胆石の形成過程

——コレステロール胆石を中心として——

小 松 啓*

Formation Processes of Gallstones

——with special reference to cholesterol gallstones——

Hiroshi KOMATSU

Abstract

The crystallization processes of cholesterol gallstones were analysed by a close examination of the thin sections of spherulitic gallstones. An experimental observations of growth and agglomeration of cholesterol monohydrate single crystals were carried out using a biological phase-contrast microscope. On the basis of these experiments, the formation processes of cholesterol gallstones were proposed.

1. はじめに

胆石はその化学組成によりコレステロール系とビリルビン系に二大別される。日本人の間でも、食生活の欧米化によって、コレステロール胆石（以下、コ石と略称）が70~80%と急増し、ビリルビンカルシウム胆石（ピ石と略称）が30~20%となっている。成人の胆石保有率は6~7%といわれ、年齢に比例して増加する。

胆汁は肝臓で作られ、胆のうで濃縮され、貯えられる。食物が腸を通過する度に、胆のうから胆汁が絞り出され、直径5mmほどの胆管を通して十二指腸へ運ばれる。胆汁は人体で唯一の界面活性剤で、油脂食物の消化には不可欠な消化液である。胆汁中ではコレステロールの誘導体である胆汁酸（bile acid）が界面活性剤としてレシチンと共にミセルを形成し、コレステロールをミセル化して溶存している。溶存はpHの変化などで破綻することがある。何らかの原因でコレステロールがミセル状態から離れると、周囲の多量の水の中中でコレステロール一水化物（cholesterol monohydrate, 以下CMHと略記）、 $C_{27}H_{48}OH \cdot H_2O$ が析出する。これが多数凝集して、その直径が胆管の直径より大きくなると、胆のうから出られなくなり、結石化する。

ピ石も類似の形成過程をもつと推定されるが、析出の機構や結石化の過程がコ石とは多少異なる。コ石が圧倒的に胆のう内で見出されるのに対し、ピ石は胆のうと胆管の両方で見出される。コ石も純粋の白色のコレステロールだけのものより、多少ともビリルビンの入ったものの方が多い。ビリ

1987年8月30日受理

* 東北大学金属材料研究所 仙台市片平2-1-1 (〒980)

Institute for Materials Research (IMR), Tohoku University, Katahira, Sendai 980.

ルピンはヘモグロビンの分解生成物で、褐色の胆汁色素の主要成分である。

本報告では、胆石の大多数を占めるコ石の形成過程に焦点を絞り、結晶成長学的な観点から考察を試みる。

2. 胆石の特長と分類

東北大学第一外科の胆石の分類表を Fig. 1 に示した¹⁾。胆石の主成分と断面の組織には、かなり明瞭な対応がみられる。すなわち、コレステロール成分を多く含む石ほど放射状の構造がよくあらわれ、無定形のビリルビンカルシウムが多いほど同心円の層状又は無構造となる。結石の所在部位と個数も、コ石とピ石ではかなり対照的な差がある。コ石は胆のうに1ないし2個のことが多い。これに対し、ピ石は数個、時には数100個と多数の結石となる。このような特長は、それぞれの胆石の成因や形成過程を解析する上で重要な鍵となる。

マクロな形態上の特長として、胆石は全て球形で、半球状の結石はない。このことは胆石形成に石自体の回転運動がかかわっていることを示唆する。ピ石には多角形の結石もみられる。しかし、これは通常単独では多角形化せず、多数の結石が胆のう内で密集した時に出現する傾向があることから、胆石化の末期に、結石同士が接することによって考えられる。

胆石の種類と特徴

胆石の種類	主成分 (副成分)	肉眼的所見				所 在 部 位	数
		形	色	割 面	その他		
コレステロール系胆石	純コレステロール石	コレステロール	球形 卵形	アメ色 ～灰白色	中心部色素塊、放射状、光沢	粗、硬	胆 嚢 1コ
	混成石	内部 コレステロール	球形 卵形	淡褐色 ～暗褐色	中心部純コレステロール石 外殻は層状・放射状、光沢	粗、硬	胆 嚢 1コ 但し、外殻成分と類似の小結石の併存あり
		外殻 ビリルビンカルシウム ↓ ↓ ↓ ビリルビンカルシウム (コレステロール)			中心部純コレステロール石 外殻・層状	粗、脆い	
胆汁色素系胆石	混合石	コレステロール (ビリルビンカルシウム)	接面形成 桑実状 多種多様	多彩・光沢 断面 淡黄色 ～黒褐色	層状・放射状、光沢 中心部無構造 外層は層状・放射状	平滑(粗) 硬	胆 嚢 (胆管) 数コ ～多数
	ビリルビン石灰石	ビリルビンカルシウム (コレステロール)	不整形 球形 鑄型形 (泥状) 接面形成	茶褐色 ～黒褐色	層状、放射状構造なし、 光沢なし 無構造	粗(平滑) 軟、 脆い	胆 管 (胆嚢) 1コ ～多数
	純色素石	胆汁色素由来の誘導体、重合体	金米糖状 卵形	黒色	無構造	粗、硬	胆 嚢 1コ ～数10コ
珪石	炭酸石灰石	炭酸カルシウム	卵形	白～淡黄色	無構造	粗、硬 ペースト状	胆 嚢 1コ ～数コ
	脂肪酸石灰石	パルミチン酸カルシウム ステアリン酸カルシウム	卵形 不整形 (泥状)	黄褐色 ～淡褐色	層状 無構造	粗、軟 軽い	胆 管 (胆嚢) 1コ ～多数

Fig. 1 Classification of gallstones after Suzuki and Sato.¹⁾

3. 胆汁の組成とコレステロールの溶存状態

CMH は水に難溶で、アルコールやアセトンによく溶ける。前述したように胆汁中には CMH が胆汁酸の助けによってミセル化し、多量の水の中に溶存されている。そのミセルのモデルはいくつか出されている。直径 $30\sim 100\text{ \AA}$ の球ないし、円板状で Fig. 2 のような構造をしていると推定されている²⁾。ミセルの構造は、胆汁中の水分、胆汁酸、レシチン、コレステロールの量比によって様々に変化するといわれている。典型的な胆汁の組成は、水分 90% で、あとの 10% を胆汁酸、レシチン、コレステロールの 3 成分で占める。

Fig. 2 Schematic representation of micelles.²⁾

コレステロールの溶解度を実験的に求めるのに、この 3 成分を用いたモデル胆汁が使われる。Fig. 3 はその例で、コレステロールがミセル化して存在する領域をハッチで示し、準安定ミセル域を点刻で示した³⁾。安定なミセル域にある限りコレステロールは晶出しない。いわゆる健全な胆汁である。安定ミセル域を越えてコレステロールの濃度が上昇しても、直ちに結晶が晶出することではなく、核形成と結晶成長には待時間がある。このことは、単純な溶液相成長とちがって、粘度の高いミセルからの成長なので、脱ミセルおよび物質輸送の両方の抵抗が高いことによると思われる。さらに、ヒト胆汁中には、これらの成分の上に、アポリポたんぱく質など、核形成や結晶成長を抑

Fig. 3 Triangular plot of the metastable limit (●—●) and the maximum cholesterol solubility (○—○) in bile salt-lecithin-cholesterol systems. The stippled area is for metastable region and hatched area for stable region.³⁾

Fig. 4 (a) A center of a cholesterol gallstone (thin section);
 (b) Cholesterol monohydrate crystals grown in human bile
 observed under crossed nicols of a polarizing microscope.

制するインヒビターが含まれているといわれている。

胆汁中に微小結晶が形成されても、胆管を通過できない大きさにならない限り、胆石の原因にはならない。では、ヒト胆汁中で結晶が晶出しているとしたら、どんな形態で、どれくらいの大きさのものがあるのだろうか。この疑問を解くため、胆石症の患者の胆汁を術後、できるだけ早く偏光顕微鏡で観察したところ、ミクロンオーダーの美事な板状単結晶が見出された。この胆汁を採取後、スライドガラスに移し、カバーガラスで封入して室温に放置すると、ほぼ12時間後には Fig. 4(b) に示したような最大 100 μm 程度の CMH が成長した。Fig. 4(a) は胆石の中心部を通る薄片の顕微鏡写真で、いずれも微細単結晶が基本単位となって、これの積み重ねで結石が形成されているようすがよくわかる。

4. コレステロール水化物 (CMH) の結晶成長と結合

CMH の結晶構造は 1976 年に Craven⁴⁾ によって決定された。Fig. 5 に示したように P1 の空間群に属し、8 個の CMH 分子で単位胞が形成される。無水コレステロールの結晶構造⁵⁾ のデータと併せて Table 1 に示す。無水化することによって結晶構造はかなり変化し、密度も 3 % 近く減少する。

無水コレステロール粉末を水を含んだアルコールにいったん完全に溶解し、12時間ほどかけて晶出させると、ヒト胆汁で見たのと同様な形態の板状晶が得られる⁶⁾。この結晶を測角すると、Fig. 5の単位胞と同じ面角を示した。その成長様式はFig. 6に示したように渦巻成長ないしは二次元

(a) Projected along a axis.
II is superposed on I.

(b) Projected along c^* axis. Open circles are oxygen atoms of hydroxyl groups, and hatched circles are water oxygen atoms. Unit cell is outlined.

Fig. 5 Crystal structure of cholesterol monohydrate.⁴⁾

Table 1 Structure data of cholesterol.⁴⁾⁵⁾

	anhydrous	monohydrate
chemical formula	$C_{27}H_{46}OH$	$C_{27}H_{46}OH \cdot H_2O$
space group	$P1$	$P1$
lattice parameters	$a = 14.172 \text{ \AA}$	$12.39 \text{ \AA}$
	$b = 34.209$	12.41
	$c = 10.481$	34.36
	$\alpha = 94.5^\circ$	91.9°
	$\beta = 90.0^\circ$	98.1°
	$\gamma = 95.9^\circ$	100.8°
number of molecules in a unit cell	8	8
density (calc.) [g/cm ³]	1.021	1.048
reference	(5)	(4)

Fig. 6 Spiral growth of cholesterol monohydrate observed under the phase-contrast microscope (Negative contrast). Dehydration lines are seen as short dark lines. Fig. 6 (c) shows contrasting features of spiral pattern on both basal faces, (0001) and (000 $\bar{1}$).

核成長である。透過型位相差顕微鏡で観察することにより、はじめて、単位胞の高さ (34 Å) と思われる成長層や渦巻模様が明らかにできた。

空気中に結晶を放置すると、12時間ほどで、脱水によって形成されたとと思われる筋 (Fig. 6 の黒い短直線) が無数に生じる。この直線は α 軸に沿って発達する傾向があることを桜井敏雄先生に X 線で確かめていただいた。針先などで結晶にキズをつけると、そこが早く脱水する。脱水化した部分は一種の非晶質となっていることを偏光顕微鏡で確かめた。

CMH は、最も対称性の低い P1 の空間群に属するため、C 面上の渦巻成長模様も円形でなく、非対称な渦巻模様となる。さらに、C 面の表と裏、(001) と (00 $\bar{1}$) とでは、成長層の示す模様が異なる。渦巻成長模様は著るしく対照的で、一方の面上ではローソクの炎のような曲がった円形で

あるのに対し、反対の面上では平行四辺形に近い直線でできた渦巻となっている。特に, Fig. 6(c)の右側の渦巻模様は、結晶を貫く同一のらせん転位から発しながら、結晶の表と裏で対称性が異なる。巻く方向が表と裏で逆になっているのは、一つは表側、もう一つは裏側から見ているためで、本来は同一方向の巻きである。

位相差コントラストのハローの程度から、ステップの高さには、単位胞 ($34 \text{ \AA}$) 程度から数 $100 \text{ \AA}$ のものまであり、いろいろな大きさのバーガースベクトルをもった転位の導入があったことがわかる。

CMH 板状晶はC面を接合面にした接触双晶や、対応格子 (coincidence site lattice) による接合と思われるものが多いと見受けられる⁷⁾。双晶の一例を Fig. 7(a) に示す。これはネガティブコントラストで撮った透過位相差顕微鏡写真である。脱水線の方角が a 軸であることを手がかりに

Fig. 7 (a) Contact twinning with the C-plane as a composite plane;
(b) An example of atomic configurations on the composite plane is also shown.

して、双晶の構造をいろいろと推定することができる。Fig. 7(b) はその一例である。[010] 軸を双晶軸とする回転双晶でも Fig. 7(a) のパターンは説明できる。さらに、CMH は P1 の空間群なので対掌体 (enantiomorph) も存在できる。こうなるとますます多様な組合せが可能である。対応格子による C 面同士の結合は多数あり、その結合の強さも大小様々となる。このように、CMH は C 面でかなり強固な結合（この場合水素結合が主であろう）が生じる。今一度、Fig. 4(b) のヒト胆汁の写真を見直してみると、左側の大きい結晶は双晶および対応格子による結合であることに気づく。偶然に、数個のヒト胆汁中の結晶を撮影したものですら、このような方位の C 面の接合があることからしても、その頻度は高いことが予想される。実際、このあと共同研究者の田中純一氏はヒト胆汁およびモデル胆汁中でも、このような双晶や対応格子によると思われる結合方位を多数見出した。

5. 単結晶の凝集による胆石の形成

コ石の組織の特長として、Fig. 4(a) で見たような放射状に CMH が配列することがあった。放射状構造といっても、中心の一点から整然と結晶方位をそろえて配列しているのではなく、少しづつ乱れた配向をしながら、全体としてほぼ放射状になっている。

同じ球晶でも、溶液成長した高分子球晶では、一点から針状晶が整然と成長したり、細長い板状晶が規則的に換えて成長している。それを、偏光顕微鏡のクロスニコル下で観察すると、黒十字の消光をする⁸⁾。このことは、分子が一つずつ結晶に組込まれ、その結果、結晶軸が全体的にきちんとそろったものとなっていることを示している。

コ石の中心部を通る薄片を、クロスニコル下で観察しても、高分子結晶のような規則的な消光をせず、黒十字もあらわれない。むしろ、方位が少しづつ異なった単結晶が単位になった放射状集合体であることがよくわかる。

CMH 同士の結合はこのようにして強固になされるとして、それが放射状に配列するためには、最初にいろんな方位をもった凝集の中心が必要である。それには粉末状の CMH 自体でもよいし、他の物質で CMH の核形成を助けるものでもよい。

前に述べた Craven の結晶構造の論文に、ハイドロキシアパタイト、hydroxyapatite (HAP と略称)、 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ 、と CMH がエピタキシー関係にあることが予想されている。たしかに、HAP の C 面の超格子の OH 基と CMH の酸素とには格子のマッチングが大へんよい方位がある。それならば、HAP の粉末は CMH に対し、全方位をもった核形成サイト又はエピタキシーによる成長場所を提供すると予想される。そこで、アルコール溶液に CMH を晶出させておいて、HAP の粉末を加えてみた。すると、たちまち、Fig. 8 に示したように HAP 粉末に CMH の浮遊中の結晶が捉えられた。さらに、粉末表面からの板状晶の成長も生じた。なお、方解石や水晶の粉末では、このような効果はみられなかった。この HAP を中心にした凝集体を溶液中で移動させると、板状晶がはずれたり、ついたりした。多分、弱く結合した結晶ははずれてゆき、強く結合したものや、溶液による抵抗が小さかったものが凝集塊として生き残る、一種の淘汰が生じたものと思われる。それでも、板状晶間にはまだ隙間が多いので回転を繰り返すことで、適当な大きさの結晶が組み

Fig. 8 Cholesterol monohydrate crystals agglomerated on the powder of hydroxyapatite in an alcohol solution. (Negative phase-contrast)

こまれる可能性がある。

このようにして、比較的短時間に凝集体が大きくなり、それが胆のうから出て行けないサイズに達すると、あとは渦巻成長などの、低過飽和度でも有効に働く成長機構でc軸方向に厚化すれば、やがて、凹入角効果も加わって、結晶間の隙間が埋められよう。c軸に垂直な方向には、c軸に平行な方向よりも成長が容易であるので、球晶全体の直径の増大は自然に生じよう。なお、CMHの渦巻成長はヒト胆汁でも（モデル胆汁とアルコール溶液ではもちろんのこと）多数見出されていて、普遍的に生じていることは明らかである⁹⁾。

以上の観察と実験とから、コ石の形成過程に対して、Fig. 9に模式的に示したような仮説をたてた。この仮説が従来のコ石形成の考え方と本質的に異なる点は、まずマイクロサイズのCMH単結晶が多数晶出することがあり、続いてこれらの単結晶が、ある中心の周りに集められるとしたことである。凝集体は胆のう内を回転しながら移動し、主としてC面同士で結合をし、その結晶間隙はや

Fig. 9 Tentative model for the formation processes of a cholesterol gallstone.

が渦巻成長などにより埋められると考える。この仮説は、最初に全方位をもった CMH 板状晶の放射状構造が出来る点が決定的であるので、ここに述べた機構以外にも、これを行うものがあるか否かをもっと検討せねばならない。現在、その場観察により、放射状構造が生れる初期の現象を追っている。

6. お わ り に

コレステロール胆石の形成は界面活性剤によるミセルを介して生じる現象で、結晶成長の観点からも新しい研究分野である。これまで全く注目されなかった成長環境なので、通常の溶液成長やゲル成長との比較対照から研究を進めてゆくべきであろう。

球晶の形成機構はまだ未知の点が多い。球晶と一口にまとめているが、その内容には千差万別あり、これを一つの形成機構でくくってしまうことは到底できないと思われる。特に天然鉱物の球晶とこのような巨大分子や高分子による球晶との比較は、巨大分子に多様な形態があるので、成長単位とマクロモルフォロジーとの関連を知る上でも好都合である。

最後に、本報告では、事柄の本質を強調するため、コ石以外の混成石やビ石の形成過程には触れなかった。実際の胆石は、ここで述べたよりはるかに複雑な環境で、長時間かけて形成されていて、それにはいろんな道筋があることはいうまでもない。

謝 辞

この研究を開始するに当り、東北大学医療短大の鈴木範美教授より有益な御教示をうけた。また、同大の第一外科（佐藤寿雄教授）の胆石班、特に田中純一医師には共同研究で御援助いただいた。信州大学桜井敏雄教授（当時、理研主任研究員）には CMH の方位の詳細を X 線で決めていただいた。HAP の高純度粉末は無機材質研究所の門間英毅主任研究官から提供していただいた。以上の方々に感謝いたします。

なお、本研究は文部省科学研究費総合研究(A)「生命活動に関連した種々の環境下での結晶化機構」（課題番号 57390002）の一つとして開始し、さらに一般研究(B)（課題番号 61460237）の補助によって行った。

文 献

- 1) 鈴木範美, 佐藤寿雄: 「胆と瘻」, 2, 1 (1981).
- 2) Carey, M. C. and Small, D. M.: Amer. J. Med. 49, 590 (1970).
- 3) Carey, M. C. and Small, D. M.: J. Clin. Invest. 61, 998 (1978).
- 4) Craven, B. M.: Nature, 260, 727 (1976).
- 5) Shieh, H. S., Hoard, L. G. and Nordman, C. E.: Nature 267, 287 (1977).
- 6) 小松啓: 日本結晶成長学会誌, 12, 23 (1985).
- 7) 小松啓: 日本金属学会会報, 26, 508 (1987).
- 8) 例えば, Keller, A.: in "Growth and Perfection of Crystals", Ed. By Doremus, R. H., Roberts, B. W. and Turnbull, D. (J. Wiley) 499, (1958).
- 9) 田中純一, 伊藤秀雄, 鈴木範美, 佐藤寿雄, 小松啓: 日本結晶成長学会誌, 14, 131 (1987).