〈原 著〉

胆汁逆流の機序に関する実験的研究
—主として放射性同位元素を用いて*—

西 岡 幹 夫**

はじめに

胆道閉塞時の胆汁逆流は従来肝細胞索基部の瓶状部の破綻によると考えられていた。最近電顕的、生化学的研究の進歩につれて肝内微細構造が明らかになり、肝細胞間隙の離開像¹⁾や毛細胆管から Disse 氏腔への直接の胆汁逆流を思わせる像^{2, 3, 4, 5, 6)}が見られるという報告が多くなった。しかしこれに反対する学者^{7, 8, 9)}も多く、また lysosome の動態を重要視する人もあり^{9, 10)}、胆汁逆流の機序はいまだ明確でない。形態学的研究のみでは胆汁逆流の動的な点を解明することは困難である。

著者は異なる大きさの粒子($\text{Na } ^{131}\text{I}$, ^{131}I -PVP, ^{131}I 血清アルブミン、墨汁)を用いて、動的定性的に、諸条件のもとで血管系と胆路系との交通を調べんとした。同時に実験的胆道閉塞による肝機能、ことに排泄機能と電顕的肝微細構造との関係を観察せんとして本研究を行なった。

実験材料および方法

1) 動物

健康成熟家兎を用い、絶食下に腹部を正中切開し、総胆管に直径 1 mm のビニール管を挿入して胆瘻を設置した。管の他端を炎でとじ胆道閉塞に等しい状態を作り、管を腹壁に埋没し経日的にその先端を切断し実験に供した。なお各実験群は 5 匹以上用いた。

2) 注入物質

$\text{Na } ^{131}\text{I}$, ^{131}I 標識 PVP, ^{131}I 標識血清アルブミン (RISA), 墨汁を用いた。 ^{131}I PVP は Gordon 氏法¹¹⁾に準じて、Bayer 社製 Polyvinylpyrrolidone (平均分子量, 3 万 5 千)を用いて調製した。墨汁は Pelican 社

製, No. C 11/1431a (粒子, 200 Å) Eを用いた。EDTA はエチレンジアミン 4 酢酸 2 ナトリウムを pH 7.2 に中和して用いた。

3) 投与方法

血管内注入は耳静脈からゆつくり行い、また胆管内注入は前述のビニール管または直径 5 mm のビニール管の先端に径 2 mm のガラス管を持続させたものを介して、後述の胆汁逆流的に徐々に注入した。注入量は 4 ml, 放射能の量として 250~100 μC を用いた。

4) 胆汁分泌圧, 胆汁逆流最少圧の測定

胆管にビニール管の一端を挿入し、垂直に保持したビニール管中に胆汁を上昇せしめ、静止する点の高さを肝門部より計り胆汁分泌圧、胆汁柱を上げ逆流を始めた時の目盛を胆汁逆流最少圧とした。

5) 試料の採取および放射能の測定

a) 胆汁 放射性物質注入後、1 時間までは 15 分毎に、以後 30 分毎に 4 時間分割採取し、2 ml を試料皿に移し乾燥した。なお、胆道閉塞後の胆汁採取は閉塞をとき、うつ滞胆汁を十分排除した後に行なつた。

b) 血液、尿 血液は 15 分毎に大腿静脈より採血し、蔭酸血としその 1 ml を試料皿に平等にひろげた後乾燥した。尿はカテーテルで採取、30 分ごとに食塩水で膀胱を洗条し、その 2 ml を用いた。乾燥試料の放射能はすべてガンマー Scintillation Detector (東芝製)を用いて測定した。

実験成績

1) 血管内注入物質の胆汁、尿中への排泄態度

正常家兎に ^{131}I または PVP または RISA を血管内に注入すると、それぞれ 15 分後には胆汁中排泄が認められ、 ^{131}I , PVP は共に 30 分後にその排泄が最高に達した。RISA は胆汁中へはほとんど排泄されず、時間的な差も認められない。各群の平均胆汁中排泄濃度を示したものが図 1, そのときの尿中排泄量は図 2 の通りである。

* 第 49 回日本消化機病学会において発表した。

** M. Nishioka : 山口医科大学第 1 内科。

図 1. Biliary excretion of injected Na¹³¹I, PVP and RISA

図 2. Urinary excretion of injected Na¹³¹I and PVP

総胆管結紮後、2日目、3日目、5日目に静注した¹³¹I または PVP の胆汁中排泄は図3、4のようである。胆管結紮後1日目、2日目の群では PVP の胆汁中排泄率は正常群に比し有意の差は認められな

図 3. Biliary excretion of injected PVP after releasing cholestasis.

い。5日目の群では PVP 排泄率が有意に少なく、1時間目に最高濃度に排泄され、3時間目以後急激に低下している。¹³¹I の胆汁中排泄については PVP とほぼ同様の成績を得たが、一般に早期大量に排泄された(図4)。RISA の胆汁中排泄は胆管結紮群でもほとんど認められなかった。

図 4. Biliary excretion of injected Na¹³¹I after releasing cholestasis.

2) 胆汁分泌の変化および電子顕微鏡像

胆管結紮後経日的に結紮をとき胆汁の分泌量を測定すると、図5のような成績が得られた。正常群では初め 5.7 ml/30 分程度の胆汁分泌が見られ、以後漸減する。胆管結紮群における胆路系のうつ滞胆汁は経日的に胆汁色素濃度がまし、濃縮の度が強まった。うつ滞胆汁除去後の胆汁分泌量は1日目および2日目群では正常に近いが、5日目群では著明に低下し、胆汁色素濃度は低く淡黄色である。

図 5. Bile excretion after releasing cholestasis.

総胆管結紮後3日目の肝臓の電顕像は図8、9である。肝細胞には vacuole, density の高い顆粒を含む lysosome, matrix density のまじった mitochondria を認める。肝細胞間隙はくさり状に不連続的に離開し、毛

細胆管と Disse 氏腔との非連続的交通がうかがわれる。desmosome は接着を示している。毛細胆管は異常に拡張し、microvilli が変性、断裂また消失している。

図 6. Mean bile pressure in common bile duct.

- (I) control (normal rabbit)
 (II) after cholestasis for 5 days
 (III) after intrabiliary injection of EDTA at pressure of 24 cm H₂O
 (IV) after intrabiliary injection of Ringer solution at pressure of 50 cm H₂O

3) 胆汁分泌圧の変化

種々の条件のもとで胆汁分泌圧および胆汁逆流最少圧を測定した(図6)。

胆汁の分泌と胆のうからの吸収を含めた分泌圧と胆路系から胆汁の逆流しようとする圧とが等しくなる圧が前述の胆汁分泌圧であり、人為的に胆汁柱を更に上昇せしめ逆流を始める最初の圧を胆汁逆流最少圧とした。

第 I 群は正常家兔群で肝門部から平均 22 cm の所で胆汁がうつ滞し、平衡状態を保ち、胆汁柱 2 cm を上昇すると初めて胆汁の逆流が生じる。

第 II 群は胆管結紮後 5 日目の家兔群で胆汁分泌圧は 16 cm H₂O と有意に低下し、胆汁柱を少しでも上昇すると逆流が生じた。

第 III 群では肝の細胞間隙を開く目的で 4 ml の 4% EDTA を胆汁逆流最少圧で注入し、その後の分泌圧を観察したが、分泌圧は 18 cm H₂O と低下し、胆汁柱を

少し上昇すると逆流が起つた。しかしその後時間の経過と共に胆汁柱は徐々に上昇し、約 30 分後には正常胆汁分泌圧となつた。

第 IV 群は肝門部から 50 cm H₂O の圧で生理的食塩水 100 ml を逆流させ、その後胆汁分泌圧を測定した。このばあいに逆流速度は極めて速やかで、明らかに胆路系と血管系との間に直接的な交通が起つたと考えられたが、圧を取去ると一時的に胆汁分泌圧は 17.5 cm H₂O と低下したが、その後胆汁柱は徐々に上昇し 20 分ないし 30 分後には正常胆汁分泌圧が測定された。その後は分泌された胆汁の胆汁色素濃度は多少低下しているが、正常の胆汁分泌を示したことは興味深い。

4) 胆管内注入物質の態度

前の実験において胆汁分泌圧を測定した後に、各群に胆汁逆流最少圧で PVP 含有生食水を注入し血中移行を調べた。各群で多少差はあるが、0.5 ml/min 程度の速度で PVP を 4 ml 逆流注入した後、15 分、30 分後に血液 1 ml 中の PVP の濃度を測定した(図7)。

胆管内に注入した PVP が最も高濃度で血中へ移行した群は第 V 群すなわち 50 cm H₂O 圧で PVP 含有生食

図 7. PVP concentration in the blood after intrabiliary injection.

- (I), (II), (III), (IV)……see Fig. 5.
 (V) after intrabiliary injection of ¹⁸¹IPVP solution at pressure of 50 cm H₂O.

図 8. 胆管結紮後 72 時間の電顕像 肝細胞間隙がくさり状に離開し、異常に拡張せる毛細胆管では Microvilli が変性断裂消失している。Desmosome は接着を示している。×4600
BC. Bile canaliculus
DS. Desmosome

図 9. 胆管結紮後 72 時間の電顕像 肝細胞には vacuole, density の高い顆粒を含む lysosome, matrix の density がました mitochondria を認める。毛細胆管は拡張し、microvilli の数もましている。×11500
V. Vacuole. M. Mitochondrion
N. Nucleus. Ly. Lysosome

水を逆流注入した群で、PVP の血中移行は 15 分で 0.81% であつた。第Ⅰ群（正常群）、第Ⅲ群（EDTA 逆流後）、第Ⅳ群（50 cm H₂O 圧で 100 ml 生食水逆流後）の間には著しい差は認められなかつた。胆管結紮後 5 日目に行なわれた第Ⅱ群では PVP の血中移行がほとんど認められない。これは胆路系の内腔容積が増大していて、逆注入された PVP がほとんど胆汁内に残留し

図 10. 胆汁逆流最少圧にて墨汁の胆管逆流, 30 分後
HE 染色（強拡大）

ていたためと思われ、また積極的に PVP が血中に移行する機構を低下しているものと思われる。

正常家兔に墨汁および ¹³¹I 含有生食水を胆汁逆流最少圧で注入すると、¹³¹I はすみやかに血中に証明されたが、墨汁は肉眼的に肝表面に斑点状に認められたるも、眼球結膜の黒変は起こらず、すなわち血中移行は認められなかつた。30 分後に剔出した肝の組織像は図 10 である。一般に墨汁はグ氏鞘周辺の肝小葉に少ないし大塊状に認めらるるも、これは少なく、この部分の肝細胞の排列は明らかでない。クーパー細胞には墨汁の取込みはほとんど認められない。

墨汁を 50 cmH₂O の圧で逆流させると、速やかに肝表面が黒化し、眼球の黒化が起り血中へ移行したことがわかる。また組織学的にクーパー細胞内の取込みが著明に認められた。

総括および考案

1) 胆道閉塞後の胆汁分泌

胆道閉塞は種々の器質的变化をもたらすことは諸家により報告されている。著者が電子顕微鏡で観察した如く、毛細胆管の拡大、microvilli の浮腫、胆管腔に面した microvilli の数の減少など管腔内圧の上昇を思わす所見、肝細胞内の lysosome 増加、胆汁微細色素顆粒など胆汁色素のうつ滞を思わす所見、肝細胞の変性所見などが主なものである。

胆道閉塞が肝の排泄におよぼす影響を観察すると、胆道閉塞後 3 日ないし 5 日目頃から血中に注入した ¹³¹I および PVP の胆汁中排泄が著明に低下している。Bollmann 等¹²⁾もラットを用い胆道閉塞後 7 時間で BSP を

静注すると、BSP は胆汁中に正常に出現するけれども、30 時間後に行なつたときには BSP の胆汁中排泄は著減したことを報告している。胆汁の分泌量はある時期では増加しているが、胆道閉塞後 5 日目頃になると分泌量は低下し、胆汁色素濃度も低く胆汁成分が正常に排泄されていない。胆道閉塞はある期間持続した後には肝の排泄、分泌機能に代償されない変化をもたらすようである。

Sinusoid を境する Kupffer 細胞の cytoplasmic lamellae は肝細胞に面し不完全な境界を形成し、その直径 2μ ぐらいの間隙¹³⁾を介して血液と Disse 腔との間の物質交流を行ない、この交通は胆道閉塞により直接には影響されない。Disse 氏腔から肝細胞への取込みは物質の分子量の大きさにより拡散や membrane vesiculation¹⁴⁾により行なわれ、ついで肝細胞内の物質は毛細胆管へ排泄されるようである¹⁵⁾。胆道閉塞ではこの過程が障害されており、これを裏づけるものとして microvilli の減少、microvilli の浮腫による毛細胆管の閉塞¹⁶⁾、ATPase 活性が示す肝細胞の active transport の低下¹⁵⁾、肝細胞の変性などが観察される。

胆道閉塞後には胆管の再生 (recanalization)¹⁶⁾ や bile-ductule (Hering duct) が増加する¹⁷⁾こと、また canaliculo-sinusoidal connection の増加²⁾の観察などが報告されている。胆道結紮後胆路系の増加や血管系への交通が起こるのであれば、血中に注入された ^{131}I 、PVP などは胆汁中に多く移行するようになる。本実験では図 3、4 に示した如く胆道閉塞後時間を経る程その後に血液内に注入された放射性物質の胆汁中移行は減少した。すなわち逆の成績が得られた。胆路系の増加はその内圧上昇のために起る形態学的な変化で生理的には機能を有しないものと思われる。しかし胆道閉塞後も図 5 のように胆汁の分泌が観察され、かくして胆路系の高圧症がつづけば血管系と胆路系との交通により胆汁は容易にリンパ系や血液中に再吸収されるであろう¹⁸⁾。しかし圧が除去されれば、またこの交通は速やかに消失するであろう。

2) 胆汁分泌圧の変化と逆流の機序

胆汁逆流最少圧で Na^{131}I 、PVP および墨汁の逆流注入を行うと、 Na^{131}I と PVP は血中に移行するが、墨汁の血中への移行は認め難い。すなわち 200Å の粒子 (墨汁) はこの程度の圧では血中へ移行しないが、さらに小さな PVP や無機塩類は血中へ逆流することがわかる。後者は血中から胆汁へ正常でも移行するものであ

り、胆汁から血液への逆行には必ずしも肝細胞間の離開や破綻を必要としない。

高圧で PVP を逆流すると、胆汁逆流圧で逆流した場合に比し血中濃度は約 2 倍に上昇しほとんど全量が逆流したと推定される。墨汁も肉眼的に血中へ移行することが認められ、急激に高圧が加わると胆道と血管との間の幅の広い交通ができるものと思われる。しかし圧を低下させると、胆汁色素濃度は低いほぼ正常の胆汁が正常分泌量を示したことは、逆流最少圧のみならず一過性の高圧を加えることにより起つた変化は圧を取去ることによりすみやかに正常状態に帰る可逆的なものと見るべきである。

胆路系と血管系との交通には vascular plexus と ductule との間の交流が重要な場と考えられるが²⁰⁾、毛細胆管の部位でも交通が起るとすれば、それは肝細胞自体を逆浸透的に介するかまた肝細胞間隙を通るか、またはその両方であろう。Hampton¹⁹⁾ は HgS コロイドを胆管内へ逆流させ、それが肝細胞内、さらに Disse 氏腔へ移行することを観察した。肝細胞間隙を通つて逆流する機序は、本実験成績がこの交通は可逆性に正常に戻ることを示唆しているので、毛細胆管が破綻し肝細胞の開裂間隙を通り Disse 氏腔への胆汁が逆流するというような単純な従来の考えは^{8, 4)} 承認し難い。また電顕像で desmosome は接着を示しており、肝細胞間隙はくさり状に離開しているが、毛細胆管から Disse 氏腔へ持続的につながつた所見は認め難い。以上のことから、細胞間隙を介して Disse 氏腔へ逆流する場合は、初めは desmosome 接合を不連続的に離開させて、胆汁が Disse 氏腔の方へ絞り出されるような現象が起こるのであろう。

胆汁逆流機構の電顕的模型が色々提唱されているが、Schaffner, Popper²¹⁾ のものを含め従来のものには立体的な考え方が示されていないかつた。ふたつの肝細胞は主として desmosome によつて接合され、その間に bile canaliculus がはさまれているが、desmosome は点でなくて連続的な線である²¹⁾。この desmosome の一部がある瞬間離れて、細胞間隙を胆汁が通つても、その部位の上下の接着の影響でそこがまた接合するのではないかと考えられる。本実験の標本の電顕所見で desmosome はほとんど常に接着しており、その前後にくさり状に細胞間隙が離開しているのはこのような立体的な考え方を支持するものである。しかしながら、閉塞による肝細胞変化が進行すると、desmosome を離開せずその部をよ

け、肝細胞膜を破壊して逆行するような経路を考える必要があるかもしれない。

む す び

胆道閉塞後の肝の排泄機能および胆汁逆流の機序を調べる目的で、家兎を用いて、分子および粒子の大きさの異なる放射性物質および墨汁を諸条件のもとで胆道内または血液内に注入し相互移行を調べ、諸条件のもとで胆汁分泌圧を測定し、光学ならびに電子顕微鏡検査を並行して行ない、つぎの結論を得た。

1) 家兎の静脈内へ注射した Na^{131}I と ^{131}I -PVP (分子量 35,000) はすみやかに胆汁中へ移行するが、 ^{131}I -アルブミンは胆汁中へ移行しない。

2) 胆道内圧が分泌圧より数 cm 水柱高くなると胆路系から逆流が生じ、200 Å の墨汁は血中へ移行しなかつたが、水や Na^{131}I や PVP は容易に血中へ移行した。

3) 高圧により胆道の逆流を行なうと、一時的に幅の広い交通が胆路系と血管系との間にできるが、圧の低下によりこれはすみやかに閉鎖すると考えられる。

4) 毛細胆管から Disse 腔へ胆汁が逆流する場合は、持続的な細胞間隙の離開が起こるのではなくて、初めのうちは desmosome の連続的な接合が部分的に離れ、水および粒子の小さい物質を絞り出しのような機構で Disse 腔へ向け逆流するのであろう。

5) 胆道閉塞後 5 日目頃から胆汁分泌圧が著明に低下し、また Na^{131}I や PVP の胆汁中移行は減少した。しかし機能的に胆路系と血管系との直接の交通が起つているという所見は得られなかつ

た。

故水田信夫教授ならびに現久留米大学奥田邦雄教授のご指導ご校閲に深謝致します。また電子顕微鏡所見についてご援助、ご教示をいただいた中山純博士、京大市田文弘助教授、久留米大谷川久一講師、その他助言をいただいた水田実助教授以下教室員各位に御礼申し上げます。

文 献

- 1) Rouiller, P. C.: *Acta Anat.* 26: 96, 1956.
- 2) Birns, M., Masek, B., Auerbach, O.: *Am. J. Path.* 40: 95, 1962.
- 3) Schaffner, F., Popper, H.: *Gastroenterology* 37: 565, 1959.
- 4) 大北速男: *日本臨床*, 18: 1138, 1960.
- 5) 市田文弘, 佐々木博: *日本臨床*: 20: 1241, 1962.
- 6) 谷川久一: *日内会誌*: 50: 192, 1961.
- 7) Hampton, J. C.: *Acta Anat.* 32: 262, 1958.
- 8) Steiner, J. W., Carruthers, J. S.: *Am. J. Path.* 39: 41, 1961.
- 9) Goldfischer, S., Arias, I. M., Essner, E., Novikoff, A. B.: *J. Exp. Med.* 115: 464, 1962.
- 10) Orlandi, F.: *Acta Hepatosplenol.* 9: 155, 1962.
- 11) Gordon, S. R.: *J. Poly. Science* 31: 191, 1958.
- 12) Bollmann, J. L.: *Liver Function*; *Am. Institute of Biol. Sci., Washington D. C.* 251, 1958.
- 13) Ashworth, T. C.: *Am. J. Path.* 37: 343, 1960.
- 14) Bennet, S. H.: *J. Biophys. and Biochem. Cytol.* 2: 99, 1956.
- 15) Essner, E., Novikoff, A. B.: *J. Urtrast. Research* 3: 374, 1960.
- 16) Trams, E. G., Symeonidis, A.: *Am. J. Path.* 33: 13, 1957.
- 17) Steiner, J. W., Carruthers, J. S.: *Am. J. Path.* 40: 253, 1962.
- 18) Friedman, M., Byers, S. O., Omoto, C.: *Am. J. Physiol.* 184: 11, 1956.
- 19) Hampton, J. C.: *Lab. Investigation* 10: 502, 1961.
- 20) Brauer, R. W., Francisco, S.: *J. A. M. A.* 162: 1462, 1956.
- 21) 佐藤七郎: *科学*, 34: 277, 1964.

*

* *