

# Observation of the Intrahepatic Biliary Casts in Humans and Rats

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8033">http://hdl.handle.net/2297/8033</a>

## ヒトおよびラット肝内大型胆管の鋳型樹脂標本の観察

金沢大学医学部病理学第二講座 (主任：中沼安二教授)

石 田 文 生

(昭和63年1月 日受付)

ヒトおよびラットの肝内胆管に熱硬化性樹脂 (毛細血管注型用樹脂 MERCOCX CL-2B, R-5, methyl methacrylate monomer, n-butyl methacrylate の3剤混合) を注入し, 肝内胆管の鋳型標本を作製し, 実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡で観察した。ヒト正常肝の肝内大型胆管の鋳型標本表面には3種の突出物 (大型および小型樹枝状突出物, 付着状突出物) がみられ, 肝内の大型胆管に広く分布していた。これらの突出物は胆管の両側に翼状に配列し, 胆管分岐部で, これらの突出物, とくに大型樹枝状突出物の相互に吻合が見られた。3種の突出物の中では, 大型樹枝状突出物が最も多く見られた。これらの突出物の大きさや形状, また, 胆管に樹脂を注入した後に薄切した胆管組織標本の光顕的検索により, 小型樹枝状突出物は肝内胆管付属腺の壁外腺に, 付着状突出物は壁内腺に, 大型樹枝状突出物は壁外腺の一部および胆管より肝実質へ向かう胆管の小分枝に相当すると考えられた。正常ラットの胆管鋳型標本では, 胆管表面に付着状突出物が不規則に分布しており, 光顕的には, これらの突出物に相当して, 付属腺組織が胆管壁内および胆管壁に接して見られた。3週間の胆道閉塞ラットでは光顕的には胆管付属腺の増生が見られ, 胆管鋳型標本では付着状突出物の増加, 分枝, 延長が見られ, 走査型電子顕微鏡の所見と光顕所見の一致をみた。以上, ヒトおよびラットの大型肝内胆管鋳型標本を観察することにより, 肝内胆管付属腺組織を立体的に捉え, さらにその病的変化を三次元的に観察することができた。

**Key words** 肝内胆管系, 熱硬化性樹脂, 肝内胆管鋳型, 肝内胆管付属腺

正常ヒト肝外胆管系に付属腺の存在することが従来より知られている。この付属腺組織は, 乳頭部胆管, 総胆管, 胆嚢管, 総肝管において観察され, 管状胞状腺とされている<sup>1)~3)</sup>。一方, 肝内大型胆管の周囲にも付属腺組織の存在することが知られており<sup>4)~6)</sup>。教室の寺田ら<sup>5)6)</sup>はその形態から胆管壁内にある壁内腺と胆管壁外の疎な線維性結合組織内にある壁外腺とに二分できると述べている。そして, 壁内腺は分枝に乏しい管状胞状腺であり, 壁外腺は小葉状の構造を示し, 固有の導管を介して胆管腔内へと連続するとしている<sup>5)6)</sup>。肝外胆管壁では, 付属腺がほぼ全周性にみられるのに対し, 肝内大型胆管では, 付属腺, 特に壁外腺は胆管の左右に配列していると述べている<sup>5)6)</sup>。しかし, これらの報告はいずれもホルマリン固定後の組織切片を用いたものであり, 肝内大型胆管の付属腺の形

態とその分布パターンの立体像を正確にとらえた報告は未だない。

そこで今回, 著者は正常ヒト肝内胆管に樹脂を注入し, 肝内胆管鋳型標本を作製し, 実体顕微鏡と走査型電子顕微鏡 (走査電顕) で観察することにより, 正常ヒト肝内大型胆管に如何なる立体的構造物が付属しているのか, それらの構造物は光顕で観察された如何なる組織に対応しているのか, そして, 組織学的に観察される肝内胆管付属腺の立体的な形態と配列はどのようなものかを中心に検索した。さらに, 胆道閉塞を伴うヒトの肝内大型胆管壁についても同様な観察を試みた。また, 実験的研究としてラットを用い, 正常の肝内胆管系の鋳型樹脂標本を観察し, さらに3週間の胆管閉塞モデルを作製し, 肝内胆管鋳型表面にみられる病的変化も併せて検討した。

Abbreviations: Al-p, alkaline phosphatase;  $\gamma$ -GTP, gamma glutamyl transpeptidase; GOT, glutamic oxaloacetic transaminase; GPT, glutamic pyruvic transaminase; LDH, lactic acid dehydrogenase. 光顕, 光学顕微鏡; 走査電顕, 走査型電子顕微鏡。

## 対象および方法

### I. 肝内胆管系の名称

ヒトの胆管系の名称は、Healeyら<sup>7)</sup>に従った。つまり、胆管系を総胆管 (common bile duct), 総肝管 (common hepatic duct), 左肝管 (left hepatic duct), 右肝管 (right hepatic duct), それに右肝管の分枝として、前区域枝 (anterior segment duct), 後区域枝 (posterior segment duct), 左肝管の分枝として、内側区域枝 (medial segment duct), 外側区域枝 (lateral segment duct) に大きく分類した。そして各々の区域枝 (segment duct) からの第1分枝を領域胆管 (area duct) と呼び、さらにそれより末梢の枝を隔壁胆管 (septal duct) と呼んだ<sup>8)</sup>。そして、左右の肝管, 区域胆管, 領域胆管を肝内大型胆管と呼んだ。なおラットの胆管系の名称に関しては、総胆管およびその1次分枝, 2次分枝, 3次分枝, さらにその分枝に分類し, 1~3次分枝までを肝内大型胆管と呼んだ。

### II. ヒト正常肝内胆管の鑄型標本の作製

肉眼的, 組織学的に肝に著変を認めず, また胆管系に病変を伴わないヒト剖検肝 23 例を対象とし, Yamamoto ら<sup>9)</sup>の方法に準じ, 胆管の鑄型を作製した。これらの症例の年齢は生後 2 ヶ月~87 才 (平均 52.2 才) であった。まず, これら 23 例中 16 例は, 剖検時, 総胆管を付した肝を摘出し, 直ちに門脈にビニルチューブを挿入固定し, 経門脈的にリンゲル液で 15~20 cm 水柱圧にて灌流した。同時に肝内胆管系を生理食塩水で数回洗浄し, その後総肝管にビニルチューブを挿入固定した。この時, 肝の右葉及び左葉の末梢より光顕用標本を数個採取し, ホルマリン固定を行い病理診断用のブロックとした。次に, このチューブより下記の樹脂を 20~25 cm 水柱圧にて注入した。用いた樹脂は, いずれも熱硬化性樹脂であり, 毛細血管注用樹脂 MERCOX CL-2B, R-5 (MERCOS 樹脂) (大日本インキ化学, 東京) と methyl methacrylate monomer (和光純薬工業, 大阪) を 6:4 の割合で混合し (A 配合), 注入直前に硬化剤 benzoyl peroxide (和光純薬工業) を微量添加した。樹脂注入の後, 肝を 60°C にて 24 時間温水浴させて樹脂の完全な重合, 硬化を行った。その後, 約 1 週間 30% NaOH 水溶液内に入れ, 肝実質を腐食, 除去し, 肝内胆管鑄型標本を完成させた (図 1)。この樹脂鑄型標本を実体顕微鏡で詳細に観察し, 総肝管, 左肝管, 左葉の区域胆管, 左葉の領域胆管, 右肝管, 右葉の区域胆管, 右葉の領域胆管の同定を行うと同時に, その表面構造を観察し (図 2), 次いで, 加熱した小型のメスで各々のレベルの胆管を注意深く短切した。その後, 切断した

胆管鑄型樹脂標本を試料台に固定し, IB-2 型 ION COATER (EIKO ENGINEERING CO., 茨城) 内で白金・パナジウムで加電蒸着した後, 走査電顕日立 S-510 (日立, 茨城) にて観察した (撮影電圧は 10~25 kV)。

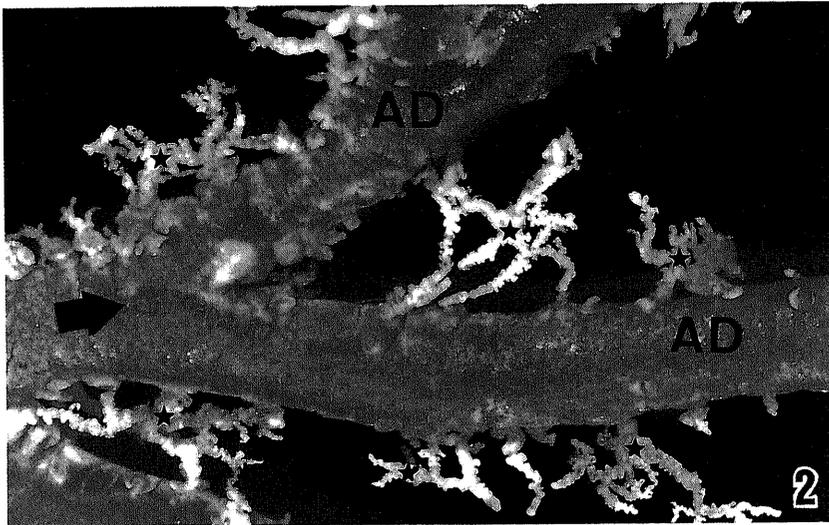
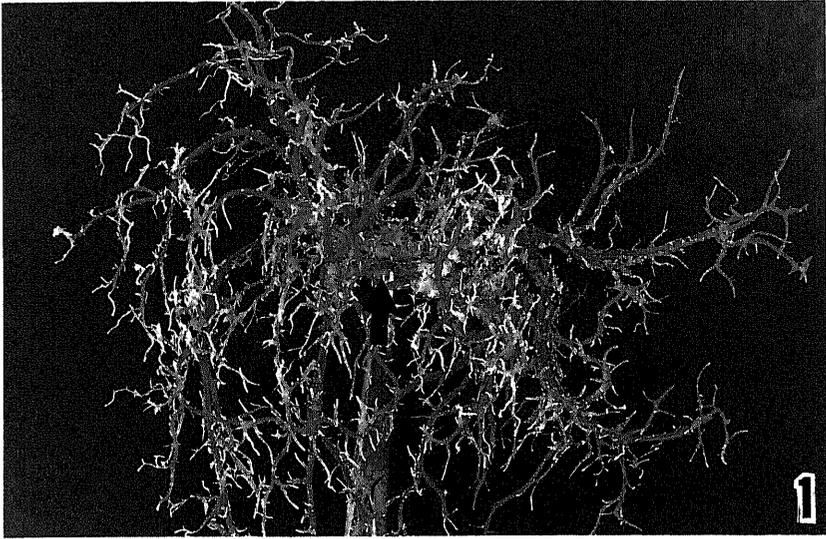
観察した胆管鑄型表面に付属する構造物が, ホルマリン固定標本での組織形態像の何に相当するのかわかる目的で, 以下の検討を行った。上述の A 配合で硬化した樹脂は, 常温では非常に硬く, ミクロトームでは薄切できなかった。そこで, MERCOS 樹脂, methyl methacrylate monomer, これにガラス転移点 (Tg) 20°C と常温で充分に柔らかい, n-butyl methacrylate (和光純薬工業) を種々の割合で混合させ, ミクロトームで薄切できる樹脂の配合を知ろうと試みた。その結果, MERCOS 樹脂 35%, methyl methacrylate monomer 22.5%, n-butyl methacrylate 42.5% の割合に混合して (B 配合), 硬化剤 benzoyl peroxide を微量加えた樹脂を胆管内に注入した場合, 樹脂が完全に重合した後でも柔らかく, 常温でミクロトームで約 5 μm の薄切片を作製することが可能であった。そこで, ヒト正常剖検肝 23 例中 7 例を用い, B 配合の樹脂を肝内胆管に注入すると同時に経門脈的に 10% 中性緩衝ホルマリンを 15~25 cm 水柱圧で灌流させて, 肝組織を固定した。この後, 肝左葉あるいは右葉の肝管, 区域胆管, 領域胆管, 隔壁胆管の各々のレベルで胆管を横断するように組織切片を切り出し, 型の如く, 脱水, パラフィン包埋し, 5 μm 薄切を行い, ヘマトキシリンエオジン (HE) 染色を行い, 光顕下に観察した。また, 9 個の組織切片では多数の連続切片 (6 μm 幅で 80~150 枚) を作製し, 樹脂の入った構造物の行方を調べた。切り出した残りの肝は, 前述の如く 30% NaOH 水溶液で肝実質を腐食, 除去して, 肝内胆管鑄型標本の作製に供した。

また鑄型標本を作製した 23 例とは別に, ヒト正常剖検肝 10 例を中性ホルマリン固定した後, 総肝管, 左右肝管, 区域胆管, 領域胆管を長軸方向に切開し, 各肝内胆管の内腔面を肉眼ならびに実体顕微鏡で観察した (図 3)。

組織計測: 組織切片の胆管壁の厚さ, 胆管上皮基底部より付属腺の最先端までの距離を顕微測定装置 (オリンパス社, 東京) を用い測定した。計測は主に, 左または右の区域胆管で行った。

### III. ヒト閉塞性黄疸肝の肝内胆管鑄型標本の作製

総胆管結石 1 例 (58 才, 女性), 膵頭部癌 1 例 (63 才, 男性), 食道癌の肝門部転移による総胆管閉塞 1 例 (61 才, 男性) の計 3 例の胆道閉塞剖検肝を用い, 肝内胆管鑄型標本を作製した。その方法は正常肝で行った



のと同様 (A 配合) であり, 完成した鋳型を実体顕微鏡および走査電顕で観察した。

#### IV. ラット正常肝と胆道閉塞モデルの肝内胆管鋳型の作製と観察

無処置の正常ウイスター系雄性ラット (体重約 300 g) 15 匹を用い, 正常肝の肝内胆管の鋳型標本を作製し

た。また, ウイスター系雄性ラット (約 300 g) 27 匹をエーテル麻酔下に開腹して, 総胆管を露出し, 3-0 絹糸にて総胆管を結紮し, 胆道閉塞モデルを作製した。閉腹後, 恒温下で自由に飼料 (マウス・ラット・ハムスター用固型 CRF-1) (チャールスリバー社, 米国), 水を与え, 3 週間まで飼育した。なお, この内 5 匹は,

Fig. 1. Biliary cast of a normal human liver. arrow: common hepatic duct.  $\times 1/2$ .

Fig. 2. Stereomicroscopic view of intrahepatic biliary cast branching from the right segment duct (arrow) to two right area ducts (AD). Note tree-like projections (★) distributed in opposite sides of the biliary casts. Some anastomoses of projections are seen at the bifurcation of bile ductal casts.  $\times 10$ .

Fig. 3. Internal view of left segment ductal lumen of the normal human liver. Note small holes arranged in a line (arrows).  $\times 5$ .

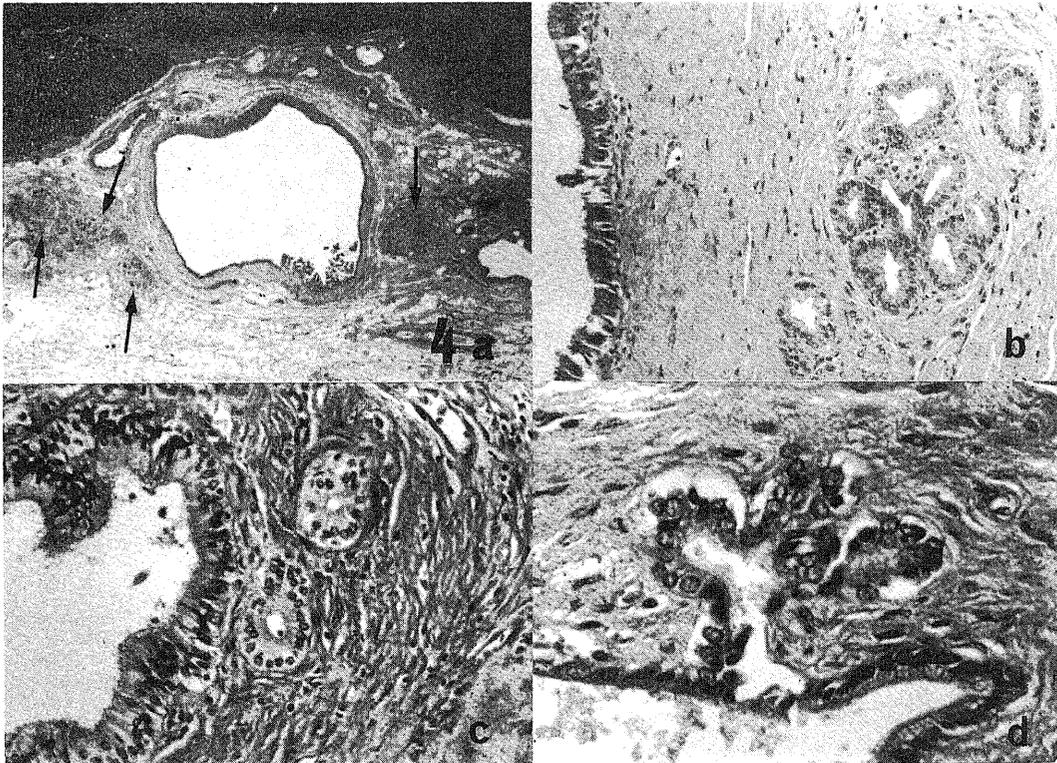


Fig. 4a. The transverse section of the left area duct of the normal human liver. The lobules of the external glands (arrows) are situated at the opposite sides of the bile duct. HE stain,  $\times 15$ .

4b. A lobule of extramular glands in the periductal soft tissue of the normal human liver. HE stain,  $\times 100$ .

4c. Two acini in high dense connective tissue around the area duct of the normal human liver (intramular glands). HE stain,  $\times 150$ .

4d. A lobule of intramular glands connecting with the area duct of the normal human liver. HE stain,  $\times 200$ .

3週間以前に死亡したので今回の検索から除外し、残る22匹を以下の検索に供した。

これらの正常ラットおよび胆管結紮ラットをエーテル麻酔下に開腹し、下大静脈より約10 ccの血液を採取し、脱血死させた後、直ちに総胆管を含む肝を摘

出した。その後、胆管結紮群17匹と対照群10匹では、人体例と同様に肝を経門脈的にリンゲル液で15~20 cm水柱圧にて灌流し、その後、総胆管より小児用ベニユーラ針25 Gを挿入、固定した。胆管結紮群17匹と対照群5匹では、人体と同じくA配合の熱硬化性樹

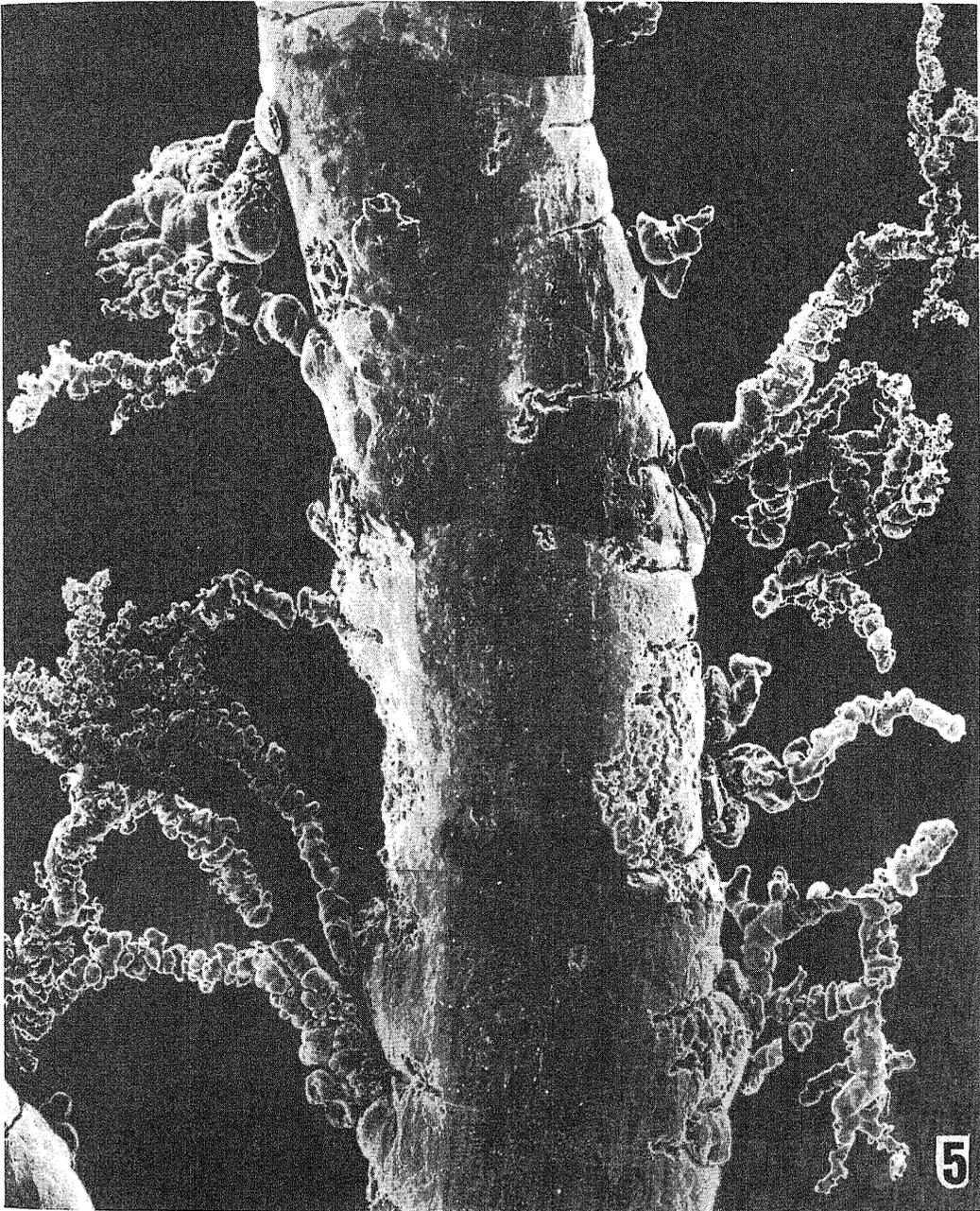


Fig. 5. Intrahepatic biliary cast of the normal human liver (right area duct). Note large tree-like projections distributed in the opposite sides of the bile duct. Scanning electron microscope.  $\times 20$ .

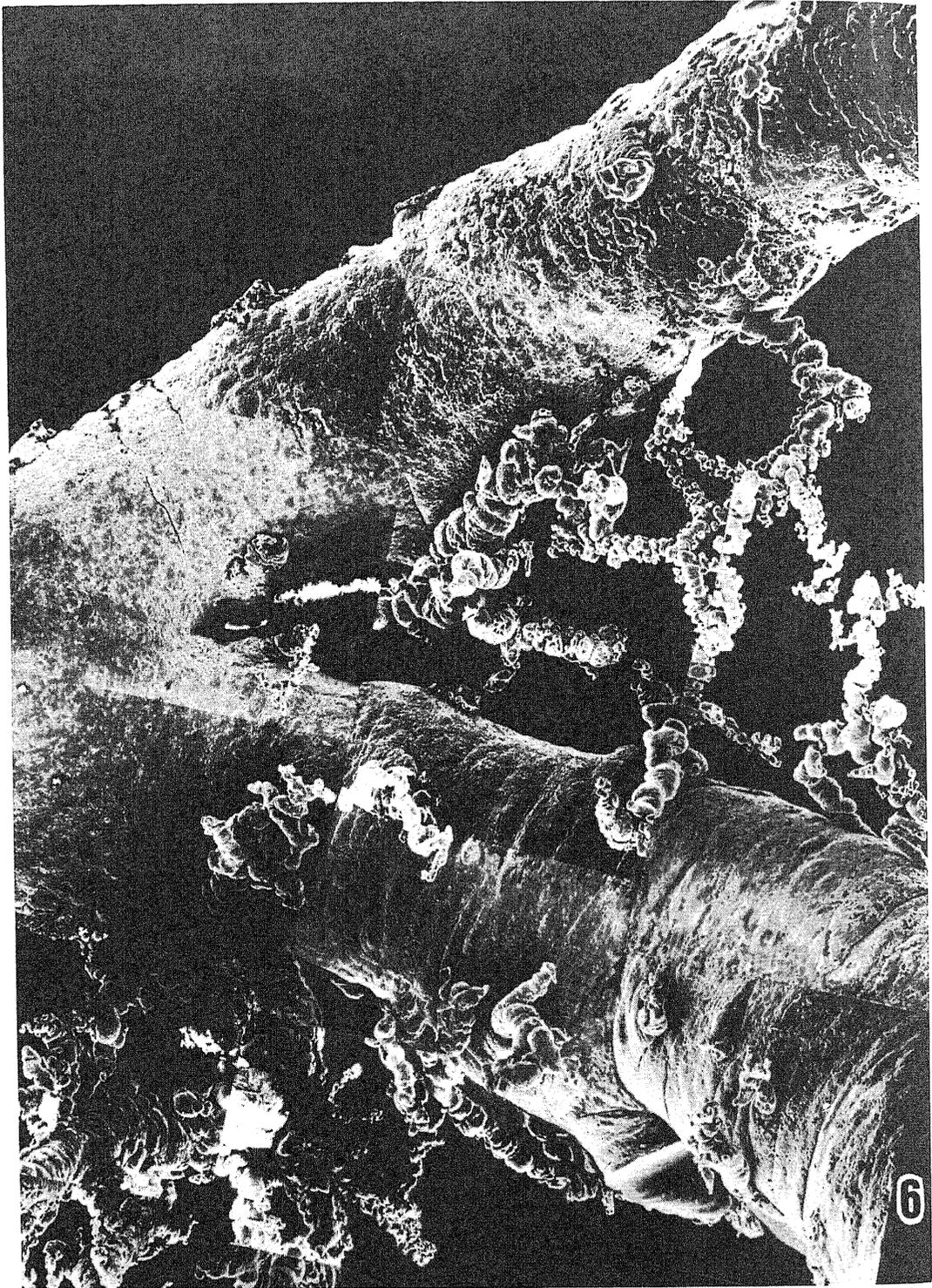


Fig. 6. Intrahepatic biliary cast of the normal human liver (bifurcation of the left hepatic duct to segment ducts). Note some anastomoses between large tree-like projections in the inner space of the bifurcation. Scanning electron microscope.  $\times 20$ .

脂を15~20 cm水柱圧で胆管内へ注入し、樹脂鋳型標本を作製した。次いで、白金・バナジウムで加電蒸着後、走査電顕で観察した。残りの対照群5匹では、人体と同じくB配合の樹脂を肝内胆管に注入すると同時に、経門脈的に10%中性緩衝ホルマリンを15~25 cm水柱圧で灌流させて、肝組織を固定した。この後、大型胆管を含む組織切片を切り出し、型の如く脱水、パラフィン包埋後、5  $\mu\text{m}$ 薄切、HE染色を行い、光顕で樹脂の注入された部分の組織像を観察した。また残りの胆管結紮モデル5匹と正常肝5匹では、採血後、総胆管を含む肝を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、肝門部を含む標本を各例につき3個以上切り出し、型の如く脱水、パラフィン包埋後4~6  $\mu\text{m}$ の切片でHE染色を行い光顕的観察を行った。さらに、これらの内、代表的な4個のブロックを用い、約150枚の連続切片(厚さ約6  $\mu\text{m}$ )を作製し、HE染色を行い、光顕的に付属腺組織の変化を観察した。なお、採取した血液を用い、血清総ビリルビン、グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (glutamic oxaloacetic transaminase, GOT)、グルタミン酸-ピルビン酸トラ

ンスアミナーゼ (glutamic pyruvic transaminase, GPT)、アルカリホスファターゼ (alkaline phosphatase, A1-P)、ガンマグルタミルトランスペプチダーゼ (gamma glutamyl transpeptidase,  $\gamma$ -GTP)、乳酸脱水素酵素 (lactic acid dehydrogenase, LDH) を705型自動分析装置(日立)で測定した。

## 成 績

### I. ヒト肝内大型胆管の観察

#### 1. 正常の肝内胆大型管組織の光顕像

左右肝管、区域胆管、領域胆管の胆管内面を実体顕微鏡で観察すると両側に、小さな陥凹が $557 \pm 116 \mu\text{m}$  (mean  $\pm$  SD)の間隔で点状に並んでいる像が観察された(図3)。これらの胆管系を組織学的に観察すると、胆管壁内に単管状腺管が少数観察され、ごく稀に少数の分岐を示す多房状の小型の腺組織がみられた(壁内腺)。また、これとは別に胆管の両側の周囲結合織に複数の小葉状の構造を示す腺組織が観察された(壁外腺)(図4a, b, c, d)。これらの壁外の腺組織に連続する様に導管がみられ、胆管腔へと連絡していることが、

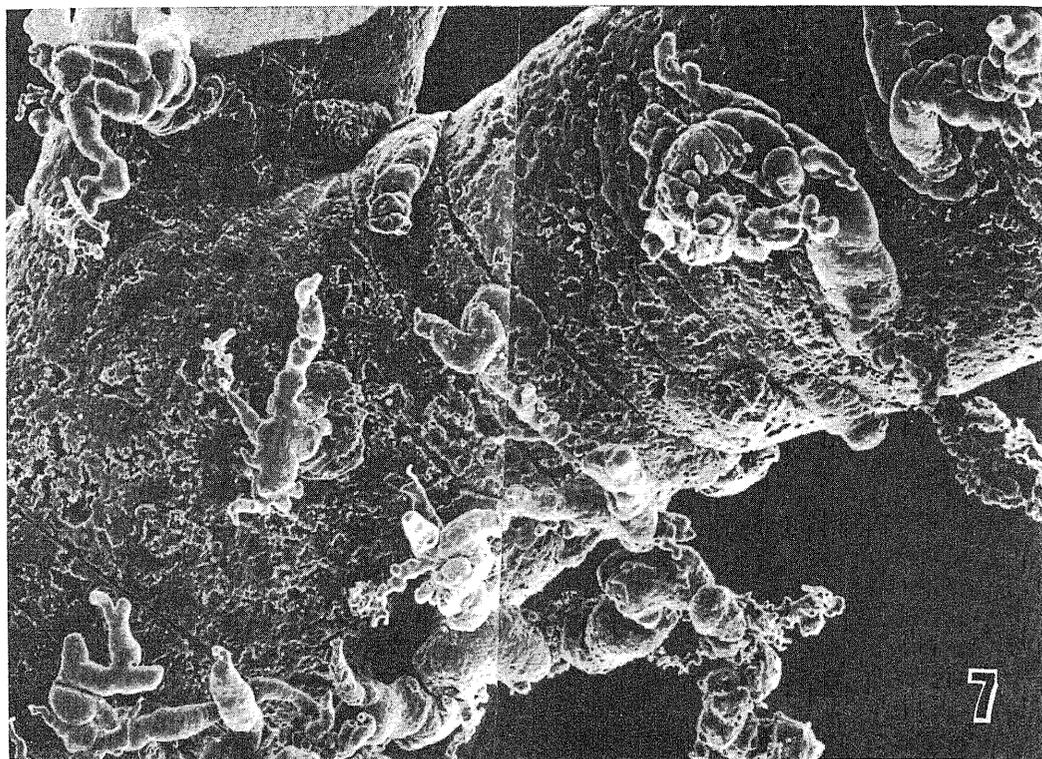


Fig. 7. Intrahepatic biliary cast of the normal human liver (left segment duct to area duct). Large and small tree-like projections are irregularly distributed on the biliary cast. Scanning electron microscope.  $\times 30$ .

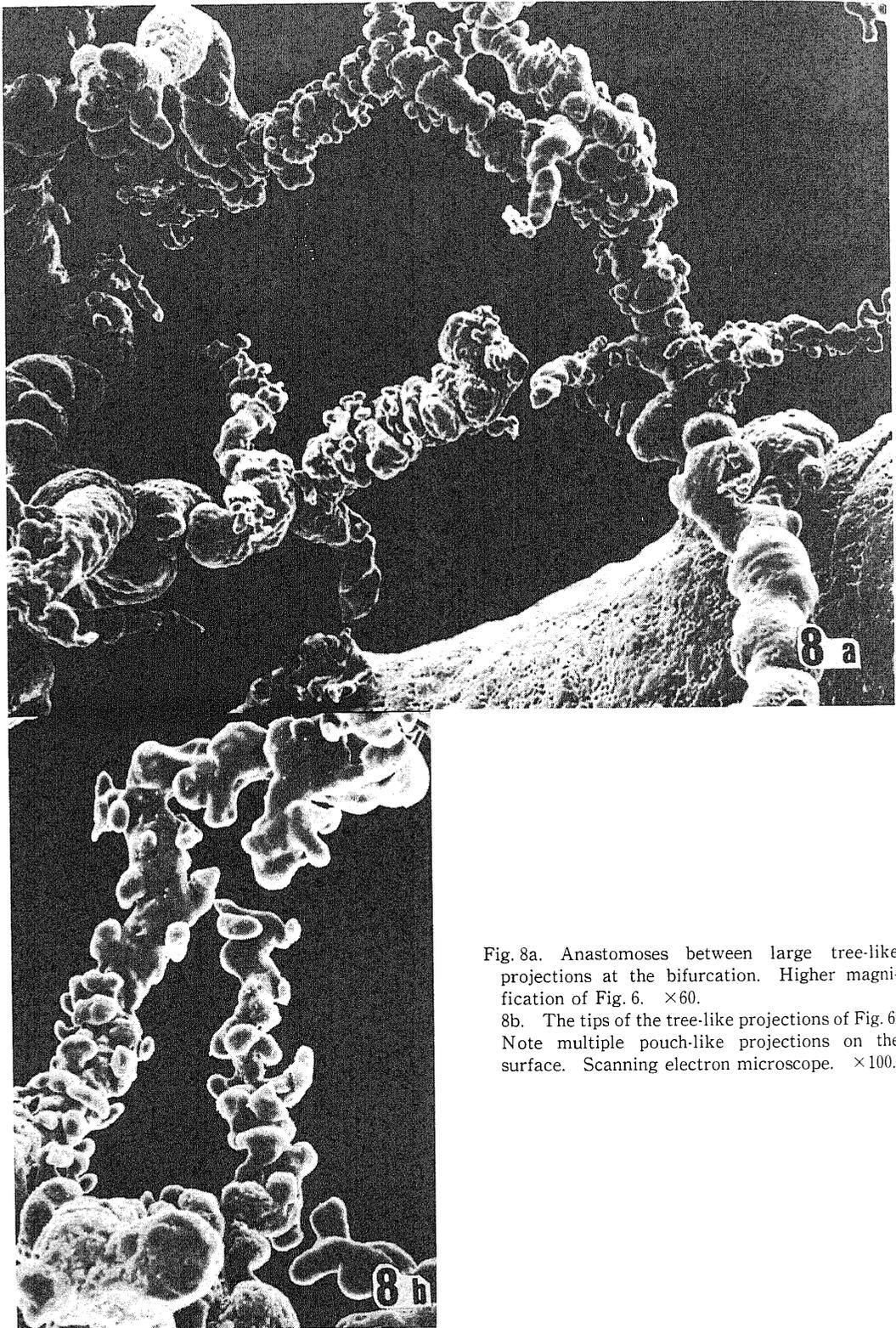


Fig. 8a. Anastomoses between large tree-like projections at the bifurcation. Higher magnification of Fig. 6.  $\times 60$ .

8b. The tips of the tree-like projections of Fig. 6. Note multiple pouch-like projections on the surface. Scanning electron microscope.  $\times 100$ .

連続切片で確認された。この壁外付属腺の最先端部と胆管腔面との距離は、 $327 \pm 95 \mu\text{m}$ であった。なお顕微測定装置で計測した、HE標本上の区域胆管壁の厚さは、 $164 \pm 34 \mu\text{m}$ であった。

## 2. 正常肝内胆管鋳型標本の観察

鋳型標本を走査電顕で観察すると、左右肝管、区域胆管、領域胆管、隔壁胆管の表面に3種の突出物、つまり大型樹枝状、小型樹枝状、付着状突出物が観察された。これらは、胆管が分岐する面に一致して、いずれも胆管の両側に翼状に認められた(図5, 6)。大型あるいは小型樹枝状突出物は、 $632 \pm 259 \mu\text{m}$ の間隔をもって分布しており、その中に少数の付着状突出物が散在していた。また、左右肝管及び左右区域胆管の肝管に近い部分では、突出物が胆管の分岐する面に一致して見られるのみならず、少数の突出物が全周性に散在していた(図7)。それぞれの突出物の形態像を述べる。

### 1) 大型樹枝状突出物

肝内大型胆管より垂直に幹状に突出し、さらにこの幹より多数の枝が分岐するものである。この分岐の表面に後述の付着状突出物が散在性にみられた(図5, 6, 8a, b)。この構造物の高さは1~10mmであり、実顕微鏡下で観察が可能であった(図2)。これらの突出物は観察したいずれのレベルの胆管表面にもみられたが、左右肝管<区域胆管>領域胆管>隔壁胆管の順に多くみられた。左右肝管、区域胆管、領域胆管の分岐部では、分岐した直後の胆管表面からの大型樹枝状突出物の一部が互いに吻合して、網目状に広がっている像が散見された(図6, 8a)。3種の突出物の中では、この大型樹枝状突出物が最も多くみられた。

### 2) 小型樹枝状突出物

これも胆管表面よりほぼ垂直に突出する構造物であり、拡大を上げた実顕微鏡下で観察し得た。その構造物は、胆管表面より管状に突出しており、その表面に直径25~100 $\mu\text{m}$ の多数の小さなポリープ状の突出物が細い茎で房状につながっていた(図9)。この突出物の大きさは、大型樹枝状突出物よりはるかに小さく、さらに分岐傾向が乏しく、大型樹枝状突出物とは明らかに異なっているものが多かったが、大型樹枝状突出物と明瞭に区別し得ないものもみられた。なお大型樹枝状突出物でみられた、胆管分岐部での突出物相互の吻合像は、この小型樹枝状突出物ではみられなかった。この突出物は観察したいずれのレベルでもみられたが、区域胆管と領域胆管にやや密であった。その高さは250~860 $\mu\text{m}$ 位で、高さの平均値が、上述の壁外腺と胆管基底面の距離(327 $\pm$ 95 $\mu\text{m}$ )に大体一致していた。

### 3) 付着状突出物

大型樹枝状突出物や小型樹枝状突出物に比べてはるかに高さの低い突出物であり、その形態より、さらに3種に分類できた。ひとつは、直径50~170 $\mu\text{m}$ の管状突出物(図10a)である。次は直径25~100 $\mu\text{m}$ の球状物が細い茎をもって胆管につながったポリープ状突出物(図10b)である。もうひとつは、ポリープ状突出物とほぼ同大の球状物が房状につながり、茎をもって胆管に接続した房状突出物(図10c)である。胆管表面からの高さは、管状突出物では $124 \pm 51 \mu\text{m}$ 、ポリープ状突出物では $118 \pm 33 \mu\text{m}$ 、房状突出物では $148 \pm 36 \mu\text{m}$ であった。これら3種の付着状突出物の高さは、上述のホルマリン固定組織標本で計測した胆管壁の厚さの値(164 $\pm$ 34 $\mu\text{m}$ )より小さく、従って、胆管壁内の構造物と判断された。これは観察した胆管のいずれのレベルにもみられたが、区域、領域胆管にやや密であった。なお、3種の突出物の中ではポリープ状突出物が最も多くみられ、房状突出物はごく少数であった。

## 3. 正常肝内胆管の鋳型標本と組織形態像との対比

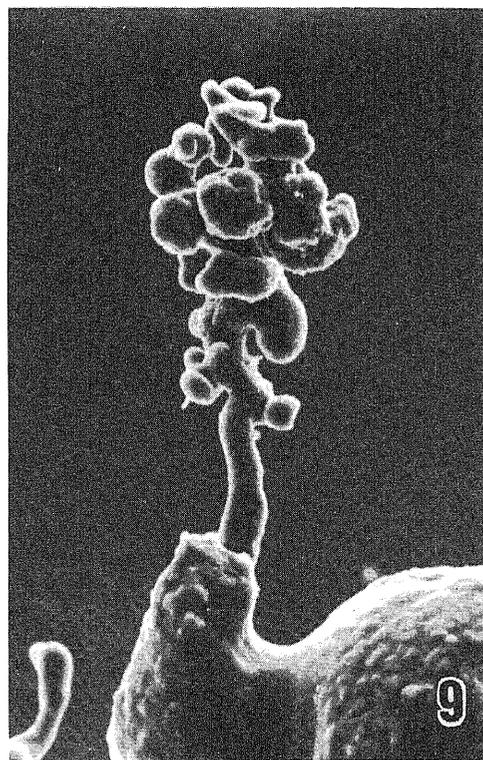


Fig. 9. A small tree-like projection with multiple pouches of intrahepatic biliary cast of normal human liver. Scanning electron microscope.  $\times 100$ .

胆管内に注入した樹脂は光学顕微鏡下で透明であるが、重屈折性を示したので、樹脂の同定は可能であった。この樹脂は胆管内腔に充満しており、胆管壁内付属腺の腔内、および壁外腺の導管腔内、また付属腺小

葉の腺管腔内にも観察された(図 11a, b)。末梢の隔壁胆管にも樹脂が充満している像が観察された。連続切片で樹脂の入っている付属腺の導管を観察すると、その一部は胆管内腔へと連続していた。しかし、この樹

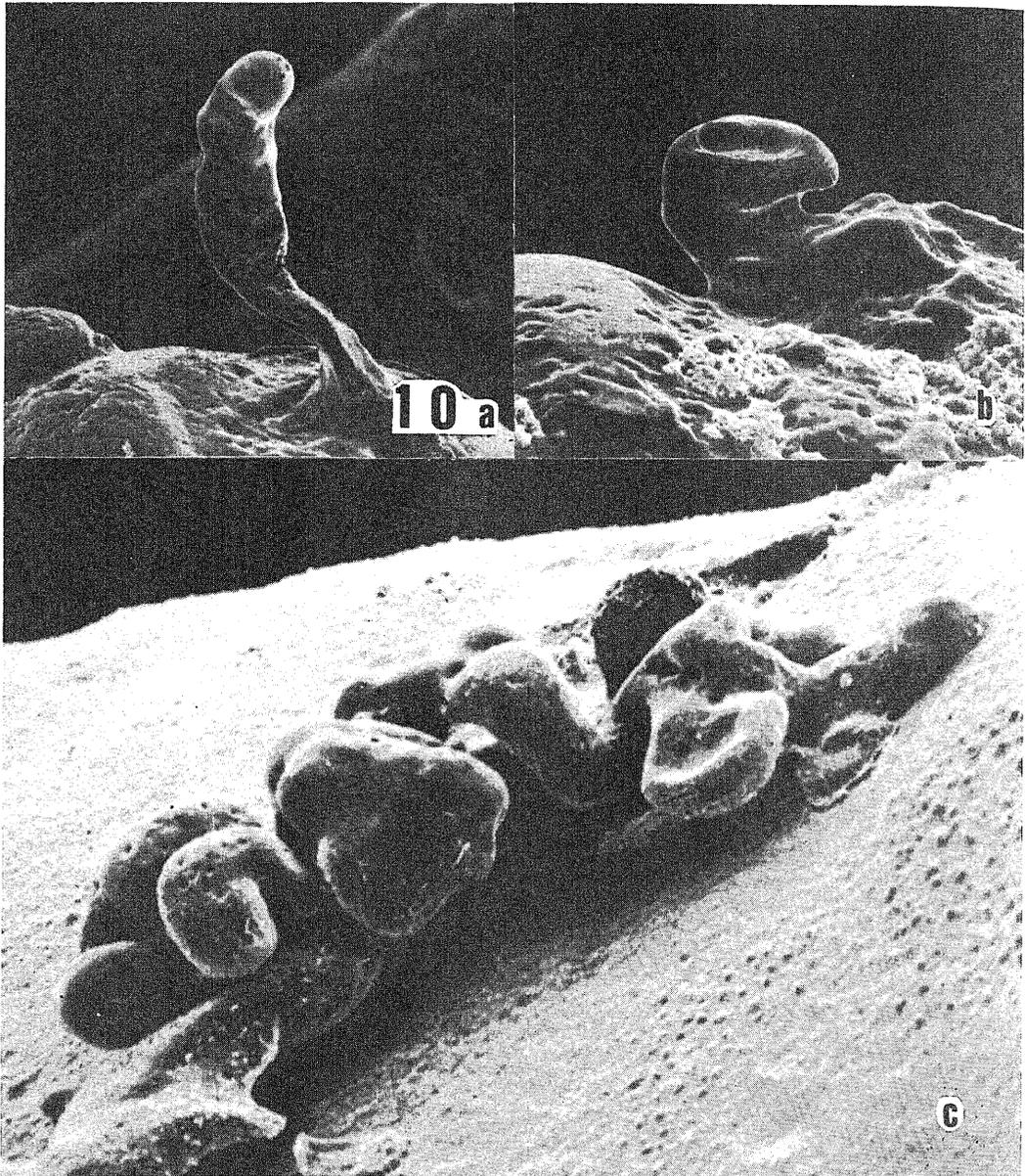


Fig.10a. A tube-like projection of intrahepatic biliary cast of normal human liver. Scanning electron microscope.  $\times 270$ .

10b. A polypoid projection of intrahepatic biliary cast of normal human liver. Scanning electron microscope.  $\times 270$ .

10c. A cluster of pouch-like projections of intrahepatic biliary bile cast of normal human liver. Scanning electron microscope.  $\times 270$

脂を入れない付属腺小葉の腺房も少なからず観察され、また、所々で、注入した樹脂がグリソン鞘の疎結合織内に漏れている像も観察された。

#### 4. 閉塞性黄疸肝の肝内胆管の観察

3例全例で、胆管は脆くなっており、また胆管性の膿瘍が多発していたので、型の如く樹脂を注入すると、胆管が破れたり、樹脂が周囲に漏れ、肝管から区域胆管レベルの完全な形の鑄型標本を作ることができなかった。しかし、観察し得た部位では、胆管の両側に大型樹枝状、小型樹枝状突出物および付着様突出物が観察され、正常肝に比べその数は増加していた。

### II. ラットの肝内胆管の観察

#### 1. 正常肝の胆管組織の光顕像

肝内の大型胆管の壁内及び壁に接して管状の腺様構造物がみられた(図12)。胆管腔基底面から腺様構造物先端部までの距離は $40.0 \pm 15 \mu\text{m}$ で、2~3次分枝での胆管壁厚は $69.1 \pm 21 \mu\text{m}$ であった。連続切片による観察では、管状胞状腺であり、少数の分枝がみられた。しかし、人の肝内胆管系にみられた壁外腺に相当する腺組織はラットの肝内大型胆管周囲の結合織内にはみられなかった。

#### 2. 正常肝内胆管鑄型標本の観察

肝内の大型胆管の表面に、上述のヒトの付着状突出物に類似した突出物が、特別な局在を示すことなく観察された(図13a, b, c)この突出物の高さは $29.4 \pm 11 \mu\text{m}$ であった。この突出物の大きさは、上述の光顕で観察した付属腺様組織の大きさに大体一致していた。また、樹脂の注入した組織切片の検討で、胆管腔内および付属腺様組織内に樹脂の入っていることが確認された。これらの突出物は肝内胆管系の1~3次分枝レベ

ルまで観察されたが、これより末梢の胆管系ではごく稀であった。なお、ヒトにみられた樹枝状構造物はみられなかった。

#### 3. 胆道閉塞肝の光顕像

胆道閉塞ラット血清の検査成績は、総ビリルビン、 $0.54 \pm 0.24 \text{ mg/dl}$  (正常値<sup>9)</sup>,  $0.30 \pm 0.05$ ) ; GOT,  $149 \pm 66.7 \text{ IU/l}$  ( $63.3 \pm 7.45$ ) ; GPT,  $23.1 \pm 4.58 \text{ IU/l}$  ( $23.9 \pm 2.28$ ) ; A1-P,  $34.8 \pm 13.6 \text{ IU/l}$  ( $27.0 \pm 7.2$ ) ;  $\gamma$ -GTP,  $4.25 \pm 1.04 \text{ IU/l}$  ( $1 \pm 0.3$ ) ; LDH,  $2312 \pm 983 \text{ IU/l}$  ( $91.2 \pm 14.2$ )であり、閉塞性肝障害を呈していた。これらの成績、および開腹時、肝外胆管および肝内大型胆管が拡張していたので、胆道閉塞とそれに伴う胆汁うっ滞が存在していたと考えられた。組織学的には、正常ラットの肝内大型胆管系にみられたと同様の腺様構造物がみられ、その数は増加し、またより外方に向かって延長していた。しかし、ヒトでみられた壁外腺はみられなかった(図14)。

#### 4. 胆道閉塞肝の肝内胆管鑄型標本の観察

総胆管から第1~第3次分枝の胆管表面に多数の付着状突出物がみられ、不規則に分枝するものが多く、隣接する分枝の一部は相互に吻合しており、胆管表面にタコ足状に、また羊歯が木に絡みつく様にみられた(図15a, b, c)。さらに、正常ラットでは稀であった、第4次以降の末梢の小胆管の表面にも同様の突出物が少なからずみられたが、大型胆管に比べその数は少なかった。

### 考 察

生体内の小管腔系の立体構築像とその変化を検索するため、従来、いくつかの方法が知られている。小管

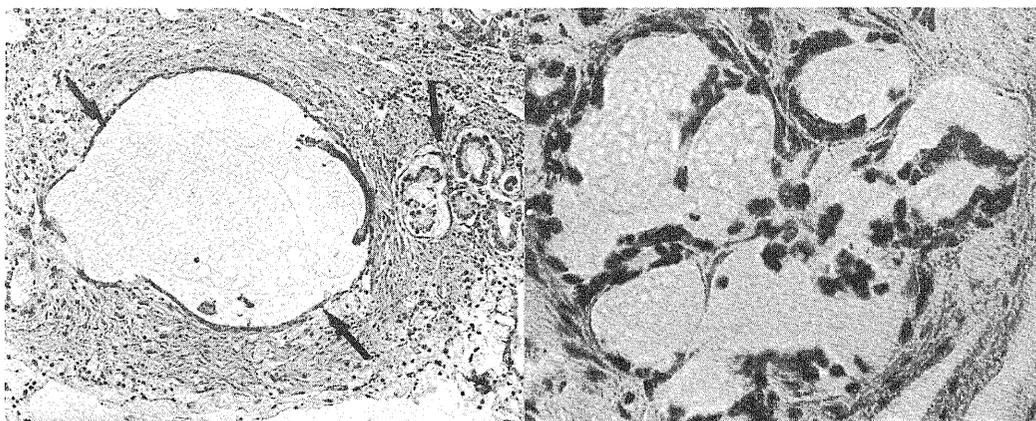


Fig. 11a. The transverse section of the right area duct of normal human liver. Injected resin are found in the area ductal lumen as well as the glandular lumina (arrows). HE stain,  $\times 80$ .  
11b. A lobule of the extramular glands containing injected resin. HE stain,  $\times 200$ .

腔系を含む組織片より多数の連続切片を作製し、目的とする管腔構造物をトレースし、これを再構築し観察する方法がよく知られている<sup>10)</sup>。最近、画像処理能を持つコンピューターによる三次元画像解析システムの設定が実用化<sup>11)</sup>、胆管系や脈管系の立体像とその病的变化の報告が相次いで成されている。また、管腔内に種々の造影剤を注入し、これを軟 X 線撮影し、心臓の血管系の変化や胆道系の病態の把握に古くより利用されている<sup>5)</sup>。また、熱硬化性樹脂を管腔内へ注入し、周囲の組織を完全に腐食、除去し、樹脂の鋳型を作製し、その形態像を検索する方法も古くより知られている<sup>8)12)</sup>。

さて、今回著者は、熱硬化性樹脂を胆管内へ注入し肝内胆管の鋳型を作製し、これを実体顕微鏡と走査電顕を中心を観察した。注入した樹脂は毛細管組織内へ注入することを目的に開発された MERCOX 樹脂とビニルモノマーである methyl methacrylate monomer と n-butyl methacrylate の混合物である。まず、肝門部胆管内へ注入した樹脂は肝内胆管腔内に充満し、さらにそれに付属する管腔組織（付属腺組織とその導管、および胆管よりの小分枝）に入っていることを、重合した後も薄切可能な柔らかさを保つ樹脂（B 配合）を注入した肝のホルマリン固定標本切片を光顕で観察することにより確認した。従って、実体顕微鏡および走査電顕で胆管表面の突出物、付着物として観察されたものの多くは胆管腔より派生する組織、特に付属腺組織（壁内腺、胆管壁外付属腺およびその導管の内腔）および大型胆管より分枝する胆管小分枝に相当すると考えられる。

今回、ヒト肝内大型胆管鋳型標本の観察で、胆管壁に付属する構造物を、その形態と大きさから大型樹枝

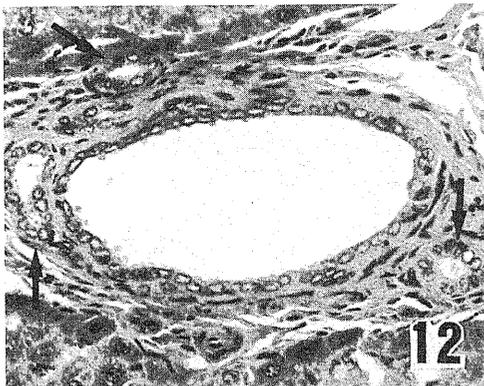


Fig. 12. A intrahepatic large bile duct of normal rat liver. A few intramular glands (arrows) are seen. HE stain,  $\times 300$ .

状突出物、小型樹枝状突出物および付着状突出物の 3 種に分類し得た。組織計測的検索より、付着状突出物は胆管壁内に存在する構造物であり、樹脂を注入した肝・胆管の組織学的検索結果からも、壁内腺に相当すると考えられた。付着状突出物は、その形態より管状突出物、ポリープ状突出物それに房状突出物に分類し得た。寺田ら<sup>9)10)</sup>により壁内腺の多くは分岐しない管状腺であることが明らかになっている。管状突出物は管状腺の内腔に樹脂が入った状態、またポリープ状突出物は腺腔が拡張した壁内腺として矛盾しない。また房状突出物は組織学的に複数の腺房の集合した壁内腺に相当すると考えられた。

一方、小型樹枝状突出物は組織計測及び組織学的検索の結果から、壁外腺に相当すると考えられた。この突出物は大型樹枝状突出物に比べ、その数は少なかったが、大型樹枝状突出物の中に少数混じって胆管の両側に規則性を以て分布していた。寺田ら<sup>9)10)</sup>は壁外腺は分岐に富む複合型の管状腺だとして述べており、いくつもの小葉状の腺組織が集まり、導管を介して胆管腔へと連続していると述べている。今回の樹脂鋳型標本での観察でも、小型樹枝状突出物の先端部ではポリープ状突出物が単独で、あるいは多数、房状につながってみられたことは、これが腺組織であることを示唆するものであり、その形態から多数の腺組織が導管へと集まって、樹枝の幹となり、胆管本幹に付着しており、光顕像と一致していた。

次に、大型樹枝状突出物は、3 種の突出物の中でその数は最も多くみられ、その一部は壁外腺に相当すると考えられた。その根拠は、組織学的に、肝内大型胆管よりかなり離れたところに壁外腺があり、長い導管を介して胆管腔へと連続しているものがあること、またこの樹枝状突出物の表面に小型樹枝状突出物の表面にみられたのと同じ房状、ポリープ状の突出物を認められた点である。肝内大型胆管の内面を実体顕微鏡で観察すると、小さい陥凹が規則性に胆管の両側に見られ(図 3)、隣接する小陥凹相互の距離と大型および小型樹枝状突出物相互の距離が大体一致していたので、小陥凹は壁外腺の導管の胆管腔への開口部に相当すると考えられる。また、一部の大型樹枝状突出物には上述した付着状突出物はなく、いくつにも分枝しており、胆管より肝実質へと向かう小分枝に相当すると考えられた。肝門部では胆管、肝動脈、門脈の分枝は必ずしも二分式様式ではなく、むしろ細かい枝が本幹から直接出て肝実質を栄養していることが最近、奥田ら<sup>13)</sup>により示唆されている。今回、肝内大型胆管の表面に見られた大型樹枝状突出物の一部もこの胆管本幹からの肝実質へ向かう分枝である可能性がある。

上述の3種の突出物は肝内大型胆管の両側に、胆管の分岐と一致した平面に配列していたが、左右の肝管及び左右区域胆管では、これらの突出物が胆管の分岐する面上のみならず、胆管表面の全周性に特別な局在

なく分布するものがあり、肝外胆管の付属腺の分布と類似していた<sup>1)3)</sup>。正常肝での左右の肝管は、多くの部分で漿膜を有する脂肪組織で囲まれており、肝外胆管の構造と類似することが知られている<sup>14)</sup>、即ち、左右の



Fig. 13a. A cast of large intrahepatic bile duct of normal rat liver. Pouch-like projections (arrows) are seen on the biliary casts. Scanning electron microscope.  $\times 120$ .

13b. An intrahepatic biliary cast of normal rat liver. Small projections (arrows) are seen around the biliary cast. Scanning electron microscope.  $\times 230$ .

13c. A pouch-like projection on the surface of biliary cast of normal rat liver. Scanning electron microscope.  $\times 1800$ .

肝管及び肝管近傍の区域胆管の付属腺が、肝外胆管の場合とほぼ同様の全周性の局在を示すことは、左右の肝管と肝外胆管系の解剖学的類似性を反映していると考えられる。

一方、正常ラットの肝内胆管系の組織学的観察から、胆管壁内およびこれに接して付属腺様組織があり、胆管鑄型標本でもその表面に、ヒトでみられたのと同様の付着状突出物が不規則に見られた。樹脂の入った組織切片での観察から、鑄型の表面にみられる構造物は胆管壁内および胆管壁に接した付属腺様組織であることが確認された。これらの突出物は分岐に乏しく、また大型の胆管にみられ、第4次分枝より末梢の小型の胆管では殆んど見られなかった。なお、ラットでは鑄型表面にヒトで見られた大型及び小型樹枝状突出物は走査電顕で観察されず、また組織切片でも壁外腺は見られなかった。

Yamamoto ら<sup>8)</sup>は、ヒト、赤毛ザル、豚、犬、モルモットの正常の肝内胆管の鑄型標本を走査電顕で観察し、その表面に side branch や pouch が配置していることを報告しているが、これらに対応する組織構造に関しては、検索していない。今回のラットを用いた研究で、鑄型の表面にみられる構造物は付属腺様組織であることが明らかとなった。さらに、この付属腺様組織が胆道閉塞下で増生、分枝、延長している像が走査電顕で明瞭に示された。

ヒトの胆道閉塞症例でも、部分的ではあるが、肝内大型胆管の表面に樹枝状および付着状突出物の増加が観察され、付属腺組織の増生に対応していると考えられる。肝内結石症や肝吸虫症では、胆管壁内腺や、壁外腺の著しい増生のみみられることが知られており、さらにその嚢胞性変化や破壊も知られている<sup>15)-19)</sup>。今

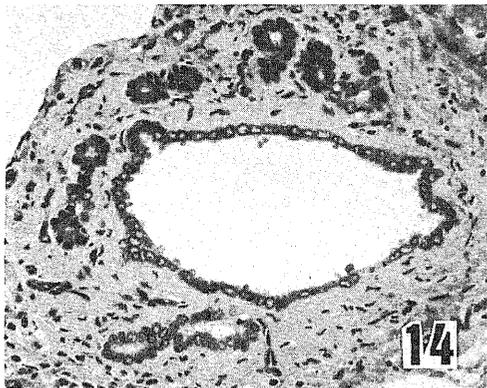


Fig. 14. A large intrahepatic bile duct of rat with extrahepatic bile duct obstruction for 3 weeks. Note the proliferation of intramural glands. HE stain,  $\times 300$ .

後、種々の病態下で人体および実験動物の肝内胆管付属腺がどのような立体的変化を示すかが課題として残った。

さて、胆管系は肝細胞より始まり、肝内で次第に合流し、左右の肝管、最終的には総胆管となり、十二指腸へと至る。そして、肝内の太いレベルや肝外胆管系には固有の付属腺組織があり、中性および酸性の粘液を産生し<sup>5)6)20)</sup>、また分泌型 IgA が組織化学的に染色され、免疫グロブリンが胆管内腔へ分泌されていることが最近の当教室の研究で次第に明らかになっている<sup>21)</sup>。そして、今回の研究で、この肝内大型胆管の付属腺組織の立体像が示され、胆汁の分泌や排泄にかなりの影響を持っていることが実感できた。

また、従来の連続切片では観察されていない、付属腺相互の吻合をヒトにおいて走査電顕で明瞭に観察し得た。同様の吻合は Yamamoto ら<sup>8)</sup>も観察しており、彼らはこれを hilar biliary plexus と呼び、ヒトと赤毛ザルにみられたが、犬、モルモット、うさぎにはみられなかったと述べている。今回の検索で、この現象は壁外腺相互の吻合によることが示された。そして、この吻合は肝内大型胆管の閉塞時に、側副路となる可能性がある。今後、病的材料を用いた検索が必要である。

## 結 論

ヒトおよびラットの肝内大型胆管の鑄型を作製し、実体顕微鏡および走査電顕で観察し、以下の知見を得た。

1. ヒトの肝内大型胆管の鑄型標本の表面に大型樹枝状突出物、小型樹枝状突出物および付着状突出物の3種の突出物が観察された。
2. これらの突出物は胆管の両側に配列し、胆管分岐部では大型樹枝状突出物相互の吻合がみられた。
3. 樹脂を注入した肝内胆管組織の光顕的観察と組織計測法により、付着状突出物は肝内胆管付属腺の壁内腺に、小型樹枝状突出物は壁外腺に、大型樹枝状突出物の一部は壁外腺に、一部は胆管より分枝し肝実質へ向かう胆管小分枝に相当すると考えられた。
4. ラットの肝内大型胆管にもその壁内および壁に接して腺組織があり、鑄型標本では付着状突出物として観察された。なお、壁外腺や樹枝状突出物はみられなかった。
5. ラットの胆道閉塞モデルでは、付着状突出物の増生と延長が観察された。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、本研究の御指導を頂きました本

学名譽教授太田五六先生，本学第二病理中沼安二教授に深く感謝します。また，貴重な御意見を頂きました恩師本学第一外科岩 喬教授に深謝します。研究に際し，御協力下さいました本学第二病理学教室の諸先生，検査技師の方々に感

謝します。また，樹脂の重合し際し，貴重な御意見を頂きました金沢大学工学部石田伸一郎教授，東京工業大学甲本忠史助手に深謝します。

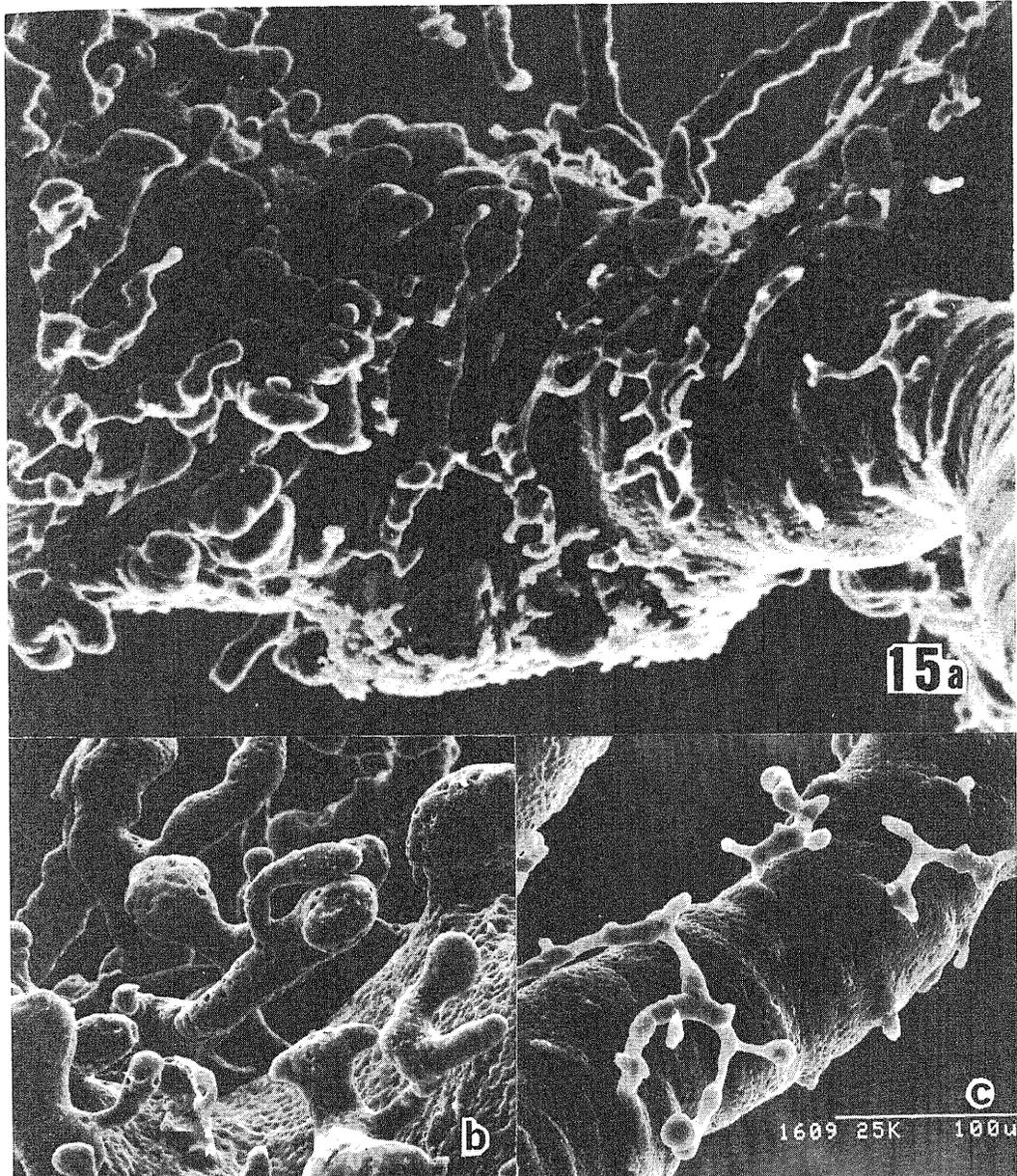


Fig. 15a. A large intrahepatic biliary cast of rat with extrahepatic bile duct obstruction for 3 weeks. Note the proliferation and the branching of pouch-like projections. Scanning electron microscope.  $\times 120$ .

15b. Proliferated and branched projections of hilar biliary cast of rat liver with extrahepatic bile duct obstruction for 3 weeks. Scanning electron microscope.  $\times 320$ .

15c. Proliferated and branched projections of biliary cast of rat liver with extrahepatic bile duct obstruction for 3 weeks. Scanning electron microscope.  $\times 260$ .

## 文 献

- 1) **Elias, H., Sherrick, J. C.**: Morphology of liver p137-185, Academic Press Inc., New York and London, 1969.
- 2) **McMinn, R. M. H. Kugler, J. H.**: The glands of the bile and pancreatic duct: auto radiographic and histochemical studies. *J. Anat.*, **95**, 1-11 (1961).
- 3) **Spitz, L. Petropoulos, A.**: The development of the glands of the common bile duct. *J. Pathol.*, **128**, 213-220 (1978).
- 4) **Masuko, K., Rubin, E., Popper, H.**: Proliferation of bile ducts in cirrhosis. *Arch. Pathol.*, **78**, 421-431 (1964).
- 5) 寺田忠史: ヒト正常肝, 肝内結石症および肝内胆管拡張症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).
- 6) **Terada, T., Nakanuma, Y., Ohta, G.**: Glandular elements around the intrahepatic bile ducts in man; Their morphology and distribution in normal livers. *Liver*, **7**, 1-8 (1987).
- 7) **Healey, J. E., Schroy, J. C.**: Anatomy of the biliary ducts within the human liver. Analysis of the prevailing pattern of branchings and the major variations of the biliary ducts. *Arch. Surg.*, **66**, 599-616 (1953).
- 8) **Yamamoto, K., Fisher, M. M., Phillips, M. J.**: Hilar biliary plexus in human liver. A comparative study of the intrahepatic bile ducts in man and animals. *Lab. Invest.*, **52**, 103-106 (1986).
- 9) **Brijm Mitruka, Howard, M., Rawnsley**: 実験動物とヒトの血液臨床. 生化学検査値集 (石井暢訳), 160-167頁, 清至書院, 東京, (1981).
- 10) **Tarada, T., Nakanuma, Y.**: Morphological examination of intrahepatic bile ducts in hepatolithiasis. *Virchow Arch. [Pathol. Anat.]* (in press), (1988).
- 11) 高橋良延, 仁尾正記, 岩間憲行, 松浦昇, 高橋徹, 伊藤正純: 3次元再構成へのコンピューター画像処理の応用. 病理と臨床, **3**, 573-578 (1985).
- 12) **Ohtani, O.**: The peribiliary portal system in the rabbit liver. *Arch. Histol. Jpn.*, **42**, 153-167 (1979).
- 13) 奥田邦夫 (私信)
- 14) 石川 功, 永井秀雄, 黒田 慧, 森岡恭彦: 肝門部胆管系の解剖, 剖検例による検討. 外科, **47**, 385-389 (1985).
- 15) **Hou, P. C.**: The pathology of *Clonorchis Sinensis* infestation of the liver. *J. Pathol. Bacteriol.*, **70**, 53-64 (1955).
- 16) **Hou, P. C.**: Pathological changes in the intrahepatic bile ducts of cats (*Felis Catus*) infested with *Clonorchis Sinensis*. *J. Pathol. Bacteriol.*, **89**, 357-364 (1965).
- 17) **Nakanuma, Y., Kurumaya, H., Ohta, G.**: Multiple cysts in the hepatic hilum and their pathogenesis. *Virchow Arch. [Pathol. Anat.]*, **404**, 341-350 (1984).
- 18) **Wanless, I. R., Zahradnik, J., Heathcote, E. J.**: Hepatic cysts of periductal origin presenting as obstructive jaundice. *Gastroenterol.*, **93**, 894-898 (1987).
- 19) 山本賢輔, 土屋涼一, 古賀政隆, 富岡 勉, 山口孝, 井沢邦英, 野田剛稔, 角田 司, 吉野僚三, 原田昇, 伊藤俊哉: 形態面からみた肝内結石症の成因と治療. 日外会誌, **85**, 9, 1109-1113 (1984).
- 20) 斉藤勝彦: 肝内胆管上皮及びその付属腺のレクチン結合能. 十全医会誌, **95**, 930-945 (1986).
- 21) 杉浦 仁: 肝疾患における肝内胆管上皮および肝内胆管付属腺上皮における各種血漿蛋白の動向とその意義. 十全医会誌, **95**, 758-776 (1986).

**Observation of the Intrahepatic Biliary Casts in Humans and Rats** Fumio Ishida,  
Department of Pathology (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J.  
Juzen Med. Soc., **97**, 461—477 (1988)

### Abstract

The three dimensional architecture of the intrahepatic biliary system and peribiliary glands were examined in humans and rats by stereomicroscopic and scanning electron microscopic observations of intrahepatic biliary casts. Biliary casts were made of resin (a mixture of MERCOX resin CL-2B, R-5, methyl methacrylate monomer and n-butyl methacrylate). In humans there were 3 types of projections on the surface of the biliary casts: large tree-like projections, small tree-like projections and pouch-like projections. These projections were distributed diffusely in the intrahepatic bile ducts and tended to be arranged on opposite sides of the biliary casts. The large tree-like projections were found to anastomose mutually at the bifurcation of the bile ductal casts. Among the three, large tree-like projections were most frequently found. By comparing the biliary casts with light microscopic findings, it was suggested that the small tree-like projections corresponded to extramural periductal glands, the pouch-like projections corresponded to intramural periductal glands, and the large tree-like projections corresponded to a part of extramural periductal glands or small bile ductal branches. In normal rats, pouch-like projections tended to be irregularly distributed on the biliary casts and seemed to correspond to intramural periductal glands. In rats subjected to bile duct ligation for three weeks, proliferation, branching and elongation of the projections were found on the biliary casts. These findings were confirmed by light microscopic examination. This study clearly demonstrated the three-dimensional architecture of the intrahepatic large bile ducts and the peribiliary glands in normal human livers and rat livers, and further disclosed three-dimensional alteration of intrahepatic biliary glands in rats with bile duct obstruction.