

閉塞性黄疸に関する実験的研究：
とくに、 γ -GTPの消長よりみた胆道感染時の胆汁排泄
路障害について

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/2297/8923

閉塞性黄疸に関する実験的研究

とくに、 γ -GTP の消長よりみた胆道感染時の 胆汁排泄路障害について

金沢大学医学部第2外科学教室（指導：宮崎逸夫教授）

小 西 一 郎

（昭和56年6月2日受付）

Key words 閉塞性黄疸, 胆道感染, 胆汁排泄路障害, γ -GTP, 酵素染色

近年、膵胆道系悪性腫瘍などによる閉塞性黄疸の治療に際し、二期的手術が一般化している。一期的減黄術の代表的なものとして、経皮経肝の胆道ドレナージ（以下、PTCDと略す）が行われているが、胆汁排泄路は確保されているにもかかわらず、十分な胆汁排出量が得られなかったり、また胆汁排泄量は充分でありながら、黄疸が遷延することがある。

教室の永川ら¹⁾は臨床的検討より、黄疸遷延因子として胆道感染が、その一つになりうることを示唆しており、浅野²⁾は実験的に、胆道感染犬においては閉塞解除後では、ICG transfer rate constantsのうち、b値とh値の回復が遅延することより、その原因として肝細胞内の障害と胆汁排泄路の障害をあげている。閉塞性黄疸の肝細胞障害に関する研究は、従来よりいくつか報告されている³⁾⁴⁾が、排泄路の障害に関しては、その研究はあまりみられず、不明の部分が多い。とくに閉塞性黄疸解除前後にわたる排泄路の障害または回復過程を、経時的に詳細に検討したものは皆無といつても過言ではない。

そこで、著者は、胆道感染が存在する場合に、この排泄路に関して、どの部位に障害が存在して黄疸が遷延するのかを明らかにしようとした。

さて、胆管酵素と呼ばれるものの中で、 γ -Glutamyl Transpeptidase（以下 γ -GTPと略す）は、毛細胆管以下の全胆汁排泄路に存在するといわれ⁵⁾、閉塞性黄疸においては、酵素組織学的にも、血中においても、著明な活性増加をみるといわれている。著者は、

この点に注目して、雑種成犬を用いて、単純胆道完全閉塞犬と、胆道完全閉塞・胆道感染犬の両群を作成し、閉塞解除前後にわたって経時的に、とくに血中ならびに胆汁中 γ -GTP値の測定を行い、さらに、 γ -GTP活性を酵素組織学的に検索した。その結果、閉塞性黄疸時の胆道感染における胆汁排泄路の障害部位ならびにその障害程度、回復状況について、2,3興味ある知見をえたので報告する。

対象および方法

I. 実験項目

本実験は、次のごとく二期に分けて、その病態の推移を検索した。

1. 総胆管完全閉塞後における肝・胆道の病態の推移。
2. 胆道閉塞解除後における肝・胆道の病態の推移。

II. 実験動物および作成法。

1. 使用動物および麻酔法

体重10 kg前後の雑種成犬を使用した。麻酔は、初回塩酸ケタミンを12.5 mg/kg皮下注射し、背臥位に固定し、以後、ペントバルビタール25 mg/回静注して維持した。

2. 対照群（単純胆道結紮犬）の作成法

上腹部正中切開にて開腹し、十二指腸近傍にて総胆管を切開し、胆汁採取用のAtom tubeを挿入して先端を総肝管の位置で固定した後、総胆管を二重結紮し、

An Experimental Study in Obstructive Jaundice of the Influence of Biliary Tract Infection, Especially about Dysfunction of the Bile Pathways in View of γ -GTP Activity.
Ichiro Konishi, Department of Surgery (II), School of Medicine, Kanazawa University.

その間を約5mm切除したものを対照群とした。Atom tubeは皮下に埋没して閉鎖し、胆汁採取時に一時的に開放した。

3. 感染群(感染付加胆道結紮犬)の作成法

以上の操作に加え、自家十二指腸液0.5mlを、Atom tubeを通じて注入したものを感染群とした。

4. 閉塞解除犬の作成法

前記の方法で対照群と感染群を作成し、閉塞14日目に、皮下埋没してあったAtom tubeを解放し、前頸部に固定して外瘻とした。

Ⅲ. 検査項目および方法

胆道閉塞解除前後にわたり、経時的に、結紮後は3,5,7,14,21日目、解除後は1,3,5,7,14,21日目の各

時期に、以下の検索を行った。

なお、血清・胆汁の検査項目の結紮前値は、データ作成に用いた犬の中で無作為に7匹を選び、血液は股静脈より、胆汁はAtom tubeを通じて総肝管胆汁を採取して検査した。さらに、結紮および解除後の各時期における採血・採胆汁も同様に行い、それぞれの時期における値は、いずれも結紮後および解除後21日目まで生き続けたものを対象とし、死亡例や屠殺例は加えていない。

1. 血液生化学的検査

1). 血清総ビリルビン値

Jendrassik - Cleghorn法。以下、血清総「ビ」値と略す。

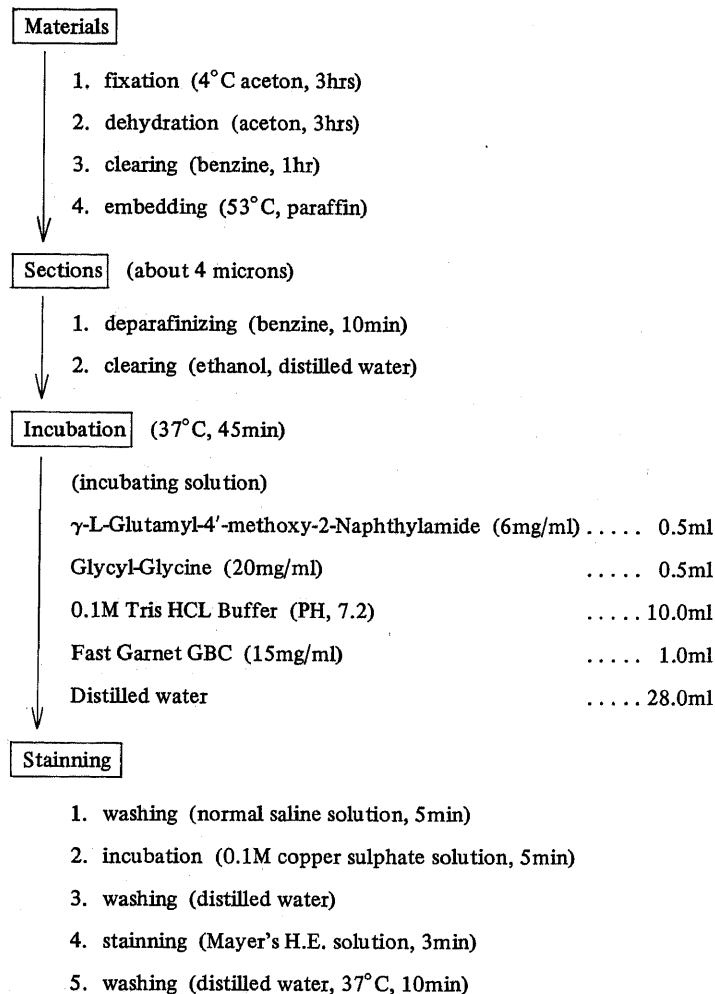


Fig. 1. Method for histochemical study on the activity of γ -GTP

2). 血清 γ -Glutamyl transpeptidase 活性値 Szasz 法. 以下血清 γ -GTP 値と略す.

3). 血清 Alkaline Phosphatase 活性値. Kind - king 法. 以下血清 AL - P 値と略す.

2. 胆汁生化学的検査

1. と同様の項目について検索した. 以下, それぞれ胆汁総「ビ」値, 胆汁 γ -GTP 値, 胆汁 AL - P 値と略す.

3. 酵素組織学的検索

毛細胆管から肝外胆管にわたり, γ -GTP 染色を行った. 肝内胆管は, 外側左葉を選びその肝門部を, 肝外胆管は, 肝葉から 1 mm 離れた部位から 3 mm の長さで採取し検査に供した. 採取ならびに染色は, 経時的に行い, 採取後は, 図 1 の方法で, 染色を行った.

なお, 染色法は Glenner らの方法⁶⁷⁾に準じた. 染色終了後すぐに鏡検して, 撮影した. また, 染色阻害剤としては硝酸鉛を用いた.

成 績

I. 総胆管完全閉塞後における病態の推移

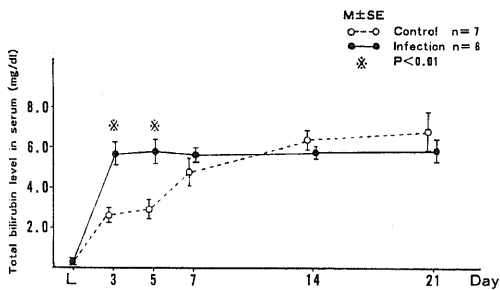


Fig. 2. Changes of total bilirubin level in serum after bile duct ligation
L: ligation

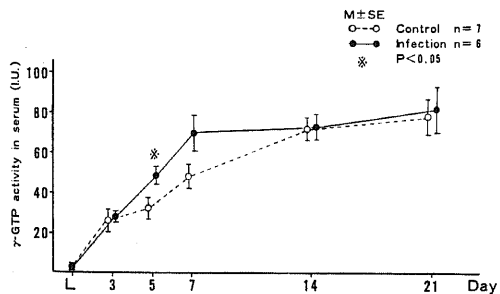


Fig. 3. Changes of γ -GTP activity in serum after bile duct ligation
L: ligation

1. 血液生化学的検査

1). 血清総「ビ」値 (図 2)

対照群は結紮後徐々に上昇し, 14 日目ではほぼピークとなり, その後は横這いとなった. それに対し, 感染群は結紮 3 日目で急峻な上昇をみ, 以後横這いであった.

各時期での対照群と感染群の値は, 結紮前値は 0.23 ± 0.02 mg/dl であり, 3 日目で 2.61 ± 0.37 mg/dl と 5.65 ± 0.59 mg/dl ($p < 0.01$), 5 日目で 2.93 ± 0.47 mg/dl と 5.78 ± 0.60 mg/dl ($p < 0.01$) と, 有意の差で感染群の方が高かったが, 7 日目以降は明らかな差はみられず, 結紮 21 日目では 6.83 ± 0.97 mg/dl と 5.85 ± 0.57 mg/dl となった.

2). 血清 γ -GTP 値 (図 3)

両群とも結紮後徐々に上昇し, 対照群では 14 日目に, 感染群では 7 日目にほぼピークとなった後は横這いを示した.

各時期での対照群と感染群の値は, 結紮前値が 2.5 ± 0.3 IU で, 以後 5 日目で 32.0 ± 5.2 IU と 48.6 ± 4.6 IU ($p < 0.05$), 7 日目で 47.9 ± 5.9 IU と $69.6 \pm$

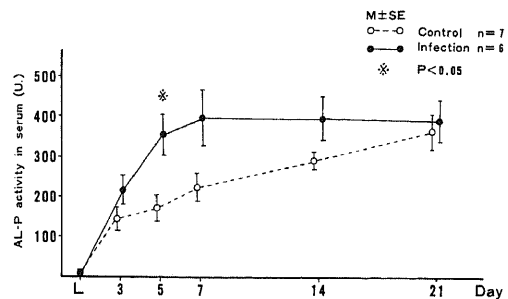


Fig. 4. Changes of AL-P activity in serum after bile duct ligation
L: ligation

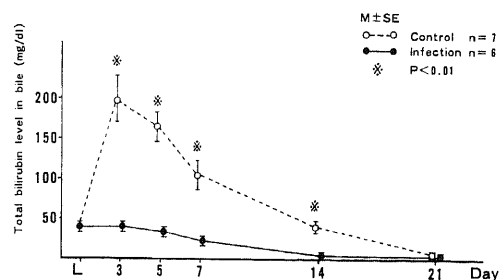


Fig. 5. Changes of total bilirubin level in bile after bile duct ligation
L: ligation

8.9IUと感染群が高かったが14日目以降は両群間に差はみられなかった。

3). 血清AL-P値(図4)

両群とも結紮後徐々に上昇したが、対照群は21日目にピークとなったのに対し、感染群は7日目にピークとなった後は横這いを示した。

各時期での対照群と感染群の値は、結紮前値が6.34 ± 0.52Uで、5日目では170.9 ± 32.7Uと355.3 ± 50.5U(p < 0.05), 7日目で223.0 ± 35.0Uと397.0 ± 71.6Uで、感染群の方が有意に高いが、以後はほとんど差はみられなかった。

2. 胆汁生化学的検査

1). 胆汁総「ピ」値(図5)

対照群は結紮3日目に急峻な上昇をみ、以後漸減したが、感染群は結紮後徐々に低下して、14日目にはほぼ白色胆汁となった。

各時期における対照群と感染群の値は、結紮前が41.53 ± 5.34 mg/dlで、3日目で199.70 ± 27.70 mg/dlと39.83 ± 6.02 mg/dl(p < 0.001), 5日目で165.30 ± 20.48 mg/dlと33.60 ± 6.67 mg/dl(p <

0.001), 7日目で104.57 ± 18.51 mg/dlと24.23 ± 4.29 mg/dl(p < 0.01), 14日目で40.97 ± 6.96 mg/dlと4.24 ± 0.88 mg/dl(p < 0.01), 21日目には5.26 ± 0.79 mg/dlと0.47 ± 0.12 mg/dl(p < 0.01)であり、いずれも明らかな差で感染群の方が低値を示した。

2). 胆汁γ-GTP値(図6)

対照群は結紮後急激に上昇し、7日目でピークをとった後は漸減した。これに対して感染群は3日目で低いピークをとり、以後漸減した。

各時期における対照群と感染群の値は、結紮値は26.8 ± 4.6IUであり、5日目で269.6 ± 30.8IUと87.8 ± 18.7IU(p < 0.001), 7日目で281.7 ± 34.8IUと74.7 ± 16.9IU(p < 0.001), 14日目で155.6 ± 20.2IUと64.3 ± 11.5IU(p < 0.01), 21日目で68.3 ± 8.9IUと29.4 ± 4.6IU(p < 0.01)であり、いずれも感染群の方が有意の差で低い値を示した。

3). 胆汁AL-P値(図7)

対照群は結紮後3日目にピークをとって以後漸減し、感染群は7日目に低いピークをとって以後漸減した。全体としては感染群の方が低い傾向にあるが、明らかな差としてとらえることはできなかった。

各時期における対照群と感染群の値は、結紮前値が24.93 ± 2.08U、3日目で286.6 ± 61.7Uと100.9 ± 27.9U、5日目で207.9 ± 21.3Uと98.9 ± 18.2U(p < 0.01)で、以後21日目で78.3 ± 19.1Uと59.6 ± 17.5Uであり、5日目のみ両者間に差がみられた。

3. 酵素組織学的検査

胆管の名称は、中沼⁸⁾の分類に基づいた。

結紮前の正常肝では、小葉周辺部の毛細胆管が狭い範囲で染色され、細胆管・小葉間胆管は、そのすべてが染色されるとは限らず、隔壁性胆管・大胆管・肝外胆管は染色されなかった。(写真1)

結紮5日目の対照群では毛細胆管の染色される範囲はかなり広くなり、細胆管・小葉間胆管もほとんどすべて染色されてきた。(写真2)。また肝外胆管も染まり始めた。これに対して結紮5日目の感染群では、毛細胆管の染色性はピークとなり、細胆管・小葉間胆管もはっきりと染色された。(写真3)。しかし胆外胆管は染色されなかった。

7日目から14日目では対照群の染色性がピークとなって、毛細胆管の拡張や側枝、さらに増生した細胆管も染色されてきた。(写真4)。これに対して感染群では逆に染色性が低下してきている。

21日目には両群ともに染色性は、対照群の肝外胆管を除き、ほぼ結紮前の状態まで低下したが、対照群の

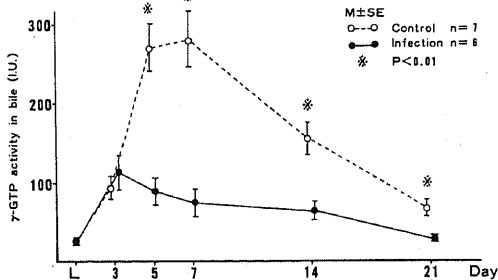


Fig. 6. Changes of γ -GTP activity in bile after bile duct ligation

L: ligation

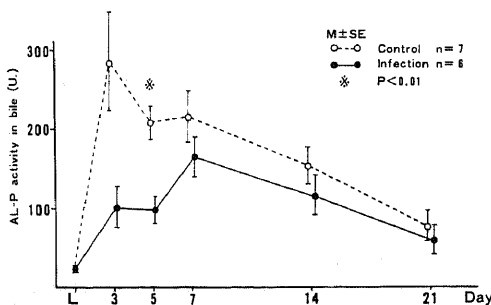


Fig. 7. Changes of AL-P activity in bile after bile duct ligation

L: ligation

Table 1. Histochemical study on the γ -GTP activity after bile duct ligation

	Bile canaliculi		Bile ductule & Interlobular bile duct		Septal bile duct & Large bile duct		Extrahepatic bile duct	
	Control	Infection	Control	Infection	Control	Infection	Control	Infection
Normal	(+)~(++)		(-)~(+)		(-)		(-)	
3rd day	(+)~(++)	(++)	(+)	(+)~(++)	(-)~(+)	(-)~(+)	(-)	(-)
5th day	(++)	(++)~(+++)	(+)~(++)	(+)~(++)	(+)	(-)~(+)	(-)~(+)	(-)
7th day	(+++)	(+)	(+)~(++)	(+)~(++)	(+)	(-)~(+)	(+)	(-)
14th day	(+++)	(+)	(+)~(++)	(-)~(+)	(+)	(-)	(+)~(++)	(-)
21st day	(+)	(+)	(+)	(-)~(+)	(+)	(-)	(+)~(++)	(-)

(-): Negative, (+): Moderate, (++): Strong, (+++): Very strong

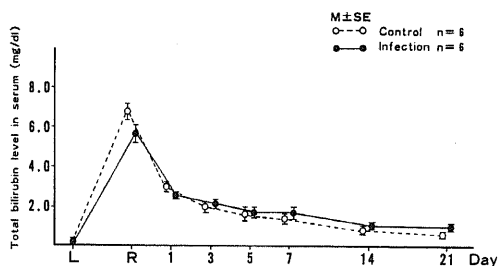


Fig. 8. Changes of total bilirubin level in serum after bile duct releasing
L: ligation R: release

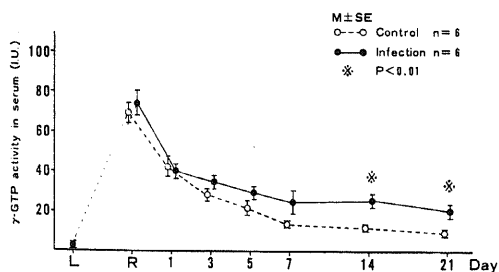


Fig. 9. Changes of γ -GTP activity in serum after bile duct releasing
L: ligation R: release

肝外胆管の染色性は最高となっている。(写真5)。

以上の結果をまとめると、表1のごとくとなる。

II. 胆道閉塞解除後における病態の推移

1. 血液生化学的検査

1). 血清総「ビ」値 (図8)

閉塞解除後は両群とも徐々に低下し、21日目では、対照群で 0.60 ± 0.17 mg/dl, 感染群で 0.92 ± 0.12 mg/dl と、ほぼ結紮前値に近づいた。全体として、有意の差とはいえないまでも、感染群の方がやや高い値で推移した。

2). 血清 γ -GTP値 (図9)

両群とも解除後徐々に低下して、21日目では、対照群はほぼ結紮前値に近くなったが、感染群では依然として高い値を示した。

対照群と感染群の各時期における値は、7日目では 13.7 ± 1.3 IU と 24.8 ± 5.4 IU ($p < 0.01$)、21日目では 9.8 ± 1.9 IU と 20.2 ± 3.2 IU ($p < 0.01$) と、感染群の方が高い値を示した。

3). 血清AL-P値 (図10)

解除後は両群とも徐々に低下したが、21日目でも、対照群が 35.47 ± 8.04 U, 感染群が 67.34 ± 10.26 U と、両群とも結紮前値よりもかなり高い値を示した。全体に感染群の方が高い傾向にあるが、有意の差としてはみられなかった。

2. 胆汁生化学的検査

1). 胆汁総「ビ」値 (図11)

両群とも解除1日目では、解除時に比べても、また結紮前値に比べても高い値を示して、以後徐々に低下

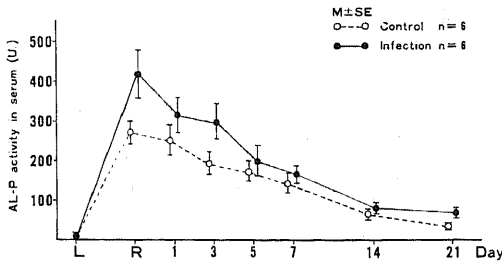


Fig. 10. Changes of AL-P activity in serum after bile duct releasing
L: ligation R: release

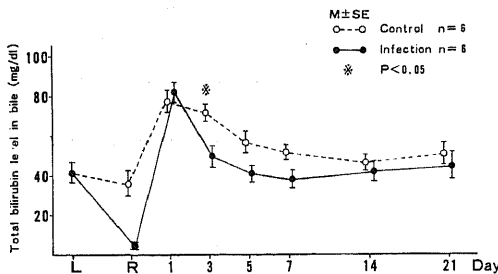


Fig. 11. Changes of total bilirubin level in bile after bile duct releasing
L: ligation R: release

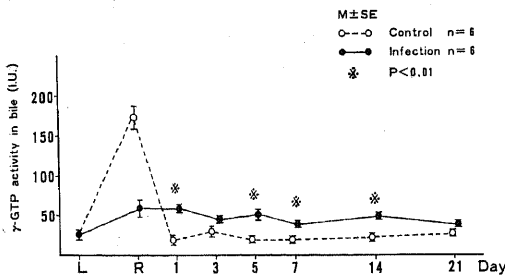


Fig. 12. Changes of γ -GTP activity in bile after bile duct releasing
L: ligation R: release

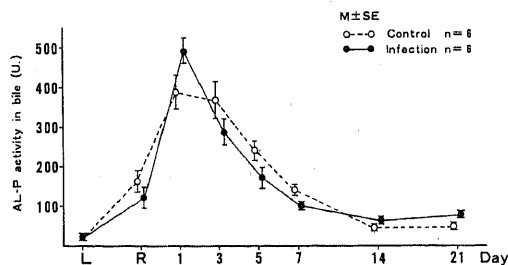


Fig. 13. Changes of AL-P activity in bile after bile duct releasing
L: ligation R: release

して結紮前値に近づいた。

各時期における対照群と感染群の値は、解除時で 35.80 ± 6.48 mg/dl と 4.15 ± 1.08 mg/dl, 1 日目で 77.33 ± 5.62 mg/dl と 81.68 ± 4.77 mg/dl で、3 日目は 71.13 ± 4.16 mg/dl と 49.05 ± 5.05 mg/dl ($p < 0.05$), 7 日目で 51.34 ± 3.33 mg/dl と 37.78 ± 4.91 mg/dl と、感染群の方が低い値を示したが、14 日目以降は両群ともほぼ結紮前値と近くなった。

2). 胆汁 γ -GTP 値 (図 12)

対照群は解除後 1 日目で、ほぼ結紮前値となった後は横這いであったのに対し、感染群は解除後も、解除時とほぼ同じ様な値をとったまま横這い傾向を示しながら漸減したが、両群とも 21 日目にはほぼ同じ値となった。

各時期における対照群と感染群の値は、解除時に 172.7 ± 13.5 IU と 59.2 ± 10.4 IU であったが、1 日目で 18.1 ± 4.7 IU と 57.5 ± 5.7 IU ($p < 0.001$), 3 日目で 28.2 ± 6.6 IU と 45.4 ± 4.4 IU ($p < 0.05$), 5 日目で 17.9 ± 4.6 IU と 50.2 ± 5.6 IU ($p < 0.001$), 7 日目で 17.3 ± 3.7 IU と 38.0 ± 4.7 IU ($p < 0.01$), 14 日目で 21.2 ± 4.9 IU と 47.2 ± 4.5 IU ($p < 0.01$) と、3 日目を除き、いずれも明らかに感染群の方が高い値を示したが、21 日目ではほぼ両群間に差はみられなくなっている。

3). 胆汁 AL-P 値 (図 13)

両群とも解除 1 日目には急激な上昇をみ、その後は次第に低下した。

各時期における対照群と感染群の値は、解除時 162.0 ± 28.2 U と 119.5 ± 7.0 U, 1 日目では 386.7 ± 44.2 U と 492.5 ± 33.0 U, 3 日目で 365.2 ± 47.3 U と 492.5 ± 33.0 U, 3 日目で 365.2 ± 47.3 U と 286.2 ± 32.5 U で、以後 21 日目には 48.4 ± 9.8 U と 79.8 ± 9.1 U であった。

3. 酵素組織学的検索

閉塞解除後の酵素組織学的所見では、対照群は解除時(結紮 14 日目)に染色性がほぼピークであったのが、閉塞解除とともに徐々に正常状態に近づき、14 日目にはほぼ結紮前の状態に復した。(写真 6), これに対して感染群は、解除とともに染色性が再び増し、解除前には染色されなかった肝外胆管までもが、1 日目より染色されるようになった。(写真 7),そして 21 日目になっても毛細胆管の染色性は、結紮前の状態には復しておらず、所々拡張したままのものもみられた。(写真 8)。

閉塞解除後の酵素組織学的検索の結果をまとめると、表 2 のようになる。

Table 2. Histochemical study on the γ -GTP activity after bile duct releasing

	Bile canaliculi		Bile ductule & Interlobular bile duct		Septal bile duct & Large bile duct		Extrahepatic bile duct	
	Control	Infection	Control	Infection	Control	Infection	Control	Infection
Normal	(+) (Moderate)		(-)~(+) (Moderate)		(-) (Negative)		(-) (Negative)	
1st day	(++) (Strong)	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(+) (Moderate)	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(+) (Moderate)	(+)~(++) (Moderate to Strong)
3rd day	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(++) (Strong)	(+) (Moderate)	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(-)~(+) (Moderate)	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(-)~(+) (Moderate)	(+)~(++) (Moderate to Strong)
5th day	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(++) (Strong)	(+) (Moderate)	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(-)~(+) (Moderate)	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(-) (Negative)	(+) (Moderate)
7th day	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(++) (Strong)	(+) (Moderate)	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(-) (Negative)	(-)~(+) (Moderate)	(-) (Negative)	(-)~(+) (Moderate)
14th day	(+) (Moderate)	(++) (Strong)	(-)~(+) (Moderate)	(+) (Moderate)	(-) (Negative)	(-)~(+) (Moderate)	(-) (Negative)	(-) (Negative)
21st day	(+) (Moderate)	(+)~(++) (Moderate to Strong)	(-)~(+) (Moderate)	(-)~(+) (Moderate)	(-) (Negative)	(-) (Negative)	(-) (Negative)	(-) (Negative)

(-): Negative, (+): Moderate, (++): Strong

考 察

閉塞性黄疸に胆道感染が加わった場合、血清総「ビ」値がさらに上昇することは、Huang⁹⁾や浅野²⁾の実験で認められているが、なぜ上昇するかについては不明である。浅野²⁾は、閉塞性黄疸における胆道感染の影響についての実験的研究から、肝細胞より胆管への胆汁の移行遮断の原因として、肝細胞自体の障害と胆汁の排泄路の障害をあげ、胆道感染ではむしろ前者の影響の方が大であるとの仮説をたてている。しかし、この仮説は、ICG transfer rate constants¹⁰⁾ すなわち K.a.b.h 値の推移からみた結論であり、直接的な証明はなされていない。胆道感染が上行感染によって惹起される頻度が高いことを考えると、細菌の直接的な繁殖巣となる胆管すなわち胆汁排泄路の障害は決して無視することはできず、とくに浅野の仮説においても、肝細胞より胆管への胆汁移行障害部位が毛细胆管とするときは、その成績は何ら矛盾することはないと考えられた。

このような観点から、著者は、閉塞性黄疸解除後の黄疸遷延因子の一つである胆道感染¹²⁾において、とくに胆汁排泄路の障害に注目したわけである。

実験結果をみると、感染群では、血清総「ビ」値は結紮後3日目で既に急峻な上昇を認めたのに対し、胆汁総「ビ」値は結紮前値とほとんど変りがなく、さらに对照群に比べて早期に白色胆汁となった事実を考えると、前述の浅野²⁾の推論を裏づけているといえる。

γ -GTP は、1950年 Hanes¹¹⁾が、グルタチオンの分解反応を Glycyl - Glycine が活性化するということが明らかにし、1960年、Szewczuk¹²⁾らが合成基質を用いた測定法を開発して以来、肝・胆道疾患における臨床検査法として用いられるようになった。閉塞性黄疸では血清 γ -GTP 値は著明に上昇することは、実験的にも臨床的にも知られている事実であるが¹³⁾⁻¹⁵⁾、胆汁中 γ -GTP 値の変動について、それを直接的に検討している報告はみられない。

著者の実験では、血清 γ -GTP 値は閉塞とともに上昇し、しかも感染群の方が高い傾向にあり、14日目以降は両群間にほとんど差がなく横這いとなった。これに対して胆汁 γ -GTP 値は、对照群が5日目以降有意で高い値をとり、しかもほぼその時期をピークとして次第に低下傾向を示したが、感染群では3日目で低いピークをとり次第に低下した。すなわち、以上の γ -GTP 値の推移を考察すると、閉塞性黄疸では γ -GTP の生成亢進はみられないとの報告もあるが、著者の実験でみる限り、まず对照群においては、閉塞初期に胆汁中への排泄の増加とともに血中への移行をみ、つづいて閉塞期間の延長とともに、次第に排泄路の障害と肝細胞での生成低下がおこり、さらに胆管での再吸収が加わって胆汁 γ -GTP 値が低下してくるものと考えられた。一方、胆道感染群においては、閉塞初期より对照群と同様に生成亢進はみられるものの、胆汁中にはそれぞれが明らかには反映されてきていない。すなわち、この事実は何らかの原因で胆管へ

の移行障害があることが存在していることを示唆しているものとする。

さて、同じく胆管酵素の一つである AL - P については、Gutman¹⁶⁾の総説をはじめ数多くの報告がみられているが、Sebesta¹⁷⁾、鈴木¹⁸⁾、Kaplan¹⁹⁾らは、実験的に胆管結紮時の血中活性の増加を報告している。

著者の実験結果でも、血清 AL - P 値は結紮後徐々に上昇し、感染群の方が高い傾向にあったが、5日目を除いて両群間に有意の差はみられなかった。また胆汁 AL - P 値は、7日目まで上昇して以後漸減したが、こちらは感染群の方が低い値を示し、5日目を除いて両群間に有意の差はみられなかった。AL - P 値の推移をみると、血清・胆汁ともに γ - GTP 値の推移とよく似た態度をとっているが、胆汁の値では γ - GTP 程両群間にはっきりとした差異を認めていない。これは、AL - P の値の個体差が大きかったためと、AL - P が胆汁よりむしろ血中に移行しやすい酵素であるためではないかと考えている。AL - P が血中に移行しやすい酵素であることは、TANAKA²⁰⁾や鈴木ら²¹⁾が報告しているように、閉塞性黄疸では酵素組織学的に、 γ - GTP の sinusoid での染色性がほとんど変化をみないのに対し、AL - P は sinusoid での染色性が著明に増加するという所見からも推察できる。

いずれにしろ、AL - P も γ - GTP と同様に胆道感染が加わることにより胆汁中への排泄が障害されるものと推論できるが、AL - P よりも γ - GTP の方が、より胆汁排泄路である胆管の状態をよく反映する酵素であるといえよう。

γ - GTP の酵素組織学的な検索はいくつかみられるが^{5)~7), 20)~23)}、閉塞性黄疸では毛細胆管や胆管上皮の活性が増加することが知られているのみで、それがどのように推移していくかということは未だ不明である。

著者の実験の結果では、対照群は7日目から14日目で染色性がピークとなるが、感染群ではそれが5日目であり、閉塞期間がそれ以上になると、対照群の肝外胆管を除いて、両群とも逆に染色性は低下してきた。すなわち、胆道感染が γ - GTP の染色性に及ぼす影響が大であることが推測されるが、両群とも γ - GTP の染色性が一度は増加してピークをとった後に低下してくるのは、閉塞期間が長くなるにつれ肝細胞そのものの障害がおこって、その生成が低下してくるためではないかと考えている。

さて、ここで、閉塞5日目の γ - GTP の染色性と胆汁 γ - GTP 値に注目したい。すなわち、 γ - GTP の染色性には両群間にほとんど差はみられないにもかか

わらず、胆汁中 γ - GTP 値には両群間に大きな差がみられ、感染群において低値を示している。このことは、同時期における感染群の強い胆汁排泄路障害を示唆しており、しかも、感染群における障害部位は毛細胆管から小葉間胆管のレベルでの障害であると推定される。

しかし、ここで一つの疑問点が出る。すなわち、胆汁 γ - GTP 値と大きな胆管における染色性との間にズレが生じていることである。対照群においては、閉塞14日目、21日目で隔壁性胆管以下の大きな胆管の染色性が増加しているのに、それが胆汁 γ - GTP 値には反映されておらず、感染群においても大きな胆管の染色性が増大している時期でも、胆汁 γ - GTP 値にそれ程影響を与えていない事實は、胆汁 γ - GTP 値の増減には肝細胞に近いレベルでの活性の増減が大きな影響を与えるのであって、大きな胆管における活性値の増減は、それ程影響を与えないのではないかと考えざるをえない。

この際、当然、胆汁 γ - GTP 値の十二指腸液混入による不活化も考慮に入れなければならない。著者は、この点についても基礎実験を行っているが、それは充分否定しうるものと考えている。

さて、著者は、 γ - GTP の肝での生成亢進を、肝ホモジネートによる肝 γ - GTP 活性そのものの測定でなく、とくに毛細胆管の染色性の増大を中心にして説明したわけであるが、川口²⁴⁾は、ラットによる実験より、閉塞性黄疸においては肝組織中の γ - GTP 生成亢進はおこらないとしている。しかし、小山ら²⁵⁾は、犬による実験で、閉塞性黄疸の肝 γ - GTP は高値を示すものもあったとしており、さらに AL - P において、閉塞性黄疸で生成亢進が認められている¹⁷⁾¹⁹⁾ことより、 γ - GTP も閉塞性黄疸で生成亢進がおこる可能性は高いものと考えている。

以上、閉塞性黄疸における胆道感染の病態生理を実験的に、 γ - GTP を中心に検討した結果、胆道感染が胆汁排泄路である胆管に与える影響について、若干の知見をえたが、さらに、これらの病態が胆道ドレナージ後どのように回復するかということも、黄疸遷延因子を考える上で重要である。

閉塞14日目で解除を行ったのは、Aronsen²⁶⁾、小川²⁷⁾、白川²⁸⁾らの実験により、肝障害の回復可能な時期は、ほぼ閉塞14日目であること、教室における一連の閉塞性黄疸に関する実験からも、閉塞性黄疸によってもたらされる肝の病態が、ある程度完成される時期が閉塞14日目であることなどの結果に基づいている。

閉塞解除後、血清総「ピ」値は、感染群の方がやや

黄疸遷延傾向を示したが、両群間には、はっきりした差異は認められなかった。これは、本実験における胆道感染犬で、14日まで生存して閉塞解除をうけたものは、胆道感染の程度が中等度以下のものであったためであろうと考えている。

一方、胆汁総「ビ」値では感染群の方が低い傾向にあり、とくに3日目では有意差をもって低くなっており、減黄効果を論ずる場合1日総排出量でみることの方も重要であるが、その濃度でみ限り、血液生化学的に差異はなくても、やはり感染群の方が減黄術後、黄疸遷延する可能性が高いことを示唆している。

閉塞解除後の血清 γ -GTP値は、胆管の状態を反映しながら推移するといわれるが、著者の実験成績をみると、全体的に感染群の回復が悪く、とくに14日目と21日目で有意の差をみている。

しかし、胆汁 γ -GTP値とみると、こちらも感染群の方が有意に高くなっている。血中・胆汁中ともに感染群の方が高いということは、総「ビ」値のように、血中から胆汁中への排泄ということのほか、胆管の病変が依然として残っていて、 γ -GTPの生成亢進が継続していることを示唆しているものと考えている。

一般的に血清AL-P値は、減黄術後、 γ -GTPと同様、次第に回復するといわれるが、著者の実験では、両群とも徐々に回復するものの、やはり感染群の方が高い値を示す傾向があった。

一方、胆汁AL-P値は、両群とも解除1日目では結紮後のピークよりも高い値をとった後、徐々に低下したが、やや感染群の方が低い傾向にあった。解除1日目で、両群ともなぜ高い値をとるかということに関しては、血中から胆汁中への排泄増加がおこるためであるとも考えられるが、Kaplan¹⁹⁾やSchimke²⁹⁾らのように、タンパク合成の亢進の結果としての排泄増加も充分推定される。

次に、閉塞解除後の γ -GTPの酵素組織学的検索の結果をみると、感染群では対照群に比べ、全体として染色性が大で、解除前には染色されなかった肝外胆管が、3日目まで染色され、毛細胆管の染色性は、対照群では14日目にはすでに正常に復したにもかかわらず、感染群では21日目でも依然として正常に復さなかった。さらに解除14日目の血清・胆汁 γ -GTP値、 γ -GTPの染色性についてみると、血清・胆汁 γ -GTP値には両群間に明らかな差があるにもかかわらず、毛細胆管を除いた他の部の染色性には、両群間に差はみられていない。したがって、血清・胆汁 γ -GTP値には、毛細胆管における活性の変化が大きなウェートを占めていることがわかる。

以上のことより、胆道感染における排泄路障害部位として、先にあげた毛細胆管から小葉間胆管のうち、主たる障害部位は毛細胆管であることが結論づけられたと考えている。

なお、この障害がどのような種類の障害であるかは今後の検討課題であるが、織田³⁰⁾がいうように、Bile canaliculi microfibrilmentの胆汁移送障害も充分考えられるところである。

以上、閉塞性黄疸における胆道感染時の胆汁排泄路障害部位は、 γ -GTPの血中・胆汁中の測定ならびに酵素染色の成績より、主として毛細胆管にあると結論づけたが、著者はさらに、以上の実験結果から、臨床的にPTCD施行時、血清総「ビ」値と血清 γ -GTP値が高いにもかかわらず、胆汁総「ビ」値と胆汁 γ -GTP値が低い場合には、かなりの閉塞期間を経ていると判断しようと考えている。

結 論

著者は、閉塞性黄疸における胆道感染の胆汁排泄路に及ぼす影響を追求するため、雑種成犬を用いて、単純胆道完全閉塞犬と、胆道完全閉塞・胆道感染犬の両群を作成し、閉塞解除前後にわたって経時的に、とくに血中ならびに胆汁中 γ -GTP値の測定を行い、さらに、 γ -GTP活性を酵素組織学的に検索した。その結果、以下の知見を得た。

1. 血清総「ビ」値は、感染群で閉塞3日目に急峻な上昇をみた。胆汁総「ビ」値は、感染群では低値を示した。
2. 血清 γ -GTP値は、感染群の方が高い傾向にあり、とくに閉塞解除14日目と21日目において、明らかな差をみた。胆汁 γ -GTP値も、閉塞5日目以降、両群間に明らかな差をみた。
3. 血清AL-P値は、感染群では高い値をとる傾向があるが、胆汁AL-P値は、感染群では低い値をとる傾向にあった。しかし、両群間に有意の差をみなかった。
4. 酵素組織学的検索では、対照群は閉塞7日目から14日目に、感染群は閉塞5日目に、 γ -GTP活性のピークをみたが、閉塞期間の延長とともに肝内胆管系の活性は低下した。閉塞解除後は、感染群の方が正常に復する程が遅延した。これらの変化は、とくに毛細胆管において顕著であった。

以上より、閉塞性黄疸では胆道感染が黄疸遷延因子となる可能性が高く、胆汁排泄路に与える主たる障害部位は、毛細胆管であることが判明した。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜った宮崎逸夫教授に謹んで謝意を捧げるとともに、終始直接御教示を戴いた永川宅和講師に篤く感謝の意を表します。さらに、 γ -GTP染色を直接御教示戴いた東京慈恵会医科大学病理の田中貢助教授と、病理組織学的所見について御教示戴いた金沢大学第二病理学教室の中沼安二講師に深謝いたします。

文 献

- 1) 永川宅和, 宮崎逸夫: 悪性閉塞性黄疸の外科的治療成績と問題点. とくに黄疸遷延因子について. 日消外会誌, **10**:729~735, (1977)
- 2) 浅野栄一: 閉塞性黄疸に関する実験的研究. 黄疸遷延因子の追求, とくに胆道感染について. 十全医誌, **87**:498~517, (1978)
- 3) 永川宅和, 佐々木結昭, 浅野栄一, 宮崎逸夫: 閉塞性黄疸における肝の病態. とくに肝細胞機能障害を中心とした実験的研究. 日消病会誌, **76**:1691~1701, (1979)
- 4) 小山研二, 佐藤寿雄: 閉塞性黄疸肝のミトコンドリア機能について. 肝臓, **20**:579~585, (1979)
- 5) Naftalin, L., Chiled, V. J. & Morley, D. A.: Observations on the site of origin of serum γ -Glutamyl transpeptidase. Clin. Chim. Acta, **26**:297-300, (1969)
- 6) Glenner, G. G. & Folk, J. E.: Glutamyl peptidases in rat and guinea pig kidney slices. Nature **192**:338-340, (1961)
- 7) Glenner, G. G., Folk, J. E. & Mcmillan, P. J.: Histochemical demonstration of a γ -Glutamyl transpeptidases-like activity. J. Histochem. Cytochem. **10**:481-489, (1962)
- 8) 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)
- 9) Huang, T., Bass, J. A., & Williams, R. D.: The significance of biliary pressure in cholangitis. Arch Surg. **98**:629-632, (1969)
- 10) 浪久利彦, 南部勝司: ICG (付BSP) - その数値をどう読むか -. 日臨床, **34**, 秋季増刊号:203~219, (1976)
- 11) Hanes, C. S., Hind, F. J. R. & Isherwood, F. A.: Synthesis of peptides in enzymic reactions involving glutathion. Nature, **166**:288-292, (1950)
- 12) Szewczuk, A., & Drlowski, M.: The use of α -(N- γ -DL-Glutamyl) γ -aminonitriles for the colorimetric determination of a specific peptidase in blood serum, Clin. Chim. Acta. **5**:680-688, (1960)
- 13) Rutenburg, A. M., Goldburg, J. A., & Pineda, E. P.: Serum γ -Glutamyl transpeptidase activity in hepatobiliary pancreatic disease, Gastroenterology, **45**:43-48, (1963)
- 14) 及川栄治: 血清 γ -Glutamyl transpeptidase 活性に関する臨床的並びに実験的研究. 日消病会誌, **62**:253-264, (1965)
- 15) 有馬正, 矢野順子, 南部征喜, 山崎晴一郎, 星子哲彦: γ -GTPの実験的研究と臨床的意義. 臨床と研究, **48**:1232~1236, (1972)
- 16) Gutman, A. B.: Serum alkaline phosphatase activity in diseases of the skeletal and hepatobiliary systems. A consideration of the current status. Amer. J. Med. **27**:875-901, (1959)
- 17) Sebesta, D. G., Brandshaw, F. J., & Prockop, D. J.: Source of the elevated serum alkaline phosphatase activity in biliary obstruction, Studies utilizing isolated liver perfusion. Gastroenterology, **47**:166-170, (1964)
- 18) 鈴木宏, 山中正己: 肝障害とアルカリフォスファターゼ. 代謝, **3**:114~121, (1966)
- 19) Kaplan, M. M., & Righetti, A.: Induction of liver Alkaline Phosphatase: The mechanism of the serum elevation in bile duct obstruction, J. Clin. Invest., **49**:506-516, (1970)
- 20) Tanaka, M.: A histochemical study on the activity of γ -Glutamyl transpeptidase in liver disease. Acta Path. Jap. **24**:651-665, (1974)
- 21) 鈴木宏, 堺隆弘: いわゆる胆管酵素の上昇機序について. 日消病会誌, **69**:865-866, (1972)
- 22) Takebayashi, J., Sagara, K., Nagata, K., & Nagashima, H.: Histo- and bio-chemical observation on γ -Glutamyl transpeptidase in liver disease. Kumamoto Med. J., **25**:127-136, (1972)
- 23) Harada, M., Okabe, K., Shibata, K., Masuda, H., Miyata, K., & Emoto, M.: Histochemical demonstration of increased activity of γ -Glutamyl transpeptidase in rat liver during hepatocarcinogenesis. Acta Histochem. Cytochem. **9**:168-179, (1976)
- 24) 川口陽太郎: γ -Glutamyl transpeptidase の研究. 第一報, 血清活性の上昇機序について. 日消病会誌, **70**:1157-1169, (1973)

25) 小山研二, 佐藤寿雄: 血清 γ -Glutamyl transpeptidase の臨床的意義について. 肝臓, 13:516 ~ 522, (1972)

26) Aronsen, K. F.: Liver function studies during and after complete extrahepatic biliary obstruction in the dog. Acta Chir. Scand. Suppl., 275: 71-93, (1961)

27) 小川哲夫: 肝外胆道完全閉塞による肝障害の回復に関する実験的研究. 北海道医誌, 39:69 ~ 81, (1964)

28) 白川勝: 総胆管結紮(ラット・イヌ)による実験的閉塞性黄疸解除の時期に関する生化学的検討. 日消外会誌, 11:359 ~ 368, (1978)

29) Schimke, R. T., Sweeney, E. W., & Berlin, C. M.: The roles of synthesis and degradation in the control of rat liver tryptophan pyrrolase, J. Biol. Chem. 240: 322-331, (1965)

30) 織田正也: 胆汁分泌機構をめぐる最近の話題と胆汁分泌成分の免疫学的意義. 消化器と免疫, 5:141 - 143, (1980)

Photo. 1 Normal state

Moderate γ -GTP activity in bile canaliculi. (x200)

Photo. 2 The 5th day after bile duct ligation in the control group.

Strong γ -GTP activity in bile canaliculi, and moderate or strong activity in bile duct-

ule and interlobular bile duct. (x200)

Photo. 3 The 5th day after bile duct ligation in the infection group.

Prominent γ -GTP activity in bile canaliculi. (x200)

Photo. 4 The 7th day after bile duct ligation in the control group.

Prominent γ -GTP activity in bile canaliculi and strong activity in proliferated bile ductule. (x200)

Photo. 5 The 21st day after bile duct ligation in the control group.

Strong γ -GTP activity in extrahepatic bile duct. (x200)

Photo. 6 The 14th day after bile duct releasing in the control group.

γ -GTP activity recovered to almost normal state. (x200)

Photo. 7 The 1st day after bile duct releasing in the infection group.

Strong γ -GTP activity in extrahepatic bile duct. (x200)

Photo. 8 The 21st day after bile duct releasing in the infection group.

γ -GTP activity did not recover to normal state. (x200)

An Experimental Study in Obstructive Jaundice on the Influence of Biliary Tract Infection, Especially about Dysfunction of the Bile Pathways in View of γ -GTP Activity Ichiro Koinishi, Department of Surgery (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - J. Juzen Med. Soc., **90**, 555-567 (1981)

Key words: Obstructive Jaundice, Biliary Tract Infection, Dysfunction of the Bile Pathways, γ -GTP, Enzymic Stain.

Abstract

An investigation was carried out on the serum, bile and histochemical γ -GTP activity in hybrid dogs, of which common bile ducts were ligated, to examine the effect of biliary tract infection on the bile pathways in obstructive jaundice. Infection was performed by infusion of self-duodenal juice into the common hepatic duct in addition to the ligation of the lower common bile duct. The dogs with treatments of ligation but of no infusion were used as the control group.

The results were as follows;

- 1) In the infection group, the total bilirubin level in serum was elevated rapidly on the 3rd day after bile duct ligation, and the total bilirubin level in bile was lower than that of the control group.
- 2) As for serum γ -GTP activity, the infection group was higher than the control group, especially on the 14th and the 21st day after bile duct releasing, and a significant difference had been found in bile γ -GTP activity between the infection group and the control group since the 5th day after ligation.
- 3) The infection group was higher as to serum AL-P activity than the control group. As to bile AL-P activity, however, the former was lower than the latter, although the differences were not distinct.
- 4) The activity of γ -GTP of the control group, when examined histochemically, showed peaks on the 7th and 14th days after bile duct ligation, while the activity in the infection group reached its peak on the 5th day after ligation γ -GTP activity in intrahepatic bile ducts however, decreased as the obstructive term was prolonged.

On the one hand, after bile duct releasing, the infection group needed longer time to recover its normal state than the control group.

These changes in histochemical study were remarkable in bile canaliculi.

It is concluded that biliary tract infection plays an important role in prolongation of jaundice after bile duct releasing, and dysfunctioned area is mainly bile canaliculi in the bile pathways.

