogs studied at each interval.

Table 2. Changes of the epithelial height and cytoplasmic lightness of surface epithelium of the normal liver and two experimental groups

Time after operation	Infective group		Non-infective group	
	Height	Lightness	Height	Lightness
Normal liver	(-) (10)	(-)	(-) (10)	(-)
2nd week	(±)~(+) (6)	(±)~(+) (6)	(-)~(±) (5)	(-)
1st month	(+)~(+) (4)	(+)~(+) (4)	(-)~(±) (6)	(-)~(±)
3rd month	(+)~(+) (7)	(+)~(+) (7)	(-)~(±) (5)	(-)~(±)

Codes are as follows: (-), no change compared with the normal surface epithelial cells; (±), slight; (+), moderate; (+), strong. Figures in parenthesis indicate the number of dogs studied at each interval.

出現が認められるようになり、3カ月目ではさらに著明となり中等度から高度の変化を示すようになった(図4の1, 2, 表1)。また、1カ月目の4例中1例では肥厚した胆管壁内に小葉構造物の出現を中等度認めるのみであったが、3カ月目になると7例中4例は高度の小葉構造物の出現を認めた。この小葉構造物の出現の程度は各症例とも胆管上皮の乳頭状変化や導管様構造物出現の程度とほぼ比例して、大部分は導管様構造物の最深部に位置していることが多かった(図4の3, 表1)。胆管上皮の細胞形態の経日的変化では、2週間目ですでに正常胆管上皮の細胞に比べは軽度から中等度に高くなり、胞体は軽度から中等度に明るくなり、胞体内に粘液が貯留し始めているのが観察された。さらに、1カ月目、3カ月目になると胆管上皮の丈は中等度から高度に高くなり高円柱上皮が単層お

よび一部では多層化を示すようになった。また、胞体も中等度から高度に明るくなり、胞体内の豊富な粘液のために核は基底側に圧排されていた(図4の1, 2, 表2)。また、感染群の一部の胆管上皮には杯細胞化生を示す所見も認められた(図4の4)。これら増殖性変化の程度に比例して組織学的に胆管腔内にも粘液が観察されるようになった。すなわち、2週間目、1カ月目では胆管腔内に粘液はほとんど認められないが、3カ月目では種々の程度に粘液が観察されるようになり、7例中2例は高度に、2例は中等度に粘液が観察された。なかでも、3カ月目で高度に認められた1例では、胆管腔内の豊富な粘液と絡み合うようにビリンの析出する像が観察されたが、いまだ層状構造を形成するまでには至っていなかった(図4の5, 表3)。

Table 3. Changes of the appearance of mucin gel in the large bile duct in the normal liver and two experimental groups

Time after operation	Infective group	Non-infective group
Normal liver	(-) (10)	(-) (10)
2nd week	(-)~(±) (6)	(-) (5)
1st month	(-)~(±) (4)	(-) (6)
3rd month	(±)~(+) (7)	(-) (5)

Codes are as follows: (-), mucin gel is not visible; (±), slight; (+), moderate; (H), strong. Figures in parenthesis indicate the number of dogs studied at each interval.

Table 4. Changes of reaction patterns of large bile duct epithelia to PAS/AB and HID/AB staining methods in the normal liver and infective group

Time after operation	PAS/AB staining method		HID/AB staining method	
	Blue	Magenta	Brown	Blue
Normal liver (L)	△△△△△△	△△△△△△△△	△△△△△△△△	△△△△△△△△
(S)				
(W)				
2nd week (L)	△○○◎	△◎◎	△△△○○	△△△△○
(S)	○○	△○○	◎	◎
(W)				
1st month (L)	○	△◎	△	△
(S)	△○○	○○	△△○	△○○
(W)				
3rd month (L)	○○	○○	○○	△○
(S)	○○○◎	○○○◎	○○◎◎	△○◎◎
(W)	◎	◎	◎	◎

Abbreviations and codes are as follows: L, luminal border; S, supranuclear cytoplasm; W, whole cytoplasm; △, slight; ○, moderate; ◎, strong. Each symbol represents a case studied.

感染群の大型胆管の粘液組織化学的染色の結果の概要を表4, 5, 6に示す。なお、胆管腔内に乳頭状に突出した部位および胆管壁内に深く導管様に入り込んだ部位の染色性は基本的に同じであるため、一括して胆管上皮の変化として取り扱った。胆管上皮の経日的な染色性の変化では、2週間目のPAS/AB二重染色では多くは内腔縁が青色および赤色に染色され、一部では核上部細胞質も中等度に染色された。HID/AB

二重染色では6例中5例は内腔縁のみが軽度から中等度に褐色および青色に染色された。1カ月目のPAS/AB二重染色では4例中3例は核上部細胞質が軽度から中等度に青色および赤色に染色され、HID/AB二重染色でも核上部細胞質が褐色および青色に染色された。さらに、3カ月目になるとPAS/AB二重染色では核上部細胞質が中等度から高度に染色され、HID/AB二重染色でも核上部細胞質が中等度から高度に染

Table 5. Changes of reaction patterns of lobular structure of the large bile duct to PAS/AB and HID/AB staining methods in the normal liver and infective group

Time after operation	PAS/AB staining method		HID/AB staining method		
	Blue	Magenta	Brown	Blue	
Normal liver	(-)	××××××	××××××	××××××	××××××
	(L)	××××	××××	××××	××××
	(S)				
	(W)				
2nd week	(-)	××××××	××××××	××××××	××××××
	(L)				
	(S)				
	(W)				
1st month	(-)	×××	×××	×××	×××
	(L)				
	(S)	△	○	○	○
	(W)				
3rd month	(-)	×	×	×	×
	(L)	△○	○	△○	△○
	(S)	△○○○	○○○○○	○○△△	△○○○
	(W)				

Abbreviations and codes are as follows: -, lobular structure is not visible; L, luminal border; S, supra-nuclear cytoplasm; W, whole cytoplasm; ×, case of no definite lobular structure; △, slight; ○, moderate; ◎, strong. Each symbol represents a case studied.

Table 6. Changes of reaction patterns of mucin gen in the large bile duct to PAS/AB and HID/AB staining methods in the normal liver and infective group

Time after operation	PAS/AB staining method		HID/AB staining method	
	Blue	Magenta	Brown	Blue
Normal liver	××××××	××××××	××××××	××××××
2nd week	×××××△	×××××△	×××××△	×××××△
1st month	×××○	×××○	×××△	×××△
3rd month	×△△○○◎	×△△△○◎	×△△○○○	×△△△○◎

Codes are as follows: ×, case of no definite mucin; △, slight; ○, moderate; ◎, strong. Each symbol represents a case studied.

色される症例の増加が認められた。また、7例中1例はPAS/AB二重染色で細胞質全体が強く赤色および青色に染色され、HID/AB二重染色でも同じく細胞質全体が強く褐色および青色に染色された。これら感染群のHID/AB二重染色では、同一標本の中でも乳頭状変化や導管様構造物出現の著しい部位では青色が褐色よりも強く染色される傾向が認められた。以上の結果より、胆管表層上皮の細胞質内には経日的に中性ムチン、スルホムチン、シアロムチンの粘液含量が増加するが、とくに乳頭状変化や導管様構造物出現の著しい部位では正常胆管ではごく僅かしか認められないシアロムチンの増加が認められた(図4の6, 7, 表4)。胆管壁内小葉構造物の経日的染色性の変化については、小葉構造物が認められるようになった1カ月目のPAS/AB二重染色では1例のみ内腔縁が中等度に赤色から青色に染色され、HID/AB二重染色でも内腔縁が褐色および青色に中等度に染色された。しかし、3カ月目になるとPAS/AB二重染色では7例中4例は核上部細胞質が青色に、5例は赤色に軽度から中等度に染色されるようになった。HID/AB二重染色でも7例中4例の核上皮細胞質が軽度から中等度に褐色および青色に染色されるようになった。さらに導管様構造物の細胞質全体が高度に赤色から青色に染色された1例での小葉構造物の染色性は、核上部細胞質が中等度に染色され、両者の染色性の変化する移行部が観察された(図4の8~10, 表5)。組織学的に胆管内に粘液の認められた症例での粘液の染色性は、

PAS/AB二重染色では2週間目では胆管上皮に絡まる粘液が赤色および青色に軽度に染色され、1カ月目では中等度に染色された。3カ月目では種々の程度に染色され、とくに7例中2例は高度に染色された。HID/AB染色で2週間目、1カ月目では軽度に褐色および青色に染色されたが、3カ月目では種々の程度に染色された。これら粘液の染色性は胆管上皮や胆管壁内構造物の粘液の染色性の程度とほぼ平行して高度となった(図4の11, 12, 表6)。

非感染群の胆管上皮の構造および壁内構造物出現の有無の経日的変化では、上皮の乳頭状変化やはっきりした導管様構造物、小葉構造物の出現は全く認められなかった(表1)。また、非感染群の胆管上皮の細胞形態の経日的変化では2週間目、1カ月目、3カ月目ともわずかに高さや明るさの増加する症例も認められたが、大部分は正常胆管上皮とほぼ同様の単層の立方上皮からなっていた(表2)。胆管内腔には組織学的に粘液は認められなかった(図5の1, 表3)。

非感染群の大型胆管の粘液組織化学的染色の結果の概要を表7に示す。胆管上皮の経日的染色性の変化では、PAS/AB二重染色では2週間目、1カ月目、3カ月目とも大部分が内腔縁のみが軽度に赤色および青色に染色されるのみであった。HID/AB二重染色でも2週間目、1カ月目、3カ月目ともに大部分が内腔縁のみが軽度に褐色および青色に染色されるのみであった(図5の2, 3, 表7)。

3) 門脈枝の変化

Table 7. Changes of reaction patterns of large bile duct epithelia to PAS/AB and HID/AB staining methods in the normal liver and non-infective group

Time after operation	PAS/AB staining method		HID/AB staining method		
	Blue	Magenta	Brown	Blue	
Normal liver	(L)	△△△△△△	△△△△△△△	△△△△△△△	△△△△△△△
	(S)	△△△△	△△△△	△△△△	△△△△
	(W)				
2nd week	(L)	△△△△△	△△△△△	△△△○	△△△△△
	(S)				
	(W)				
1st month	(L)	△△△△△○	△△△△○○	△△△△○○	△△△△△○
	(S)				
	(W)				
3rd month	(L)	△△△△	△△△△	△△△○	△△△△△
	(S)	△	△	○	
	(W)				

Abbreviations and codes are as follows: L, luminal border; S, supranuclear cytoplasm; W, whole cytoplasm; △, slight; ○, moderate; ◎, strong. Each symbol represents a case studied.

大型胆管領域の門脈の内膜や中膜筋層は、正常肝に比べ感染群、非感染群では軽度の肥厚は認められたが、感染群に特徴的な所見は認められなかった。また、両群とも門脈内腔に血栓形成の所見は認められなかった。大型胆管領域の門脈の外膜には縦走筋束が発達しており、それを取り巻くように粗な膠原線維が認められるが、正常肝ではこの門脈周囲線維化はごく僅かであり、縦走筋束を越える線維化はほとんど認められなかった(図5の4)。これに対して、感染群では胆管炎の波及による二次的なグ鞘内の炎症の結果、同部位の結合織の増加が著明となり、それと同時に門脈周囲にも結合織の密度が増加し、門脈を輪状に取り巻く線維化の程度が高度となる像が観察された(図5の5)。非感染群では3カ月目でもグ鞘内の結合織および門脈周囲の結合織の増加は認められなかった(図5

の6)。門脈周囲線維化率で経日的変化を検討すると、正常肝では 1.09 ± 0.11 であるが、感染群の2週間目では 1.27 ± 0.13 、1カ月目では 1.74 ± 0.39 、3カ月目では 2.13 ± 1.11 であり、非感染群ではそれぞれ 1.16 ± 0.06 、 1.17 ± 0.12 、 1.28 ± 0.13 であった。両群間に有意差は認められないが、感染群では正常肝に比べ経日的に有意($p < 0.05$)に門脈周囲線維化率の増加する傾向が認められた(図6)。

4) 炎症性細胞浸潤の有無

正常肝の大型胆管周囲には炎症性細胞浸潤はほとんど認められなかった。感染群の2週間目では軽度から中等度の好中球およびリンパ球浸潤が認められ、1カ月目では好中球およびリンパ球浸潤がより高度になった。3カ月目ではリンパ球および形質細胞の浸潤が高度になる傾向がみられたが、それと同時に好中球浸潤

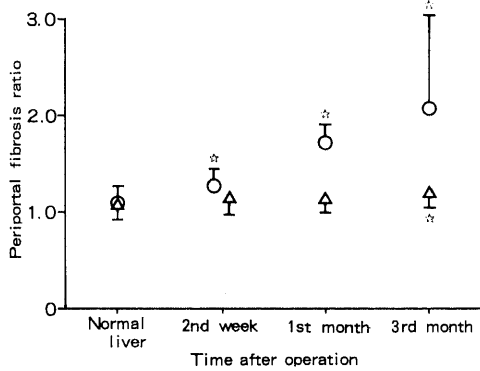


Fig. 6. Changes of periportal fibrosis ratio at the region of the large bile duct in the normal liver and two experimental groups. (△), normal liver; (○), infective group; (△), non-infective group. Refer the number of dogs studied at each interval of two groups to Fig. 3. Each value represents the mean \pm S. D. in four to ten dogs. ☆, refer to Fig. 3.

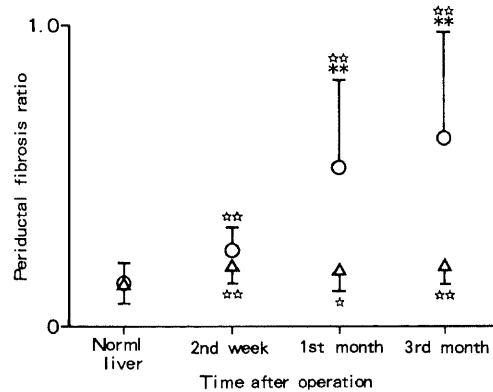


Fig. 7. Changes of periductal fibrosis ratio of the septal bile duct in the normal liver and in two experimental groups. (△), normal liver; (○), infective group; (△), non-infective group. Refer the number of dogs studied at each interval of two groups to Fig. 3. Each value represents the mean \pm S. D. in four to ten dogs. **, ☆ & ☆☆, refer to Fig. 3.

Table 8. Changes of the degree of inflammatory cell infiltration at the region of the large bile duct in the normal liver and two experiment groups

Time after operation	Infective group			Non-infective group		
	Neutro.	Lympho.	Plasma.	Neutro.	Lympho.	Plasma.
Normal liver	(±)	(±)	(±) (10)	(±)	(±)	(±) (10)
2nd week	(±)~(+)	(±)~(+)	(±) (6)	(±)	(±)	(±) (5)
1st month	(±)~(+)	(+)	(±) (4)	(±)~(+)	(±)~(+)	(±) (6)
3rd month	(+)~(+)	(±)~(+)	(±)~(+)	(±)~(+)	(±)~(+)	(±)~(+)

Abbreviations and codes are as follows: neutro., neutrophil; lympho., lymphocyte; plasma., plasma cell; (±), slight; (+), moderate; (H), strong. Figures in parenthesis indicate the number of dogs studied at each interval.

も高度となる傾向もみられ、慢性炎症の中に急性炎症が繰り返されていることが推察された。非感染群では全観察期間を通じて炎症性細胞浸潤の程度は軽度であった(図2の9、図4の1、3、図5の1、表8)。

2. 隔壁性胆管領域のグ翰内の変化

1) 胆管壁の輪状線維化の程度

感染群で正常肝に比べ経日的に胆管を密に取り巻く輪状の線維化が認められたのに対して、非感染群では粗で浮腫状であった。胆管壁周囲線維化率の経日的な変化では、正常肝が 0.15 ± 0.16 であるのに対して、感染群の2週間目では 0.27 ± 0.10 、1カ月目では 0.54 ± 0.26 、3カ月目では 0.63 ± 0.33 であり、非感染群ではそれぞれ 0.21 ± 0.08 、 0.21 ± 0.10 、 0.21 ± 0.07 であった。正常肝に比べ両群とも2週間目以降有意な胆管壁周囲線維化率の増加が認められた。さらに、感染群では非感染群に比べ1カ月目、3カ月目において有意($p < 0.01$)に胆管壁周囲線維化率の増加が認められた(図7)。

2) 胆管上皮の変化および胆管壁内構造物出現の有無

両群とも正常肝と同様に乳頭状変化や導管様構造物等の増殖性変化を認めず、感染群に特徴的な所見は認められなかった。

3) 門脈枝の変化

門脈周囲の線維化は両群とも正常肝とほぼ同様の程度であった。しかしながら、両群とも正常肝に比べ門

脈内腔の狭小化を認めた。門脈内腔率の経日的変化では、正常肝が 3.36 ± 1.03 であるのに対して、感染群の2週間目では 1.95 ± 0.39 、1カ月目では 2.03 ± 0.88 、3カ月目では 1.23 ± 0.73 であり、非感染群ではそれぞれ 2.21 ± 0.63 、 2.29 ± 0.81 、 2.20 ± 0.87 であった。両群とも1カ月目までは同様の傾向で門脈内腔の狭小化が認められ両群間に有意差は認められなかった。しかしながら、非感染群では3カ月目は2週間目、1カ月目とほぼ同じ門脈内腔率のままであるのに対して、感染群では3カ月目でさらに門脈内腔率の低下を認め、3カ月非感染群に比べ有意($p < 0.01$)に低下した(図8)。

4) 炎症性細胞浸潤の有無

正常肝のグ翰内には炎症性細胞浸潤はほとんど認められなかった。感染群のグ翰内では大型胆管領域とほぼ同様の傾向がみられ、3カ月目でも中等度から高度のリンパ球および形質細胞の浸潤とともに、好中球の浸潤も中等度から高度に認められた。非感染群のグ翰内では全観察期間を通じて炎症性細胞浸潤の程度は軽度であった。

3. 小葉間胆管領域のグ翰内の変化

1) 胆管壁の輪状線維化の程度

感染群では正常肝に比べ経日的に胆管を密に取り巻く輪状の線維化が認められたのに対して、非感染群では粗で浮腫状であった。胆管周囲線維化率の経日的な変化では、正常肝が 0.19 ± 0.06 であるのに対して、感染群の2週間目では 0.28 ± 0.10 、1カ月目では $0.47 \pm$

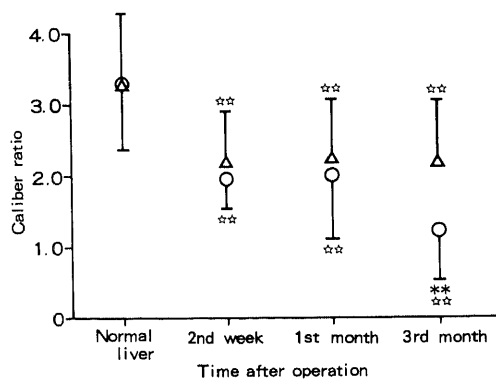


Fig. 8. Changes of caliber ratio of portal vein at the region of the septal bile duct in the normal liver and two experimental groups. ○, normal liver; ○, infective group; △, non-infective group. Refer the number of dogs studied at each interval of two groups to Fig. 3. Each value represents the mean \pm S. D. in four to ten dogs. ** & ☆☆, refer to Fig. 3.

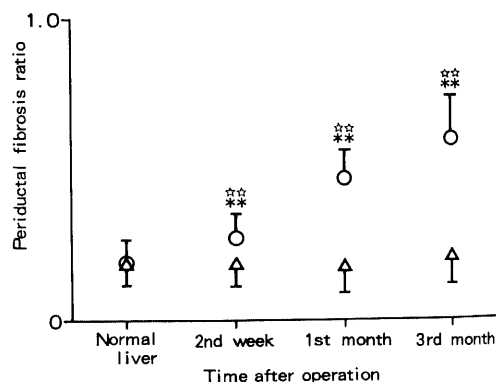


Fig. 9. Changes of preductal fibrosis ratio of the interlobular bile duct in the normal liver and two experimental groups. ○, normal liver; ○, infective group; △, non-infective group. Refer the number of dogs studied at each interval of two groups to Fig. 3. Each value represents the mean \pm S. D. in four to ten dogs. ** & ☆☆☆, refer to Fig. 3.

0.15, 3カ月目では 0.60 ± 0.25 であり, 非感染群ではそれぞれ 0.20 ± 0.07 , 0.19 ± 0.10 , 0.22 ± 0.10 であった. 感染群では正常肝および非感染群に比べ2週間目以降有意 ($p < 0.01$) に胆管壁周囲線維化率の増加を認めた. 非感染群は全観察期間を通じて正常肝との間に胆管壁周囲線維化率に有意差を認めなかった (図5の7~9, 図9).

2) 胆管上皮の変化および胆管壁内構造物出現の有無

両群とも正常肝と同様に乳頭状変化や導管様構造物等の増殖性変化を認めず, 感染群に特徴的な所見は認められなかった.

3) 門脈枝の変化

門脈周囲の線維化は両群とも正常肝とほぼ同様の程度であった. 門脈内腔率の経日的変化では, 正常肝が 2.78 ± 1.03 であるのに対して, 感染群の2週間目では 1.85 ± 0.50 , 1カ月目では 1.74 ± 0.92 , 3カ月目では 0.88 ± 0.74 であり, 非感染群ではそれぞれ 1.83 ± 0.50 , 1.89 ± 0.67 , 1.87 ± 0.88 であった. これらの変化は, 隔壁性胆管領域の変化と同様に正常肝に比べ両群とも1カ月目までは同様の傾向で門脈内腔の狭小化が認められ, 両群間に有意差は認められなかった. しかしながら, 3カ月目では非感染群は2週間目, 1カ月目とほぼ同じ門脈内腔率のままであるのに対して,

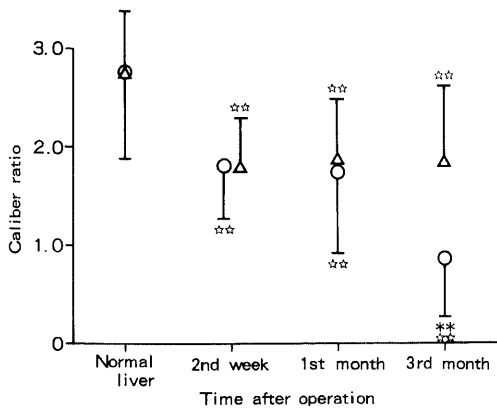


Fig. 10. Changes of caliber ratio of portal vein at the region of the interlobular bile duct in the normal liver and two experimental groups. ○, normal liver; ○, infective group; △, non-infective group. Refer the number of dogs studied at each interval of two groups to Fig. 3. Each value represents the mean \pm S. D. in four to ten dogs. ** & ☆☆, refer to Fig. 3.

感染群は3カ月目でさらに門脈内腔率の低下を認め, 3カ月非感染群に比べ有意 ($p < 0.01$) に低下した (図5の7~9, 図10).

4) 炎症性細胞浸潤の有無

正常肝のグ鞣内には炎症性細胞浸潤はほとんど認められなかった. 感染群のグ鞣内の炎症性細胞浸潤は大型胆管, 隔壁性胆管領域とほぼ同様の傾向がみられ, 3カ月でも中等度から高度のリンパ球および形質細胞の浸潤とともに好中球の浸潤も中等度から高度に認められた. 非感染群のグ鞣内では全観察期間を通じて炎症性細胞浸潤の程度は軽度であった (図5の7~9).

4. 肝実質の変化

1) 肝実質の線維化の有無

両群とも全観察期間を通じて大部分の症例は線維化がグ鞣内に限局した軽度のものであり, 肝硬変でみられるような再生結節や線維化はほとんど認められなかった. 今回作製した全症例のうち門脈域・門脈域結合や門脈域・中心静脈域結合の多発した高度線維化例は, 感染群, 非感染群とも3カ月経過例でそれぞれ1例のみであった.

2) 肝実質の萎縮の有無

両群とも全観察期間を通じて, 肝細胞の脱落・萎縮による肝葉の萎縮が認められ, 組織学的に1視野当たりのグ鞣の数の増加が認められた. 組織学的肝萎縮度の経日的変化をみると, 正常肝では1視野当たりのグ鞣数は 1.92 ± 1.05 個であるが, 感染群の2週間目では 3.53 ± 0.82 , 1カ月目では 5.84 ± 2.19 , 3カ月目では

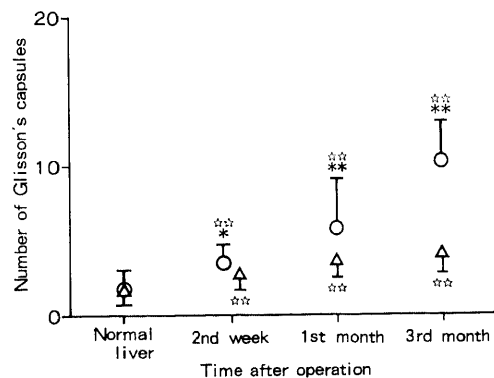


Fig. 11. Changes of histological liver atrophy rate in the normal liver and two experimental groups. ○, normal liver; ○, infective group; △, non-infective group. Refer the number of dogs studied at each interval of two groups to Fig. 3. Each value represents the mean \pm S. D. in four to ten dogs. *, ** & ☆☆☆, refer to Fig. 3.

10.5±3.48であり、非感染群ではそれぞれ 2.97±1.00, 3.97±1.08, 4.46±1.24であった。両群とも正常肝に比べ経日的に有意 ($p<0.01$) にグ鞘数が増加し肝萎縮が進行していくことが示されたが、感染群では非感染群に比べ2週間目では5%の危険率で、1カ月目以降では1%の危険率で有意にグ鞘数が増加し肝萎縮が進行していくことが示された(図5の10~12, 図11)。

3) 胆汁栓形成の有無

胆汁栓形成に関しても肝実質の線維化と同様に、大部分の症例でごく僅かに胆汁栓形成を認めるのみであった。

4) 肝膿瘍形成の有無

今回のモデルのうち組織学的に肝実質に肝膿瘍が確認できた症例は感染群のうち4例あるが、いずれも肝実質に僅かに存在するのみで、著明な肝膿瘍の形成を認めた症例は1例もなかった。

考 察

肝内結石症の病態や成因解明を目的として、これまでに臨床材料を用いて病理組織学的検討¹⁾⁻³⁾、胆汁成分の検討⁴⁾、細菌学的検討⁵⁾、生化学的検討⁷⁾などが行われてきた。とくに近年、片葉あるいは垂区域に限局して認められる肝内型肝内結石症の治療に肝切除術が積極的に行われるようになり、新鮮な外科的切除肝を用いて病理形態学的な面から肝内結石症の病態を解明しようとする試みが盛んになされてきた¹⁾⁻³⁾。その結果、ヒト肝内結石症では慢性増殖性胆管炎の病理組織像が高頻度に観察されており、この病理組織像と肝内結石症の成因との関係が注目されている¹⁾⁻³⁾。しかしながら、臨床材料のみの検討ではこれらの病態が肝内結石症の原因であるのか、結石が形成されたための二次的な変化なのか判然としない。そのため実験的に肝内結石症のモデルを作製して検討することが急務であると考えられてきた。佐々木ら⁸⁾は雑種成犬の肝左葉外側区域に胆管径と同じ内径のシリコンチューブを挿入し、その他端を十二指腸へ誘導することで胆汁鬱滞と十二指腸からの上行性感染を惹起させる実験モデルを作製した。その結果、25頭中2頭に結石が認められたとしているが、赤外線吸収スペクトラムで結石を分析すると主成分が脂肪酸カルシウムであり、ビリルビンカルシウムの含有率はわずか15%に過ぎなかったと報告している。さらにこのモデルの結石を有する肝の病理組織学的検索では、胆管の拡張や胆管周囲のリンパ球浸潤、さらには結合織増生などの慢性炎症所見が観察されたが、中沼ら⁹⁾が報告しているようなヒト肝内結石症に高頻度でみられる増殖性胆管炎の像はみら

れなかったとしている。一方、内野ら⁹⁾は雄性家兎を用いて経乳頭的に胆管内へポリエチレンチューブを挿入留置し、さらにその領域の肝内門脈枝を結紮するモデルを作製した。その結果、支配領域の胆管に著しい拡張のみられたものが60%あり、その胆管壁には壁肥厚、腺管構造の増生、炎症性細胞浸潤からなる増殖性胆管炎の像がみられたとし、肝内結石症の胆管病変の完成には胆道の細菌感染と門脈の血流障害が極めて重要であることを指摘している。しかしながら、この報告例における病理組織像は、著者が見る限り胆管壁の肥厚と小円形細胞浸潤はみられるものの、彼らが腺管構造の増生としている病変は胆管上皮が壁内へ少し入り込んで形成されたと思われる導管様構造物であり、ヒト肝内結石症に高頻度でみられるPASやABに可染する粘液腺の増生とは趣を異にしていた。

そこで本研究では、肝内結石症の病態のうち、とくに胆汁鬱滞と胆道感染が肝内胆管枝に及ぼす影響を及ぼすかを知ることが目的として、雑種成犬の部分肝に胆汁鬱滞兼胆道感染を負荷し、肝内胆管枝の変化およびそれに伴う二次的なグ鞘内の変化、肝実質の変化について形態学的な面より検討した。なお、胆道感染を負荷する際、ヒト肝内結石症の肝内胆汁中で検出率の高い細菌の内、好気性菌の代表として *E. coli* を用い、嫌気性菌の代表として *B. fragilis* を用いた⁹⁾。今回の実験モデルは肝左葉2区域をドレナージする胆管の完全閉塞であるが、両群とも大部分の症例は組織学的に胆汁栓の形成および肝実質の線維化は軽度であり、典型的な胆汁性肝硬変の組織像を示すには至っていないかった。実験的に総胆管を結紮した場合、2週間で胆汁性肝硬変の組織像がほぼ完成されること¹⁰⁾を考えると、直接造影では確認されていないが、今回のモデルでは鬱滞した胆汁の一部は肝門部胆管の交通枝を通り総胆管へ逸脱し、結果的には不完全閉塞の状態になっているものと考えられた。また、肝実質に肝膿瘍の形成した症例もわずかであり、各胆管周囲には急性期および慢性期に出現する炎症細胞浸潤の混在する像をみたことより、今回のモデルは急性化膿性胆管炎ではなく、慢性的持続性胆管炎のモデルと考えられた。

以下、本研究を3つの観点から考察を加えてみた。

I. 胆汁鬱滞兼胆道感染が大型胆管に及ぼす影響について

中沼ら¹¹⁾は、ヒト肝内結石症の結石含有胆管の組織像を増殖性胆管炎、化膿性胆管炎、肉芽腫性胆管炎の三つに分類したが、そのなかで最も一般的にみられる組織像は増殖性胆管炎であるとしている。この増殖性胆管炎の基本的病変は、線維性に肥厚した胆管壁内

や壁外にそれぞれ壁内腺、壁外腺と呼ばれる腺組織の増生がみられることである。これらを連続切片法で検討した寺田¹⁴⁾の報告によると、壁内腺は直接胆管腔内に開口する少数の分岐をもつ管状腺であり、壁外腺は多数の小葉が散在性に配列する分岐管状胞状腺であり、導管を通して胆管内腔と連絡していたとしている。また、ヒト肝内結石症では正常肝に比べ特に粘液型小葉の増加が著明であり、粘液組織化学的には壁内腺は大量の中性ムチン、シアロムチン、スルホムチンを分泌する粘液腺からなり、壁外腺は中等量の中性ムチン、シアロムチン、スルホムチンを分泌する粘液腺と粘液を認めない漿液腺からなるとしている。さらに、胆管上皮も局所的に乳頭状に腔内に突出したり多層化を示し、明らかに増殖性であるとしている¹⁴⁻²⁰⁾。

今回、雑種成犬の部分肝に胆汁鬱滞兼胆道感染を負荷したところ、感染群3カ月目では、肥厚した胆管上皮は胆管の内腔側には乳頭状に増殖し、壁内には胆管上皮がめぐり込むように入り込み導管様の構造を示し、その最深部には小葉を形成している所見が得られた。そして、これらは豊富な中性ムチン、シアロムチン、スルホムチンを分泌する所見が認められ、ヒト肝内結石症で高頻度でみられる慢性増殖性胆管炎の所見と極めて類似した所見と考えられた。これらの経日的変化をみると、感染群における胆管壁の線維性肥厚、胆管上皮の乳頭状変化、導管様構造物の出現の程度、小葉構造物の出現の程度は漸次増強することが証明された。とくに小葉構造物は導管様構造物の発達程度に比例して出現し、導管様構造物の最深部に存在することが多かった。また、胆管上皮および壁内構造物中には経日的に中性ムチン、シアロムチン、スルホムチンの含量が増加することも証明された。なかでも、導管様構造物が胆管上皮と同様の粘液の染色性であるのに対して、小葉構造物は染色性が変わり、両者の間に移行部が認められたことは興味深い。

ヒト肝内結石症においては、胆管内に分泌された豊富な粘液は結石形成における重要な成分となるので、粘液腺組織の増生を来す因子の分析が重要な課題と考えられている²¹⁾。肝外胆管に附属する periductal gland は古くから記載があり、Burden¹⁵⁾が詳細な報告をしている。また、Chou¹⁶⁾はこの腺組織の分布を調べた結果、ヒトでは肝外胆管だけに分布すると報告している。山本¹⁷⁾はこの点より、肝内結石の肝内胆管壁内・外にみられる粘液腺組織は肝外胆管類似の胆管が肝内奥深くまで形成された先天異常であると考えている。また、結石を持たない先天性肝内胆管嚢胞拡張症例が同様の腺組織を形成していることや、肝内結石症

が学童期より発症する症例も少なくないことも先天的要因を考える理由として挙げている。これに対して、中沼ら¹⁾、寺田¹⁴⁾は炎症刺激に対する反応性変化により生じたものと考えている。その根拠として、①肝内結石症で特徴的に見られる腺様構造物は正常肝の肝内胆管にも同一の腺組織が少量ながら存在すること、②結石量が多いほどこの腺組織も多くなること、③肝外閉塞により増殖傾向がみられること、④胆管系の表層上皮には刺激により種々の腺組織に転化する potential があること、の4点を挙げている。すなわち、ヒト肝内結石症の壁内腺は炎症刺激に対して、胆管表層上皮が胆管壁内へ入り込んで増殖した管状腺であり、壁外腺は生理的状态下に存在する固有の腺組織が炎症刺激に対して増殖した過形成であると推定している。ヒト胆嚢においては元来固有の腺組織は存在しないとされているが、胆嚢上皮は刺激に対して細胞分裂が起こり、種々の化生腺組織が出現するといわれており、実験的にも胆嚢結石症モデルでは結石が析出する以前に、粘液をもつ腺組織が出現することが知られている¹⁸⁻²¹⁾。さらに、モルモットの総胆管表層上皮は障害に対して細胞分裂をおこし、粘液の多い新たな crypt を形成するとの実験的報告もある²²⁾。これらのことより胆管系の表層上皮には種々の腺組織へ転化する potential があると推察されている¹⁴⁾。今回の実験結果より、増殖性変化のない正常胆管表層上皮に炎症刺激を加えることにより、胆管上皮は胆管腔内には乳頭状に増殖し、胆管壁内にはもぐり込んで導管様の变化を示すようになり、さらにその導管の深部の一部は腺組織に転化し、小葉を形成するに至るものと推察された。このことは粘液染色では乳頭状変化や導管様構造物は同じ染色性であるが、導管様構造物と小葉構造物との間には染色性が変わり、両者間に移行部が認められたことから裏づけられる。以上のことより、肝内大型胆管の増殖性変化は中沼ら¹⁾、寺田¹⁴⁾が臨床材料の検討より推察したように、炎症刺激に対する反応性変化により生じたものと考えられた。

次に、このような病態を引き起こす炎症刺激がいかなるものかが問題となる。結石が胆管内に長期間存在するための物理的・化学的作用および細菌感染も加わって形成されるものと考えられるが、臨床材料のみでは結論が得られていない²⁾。今回の実験より、結石による物理的刺激がなくても胆汁鬱滞に胆道感染が加えられた場合、増殖性胆管炎に極めて類似の病理組織像を引き起こすことが証明され、この病理組織像が結石形成後の物理的刺激により初めて増生するものではないことが確認された。しかし、胆汁鬱滞の長期化や

結石形成による物理的刺激が加わり、さらにこの増殖性病変が増強することは推定に難くない。

II. 胆汁鬱滞兼胆道感染が結石形成に及ぼす影響について、とくに粘液の関与について

前述したように、胆汁鬱滞に胆道感染を加えた場合、最も著明な変化は胆管上皮の乳頭状変化および導管様構造物、小葉構造物の出現と、それらの胞体内粘液量の増加である。これら増加した粘液がいかなる意義を持つのか大いに興味をもたれるところである。胆嚢結石においては結石形成と粘液との関係が指摘されている^{29)~30)}。すなわち、組織学的に胆嚢粘膜には粘液過分泌所見が認められ^{29)~29)}、胆汁中にも粘液糖蛋白の増加²⁷⁾²⁸⁾と結石内の粘液糖蛋白が証明されている²⁹⁾³⁰⁾。

また、試験管内の実験では胆嚢粘液とビリルビンが結合して核形成にいたったとも報告されている^{31)~33)}。このことから、胆嚢結石症においては粘液が結石の形成・増大に深く関与していると考えられる。一方、肝内結石症においては、日本ではその大部分はビリルビンカルシウム石であり⁹⁾、結石形成のメカニズムに関しては Maki³⁴⁾の説が古くから知られている。それによると、大腸菌から産生された β -glucuronidase によってグルクロン結合ビリルビンが非抱合型ビリルビンに解離し、それがカルシウムイオンと結合してビリルビンカルシウムを形成するとされている。さらに、酸性メザウム中ではカルシウム塩は瞬時にして沈殿し、固形化すると報告されている³⁵⁾。また、組織学的には結石内にはかなりの量の中性および酸性粘液が証明されており、胆汁中の粘液および粘液ビリルビン複合体が、肝内結石形成に大きな役割を担っていることも指摘されている²⁾。このように肝内結石における粘液の役割は、結石形成の支持体とともに、胆汁壁流の鬱滞と酸性環境の発生をもたらすものと推察されている³⁶⁾。さらに、結石形成後にも持続的に分泌される粘液は、結石のその後の増大と成長に重要な役割を担うものと考えられている³⁶⁾。以上の観点から肝内結石症において、胆汁内に持続的に細菌感染があり多量の粘液、とくに酸性粘液が常時胆汁内に分泌されることは、肝内胆管内でビリルビンカルシウム石形成のメカニズムに極めて重要な役割を演じているものと考えられる¹⁾³⁾⁶⁾³⁷⁾。

今回の実験では、感染群は経日的に胆管上皮の乳頭状変化、導管様構造物および小葉構造物が発達し、さらにこれらの粘液の含量や胆管内に分泌される粘液量が漸次増加していく所見が認められた。そして、3カ月感染群7頭中1頭に層状構造を示すまでには至らなかったものの、析出した粘液と絡み合うようにしてビ

リルビンの析出する像が認められた。以上の所見より、ビリルビンの析出と胆管上皮から分泌される粘液が核となり結石形成に至ることは推定に難くない。しかしながら、ビリルビン石胆汁中に E. coli を検出せず、 β -glucuronidase 活性が低値の症例があることや、試験管内の実験でも β -glucuronidase 活性のない状態でビリルビンの脱抱合が起こり得るとする報告もあり、胆汁中非抱合型ビリルビンの生成には細菌感染以外に肝細胞より直接分泌される胆汁の性質にも原因を求める必要がある⁴⁰⁾。また、 β -glucuronidase 活性は、その阻害物質である glucaro-1・4-lactone の存在により大きく規定されるが、実験的には食事内容により変化するとされており、食事内容によりビリルビンカルシウムの析出が規定されているとの報告もある³⁸⁾。このように、肝内結石形成にはいろいろな因子が考えられているが、そのなかでも細菌感染が大きく関与していることには変わりはないと思われる。

III. 胆汁鬱滞兼胆道感染が肝実質に及ぼす影響について、とくに門脈血流と肝萎縮との関係について

肝内結石症の結石を有する肝葉の末梢部の変化としては、しばしば萎縮をともなっていることである³⁹⁾。その中には肝細胞がほとんど消失して線維性組織に置換されている症例もある³⁹⁾。一般に肝萎縮は左葉に多く発生するとする報告が多い¹⁾²⁾³⁷⁾³⁹⁾。肝左葉に多くみられる理由として Benz ら¹²⁾は5群に分けて検討している。すなわち第1群は門脈ないしその分枝に関連のあるもの、第2群は胆管の閉塞が現在存在するか、過去に存在したことが明らかなもの、第3群は胆道閉塞があり、これによって起こった胆管の拡張により左門脈枝が圧迫されたもの、第4群は長期の重篤な栄養障害を主な理学的症候とするもの、第5群はその他などであるとしている。菊川ら³⁹⁾はこのうち第3に相当するものと思われる肝萎縮症例を報告しており、Brassch ら⁴⁰⁾は第2群に相当すると思われる肝萎縮症例を報告している。これに対して山本¹⁷⁾は末梢門脈域での厚い胆管周囲線維性肥厚により門脈枝が圧迫され、そのため門脈血流が障害され肝萎縮をひきおこすと考えている。一方、中沼ら¹⁾は結石部における門脈の圧排狭小化のほかに、門脈壁の肥厚、血栓形成、さらに末梢部の門脈枝の狭小化・肥厚が結石を有する肝葉への門脈血流の減少を来し、実質に萎縮を生ずる可能性を考えている。このように門脈血流の低下による肝萎縮がとくに注目されている。その理由として、門脈血内には肝再生をもたらすインシュリン、グルカゴンが含まれており、門脈血流の測定から過剰の門脈血流は肝の再

生肥大を生じるが、その減少は萎縮を招来させると言われている⁴¹⁻⁴⁹。いずれにせよ、肝内結石症における肝萎縮の原因を考える際の材料は完成された臨床材料を用いており、実験的に検討された報告はない。今回の研究では Benz ら¹²⁾の方法に従って小葉間胆管領域のグ翰数を数えることにより組織学的肝萎縮を経日的に検討した結果、感染群、非感染群とも正常肝に比べ、経日的に萎縮が進行していくことが証明された。さらに、感染群では非感染群に比べ、2週間目以降有意に萎縮が進行した。一方、門脈内腔率の変化を見ると、小葉間胆管、隔壁性胆管領域において両群とも1カ月目までは同様の傾向で低下したが、3カ月目までは感染群は非感染群に比べ有意に門脈内腔率の低下を認めた。以上の結果から今回の実験で認められた肝萎縮の原因を考察すると、両群とも肝萎縮が認められたことより胆管閉塞がまず第一に関与していることである。しかも、両群とも門脈内腔の狭小化が認められたことより、Benz ら¹²⁾の第2群における胆管の閉塞そのものが関与しているか、または、第3群における拡張胆管が門脈枝を圧迫したために萎縮がおこったものと考えられた。さらに、感染群では非感染群に比べより高度に門脈血流の低下をきたし、肝萎縮が起こるものと推察されることより、門脈内腔の狭小化の原因について次に考察することとする。小葉間胆管領域、隔壁性胆管領域の両方とも同様の門脈内腔率の経日的変化を示していることより、隔壁性胆管領域よりさらに大型の門脈枝の変化が引き起こされ、それが末梢レベルでとらえられている可能性が考えられた。そこで、大型胆管領域でのグ翰の変化に注目すると、感染群では大型胆管周囲の炎症の波及によるグ翰炎が門脈域にまで波及し、門脈周囲にも線維性肥厚が認められたことである。この大型胆管領域の門脈周囲線維化率の経日的変化では両群間に有意差は認められなかったが、感染群では経日的に門脈周囲線維化率の増加傾向が認められ、これら門脈周囲線維化はこの領域での門脈の狭小化、弾性の低下をきたし、その門脈が分布する肝葉の門脈血流の低下を招来している可能性が考えられた。その他、山本¹⁷⁾が報告したように、感染群では隔壁性胆管および小葉間胆管領域のグ翰内で胆管周囲の線維化も経日的に増強しており、これによる末梢の門脈枝の圧迫が関与している可能性も考えられた。今回は肝組織血流の測定は行っていないが、今後この方面からの検討により、肝内結石症における肝萎縮の病態がさらに解明されるものと思われる。

以上のように、雑種成犬の部分肝に胆汁鬱滞兼胆道感染を負荷したところ、ヒト肝内結石症でみられる増

殖性胆管炎と極めて類似した病理組織像を得ることができた。今後、このモデルは肝内結石症の病態解明の一助となりうると思われる。また、今回の結果を肝内結石症の治療面に照らし合わせて考えた場合、増殖変化を示した胆管上皮や壁内構造物より分泌される粘液が結石の新生、増大に重要な役割を担うと考えられるので、肝内結石症の治療はこのプロセスを中断するために外科的切除が最も根本的な治療法と思われる。

結 論

肝内結石症の病態を解明することを目的として、雑種成犬を用いて部分肝に胆汁鬱滞兼胆道感染を負荷し、肝内胆管枝の変化およびそれに伴う二次的なグ翰内の変化、肝実質の変化について形態学的な面より検討した結果、以下の成績を得た。

1. 大型胆管領域のグ翰内の変化では、感染群は胆管の拡張とともに胆管壁の線維性肥厚、胆管上皮の乳頭状変化、導管様構造物および小葉構造物出現の程度が経日的に増強する傾向が認められた。さらに、胆管上皮および壁内構造物の細胞質内には経日的に中性ムチン、シアロムチン、スルホムチンの含量が増加する傾向が認められた。また、門脈周囲にも炎症の波及によると思われる線維性結合織の増生が経日的に認められた。一方、非感染群では胆管の拡張はあるものの、胆管壁の線維性肥厚、胆管上皮の増殖性変化の所見および胆管上皮の細胞質内の粘液含有の増加はほとんど認められなかった。また、門脈周囲には線維性結合織の増生はほとんど認められなかった。

2. 隔壁性胆管領域のグ翰内の変化では、感染群は胆管壁周囲を輪状に取り巻く線維の増生を経日的に認め、非感染群に比べ1カ月目では5%の危険率で、3カ月目では1%の危険率で有意に高度となった。また、門脈内腔は3カ月目において、感染群は非感染群に比べて有意 ($p < 0.01$) に狭小化した。

3. 小葉間胆管領域のグ翰内での変化においても同様に、感染群は胆管周囲を輪状に取り巻く線維の増生を経日的に認め、2週間目以降非感染群に比べ有意 ($p < 0.01$) に高度となった。また、門脈内腔は3カ月目において感染群は非感染群に比べ有意 ($p < 0.01$) に狭小化した。

4. 肝実質の変化では両群とも経日的に肝萎縮が進行したが、2週間目以降感染群は非感染群に比べ有意 ($p < 0.01$) に肝萎縮が認められた。

以上の成績より、ヒト肝内結石症に高頻度に見られる増殖性胆管炎の所見は胆汁鬱滞と胆道感染により引き起こされることが示唆された。また、胆汁鬱滞に胆

道感染を加えることにより、門脈血流量の低下がより高度となり肝実質の萎縮が著明になるものと推察された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜った恩師宮崎逸夫教授に深甚なる謝意を捧げるとともに、終始直接御教示戴いた金沢大学医療技術短期大学の永川宅和教授、同医学部第二外科の太田哲生助手に厚く感謝の意を表します。また、細菌の保存・供給に御協力、御援助を戴きました金沢大学中央検査部の藤田信一助手ならびに検査技師の方々に深謝します。

なお、本論文の要旨は、第30回日本消化器病学会大会(昭和63年10月、鹿児島市)および第33回日本消化器外科学会総会(平成元年2月、東京都)において発表した。

文 献

- 1) 中沼安二, 太田五六, 永川宅和, 松原藤継: 肝内結石症肝の病理形態像. 日消誌, **78**, 874-882 (1981).
- 2) 中沼安二, 寺田忠史, 太田五六: 病理面からみた肝内結石症の病態. 胃と腸, **19**, 405-404 (1984).
- 3) 中沼安二, 太田五六, 山口幸二: 肝内結石症の成因-病理の面から-. 胆と膵, **5**, 1065-1068 (1984).
- 4) 小林展章, 谷村 弘: 胆汁成分分析からみた肝内結石症治療の問題点. 日外会誌, **85**, 1093-1097 (1984).
- 5) 金井昌教: ビリルビンカルシウム胆石の成因に関する臨床的, 実験的研究. 日外会誌, **88**, 191-197 (1987).
- 6) 高橋 涉, 佐藤寿雄: 肝内結石症の成因-感染胆汁の面から. 胆と膵, **5**, 1615-1618 (1984).
- 7) 小野慶一, 高橋賢一, 横山 慎, 福嶋 貴, 川崎仁司, 森 達也, 佐々木睦男: 肝内結石の成因-結石形成におけるムチンの意義-. 厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班 昭和62年度研究報告書, 93-99 (1985).
- 8) 佐々木睦男, 森 達也, 伊坂直紀, 宮城島堅, 稲葉安正, 福嶋 貴, 朝倉靖夫, 遠藤正章, 鈴木英登士, 小野慶一: 肝内結石症における胆汁中糖蛋白質の意義と実験的肝内結石. 胆道, **1**, 39-48 (1987).
- 9) 内野純一, 柿田 章, 佐治 裕, 真鍋邦彦, 片山富美夫: 門脈血流障害の胆道系に及ぼす影響. 厚生省特定疾患肝内結石症調査研究班 昭和62年度研究報告書, 100-106 (1988).
- 10) 中沼安二, 宮村 肇, 太田五六: 原発性胆汁性肝硬変の肝内胆管系の初発病変. 肝臓, **20**, 1131-1140 (1979).
- 11) 中沼安二, 太田五六: 原発性胆汁性肝硬変の肝内胆管系に関する形態学的研究 I. 原発性胆汁性肝硬変の肝内胆管系の組織計測的解析. 肝臓, **17**, 102-108 (1976).
- 12) Benz, E. J., Baggenstoss, A. H. & Wollaeger, E. E.: Atrophy of the left lobe of the liver. Arch. Path., **53**, 315-330 (1952).
- 13) 佐々木紘昭: 閉塞性黄疸に関する実験的研究-とくに、肝細胞機能障害を中心として-. 十全医会誌, **87**, 1-16 (1978).
- 14) 寺田忠史: ヒト正常肝, 肝内結石症肝および肝内胆管拡張肝における肝内胆管付属腺組織の形態学的研究. 十全医会誌, **93**, 599-619 (1984).
- 15) Burden, V. G.: Observation on the histologic and pathologic anatomy of the hepatic, cystic, and common bile ducts. Ann. Surg., **82**, 584-587 (1925).
- 16) Chou, S. T. & Gibson, J. B.: The histochemistry of biliary mucins and the changes caused by infestation with *Clonorchis sinensis*. J. Path., **101**, 185-197 (1970).
- 17) Yamamoto, K.: Intrahepatic periductal glands and their significance in primary intrahepatic lithiasis. Jpn. J. Surg., **12**, 163-170 (1982).
- 18) Putz, P. & Willems, G.: Cell proliferation in the human gallbladder epithelium: effect of distension. Gut, **20**, 246-248 (1979).
- 19) Scott, A. J.: Epithelial cell proliferation in diverse models of experimental cholelithiasis. Gut, **19**, 558-562 (1987).
- 20) Laitio, M.: Morphology and histochemistry of non-tumorous gallbladder epithelium. A series of 103 cases. Path. Res. Pract., **167**, 335-345 (1980).
- 21) Laitio, M. & Terho, T.: Polysaccharides of metaplastic mucosa and carcinoma of the gallbladder. Lab. Invest., **32**, 183-189 (1975).
- 22) Hou, C. T.: Repair of the extrahepatic bile ducts after mechanical and chemical injury. J. Path. Bact., **82**, 83-94 (1961).
- 23) Lee, S. P. & Scott, A. J.: The evolution of morphologic changes in the gallbladder before stone formation in mice fed a cholesterol-choleic acid diet. Am. J. Pathol., **108**, 1-8 (1982).
- 24) Elving, G.: Crypts and ducts in the gallbladder wall. Acta. Pathol. Microbiol. Scand., **49**, 1-45 (1960).
- 25) Lee, S. P.: Hypersecretion of mucus glycoprotein by the gallbladder epithelium in experi-

- mental cholelithiasis. *J. Pathol.*, **134**, 199-207 (1981).
- 26) **Wormack, N. A.**: The development gall stones. *Surg. Gynec. Obstet.*, **133**, 937-945 (1971).
- 27) **Lee, S. P., Lim, T. H. & Scott, A. J.**: Carbohydrate moieties of glycoproteins in human hepatic and gallbladder bile, gallbladder mucosa and gall stones. *Clin. Sci.*, **56**, 533-538 (1979).
- 28) **Matsushiro, T., Nemoto, T., Endo, M. & Yoshizawa, Z.**: Glycoproteins and sulfated glycoproteins isolated from human bile. *Clin. Chim. Acta.*, **30**, 645-655 (1970).
- 29) **Wormack, N. A., Zeppa, R. & Irvin, G. L.**: The anatomy of gallstones. *Ann. Surg.*, **157**, 670-686 (1963).
- 30) **Sutor, D. J. & Wooley, S. E.**: The organic matrix of gallstones. *Gut*, **15**, 487-491 (1974).
- 31) **Yamashita, T.**: An experimental study coagulation effect of various mucosubstances on calcium carbonate suspension. *Tohoku J. Exp. Med.*, **105**, 75-85 (1971).
- 32) **Smith, B. F. & LaMont, J. T.**: Bovine gallbladder mucin binds bilirubin in vitro. *Gastroenterology*, **85**, 707-712 (1983).
- 33) **Levy, P., Smith, B. F., Atkinson, D. & LaMont, J. T.**: Human gallbladder mucin enhances in vitro nucleation of cholesterol monohydrate crystals (abstr). *Gastroenterology*, **84**, 1382 (1983).
- 34) **Maki, T.**: Pathogenesis of calcium bilirubinate gallstone: Role of *E. coli*, β -glucuronidase and coagulation by inorganic ions, polyelectrolytes and agitation. *Ann. Surg.*, **164**, 90-100 (1966).
- 35) **Nagashima, H., Suzuki, N. & Yoshizawa, Z.**: Coagulating effect on calcium carbonate of sulfated glycoproteins isolated from pathological human bile. *Tohoku J. Exp. Med.*, **113**, 159-168 (1974).
- 36) **太田五六, 中沼安二**: 肝内結石症の病理と成因. *肝胆膵*, **4**, 337-340 (1982).
- 37) **太田五六, 中沼安二**: 肝内結石症と病理. *外科治療*, **46**, 557-561 (1982).
- 38) **哲夫, 三条忠夫, 松代 隆, 鈴木範美, 岡田満之, 渡辺 祐, 菊池彬夫, 中村尚志, 根本 猛, 高橋 渉, 佐藤文夫**: 食餌差による肝胆汁成分の変動に関する実験的研究—とくに胆石形成機序に関連して—. *肝臓*, **11**, 42-47 (1970).
- 39) **菊川政男, 深井泰俊, 堀田敦夫, 吉川高志, 桜井隆久, 畑 芳樹, 堀川清己, 吉田英晃**: 肝内結石症例の肝萎縮に関する検討—肝切除例を中心に—. *臨床外科会誌*, **46**, 1128-1136 (1985).
- 40) **Brassch, J. W., Whitcomb, F. F., Watkins, E., Maguire, R. R. & Khazei, A.**: Segmental obstruction of the bile duct. *Surg. Gynec. Obstet.*, **134**, 915-920 (1972).
- 41) **Rous, P. and Latimore, L. D.**: Relation of the protal blood to liver manifence. *J. Exp. Med.*, **31**, 609-632 (1920).
- 42) **Starzl, T. E., Francavilla, A., Halgrimson, C. G., Francavilla, F. R., Porter, K. A., Brown, T. H. & Putnam, C. W.**: The origin, hormonal nature, and action of hepatotrophic substances in protal venous blood. *Surg. Gyenc. Obstet.*, **137**, 179-199 (1973).
- 43) **Price, J. B., Takeshige, K., Max, M. H. & Voorhees, A. B.**: Glucagon as the portal factor modifying hepatic regeneration. *Surgery*, **72**, 74-82 (1972).
- 44) **Fisher, B., Szuch, P. & Fisher, E. R.**: Evaluation of a fumoral factor in the regeneration utilizing liver transplants. *Cancer Res.*, **31**, 322-331 (1971).
- 45) **Leffert, H. L.**: Growth control of differentiated fetal rat hepatocytes in primary monolayer culture. VII. Humoral control of DNA synthesis and its possible. significance to the problem of liver regeneration. *J. Cell. Biol.*, **62**, 797-801 (1974).

Experimental Study on the Morphological Changes of the Intrahepatic Bile Ducts After Loading Obstruction and Infection of the Biliary Tract Nobuhiko Ueda, Department of Surgery (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., 98, 841—862 (1989)

Key words biliary tract infection, bile stasis, intrahepatic bile duct glands, liver atrophy

Abstract

Morphological changes of the intrahepatic bile ducts, Glisson's capsule and hepatic parenchyma after loading obstruction and infection of the biliary tract on partial lobe of the liver of mongrel dogs were studied in order to examine the pathophysiology of the hepatolithiasis. The infective dogs were prepared by cannulation to the bile duct branch draining the left lateral two lobes of the liver and the cannula was obstructed after injection of 10^7 -number *E. coli.* and 10^7 -number *B. fragilis.* The dogs which were not infused with bacteria were used as non-infective group. Two weeks, 1 month and 3 months later, livers of sacrificed dogs were morphologically examined. In the Glisson's capsule at the region of the large intrahepatic bile duct, in infective group, the degree of periductal fibrosis, papillary projection of the surface epithelia and appearance of ductular structures and lobular structures gradually increased associated with dilatation of the lumen of the bile duct. The mucin histochemistry revealed that neutral mucin, sulphomucin and sialomucin gradually increased in cytoplasm of those proliferating structures. Furthermore periportal fibrosis which probably followed inflammation in the Glisson's capsule gradually increased at the region of the large bile duct. On the other hand, in non-infective group, dilatation of the lumen of the bile duct was observed at the same region, but periductal fibrosis, proliferating changes of the surface epithelia and mucin in the cytoplasm were hardly noted. In the Glisson's capsule at the region of the septal bile duct, in infective group, the degree of periductal fibrosis without ductular proliferation gradually increased. It was significantly severer on the 1st month ($P < 0.05$) and the 3rd month ($P < 0.01$) after obstruction of the bile duct than that in non-infective group. Furthermore caliber ratio of portal vein in infective group at this region was significantly smaller on the 3rd month after obstruction of the bile duct than that in non-infective group ($P < 0.01$). In the Glisson's capsule at the region of the interlobular bile duct, in infective group, the degree of periductal fibrosis and caliber ratio of portal vein had the same tendency as at the region of the septal bile duct. On the other hand, hepatic atrophy gradually progressed in two experimental groups, but that of infective group was significantly severer after the 2nd week of obstruction of the bile duct than that of non-infective group ($P < 0.01$). From the above, it is suggested that proliferative cholangitis which is found most frequently in human hepatolithiasis may be raised by bile stasis and biliary tract infection, and the degree of hepatic atrophy may become severer due to the decrease of the portal vein flow, when biliary tract infection is added to bile stasis.