ヒト肝組織銅含量に関する研究

昭和大学医学部第二内科学教室

小澤 明美◇ 八田 善夫

昭和大学薬学部薬品物理化学教室

松村 剛

STUDIES ON HUMAN HEPATIC COPPER CONTENTS IN JAPANESE PATIENTS WITH LIVER CIRRHOSIS AND BILIARY OBSTRUCTION

Akemi OZAWA, MD and Yoshio HATTA, MD

The Second Department of Internal Medicine, School of Medicine, Showa University, Tokyo

Go MATSUMURA, PD

Department of Physical Chemistry, School of Pharmaceutical Sciences,
Showa University, Tokyo

概要 肝硬変30例, 胆道閉塞20例を対象として, 原子吸光分析法により肝組織銅含量を測定し, これらの値を対照と比較した。さらに各症例を各種検査所見により細分類し, これらと肝組織銅含量との関連性を調べることににより肝組織銅含量増加の因子を検討した。その結果, 肝組織銅含量は対照 $26.55 \pm 9.87 \mu\text{g/g}$ 乾燥重量, 肝硬変 $55.28 \pm 70.67 \mu\text{g/g}$ 乾燥重量, 胆道閉塞 $42.83 \pm 25.38 \mu\text{g/g}$ 乾燥重量であり, 対照に比し肝硬変・胆道閉塞に銅含量高値例が多かった。その度数分布から, 胆道閉塞と肝硬変における肝組織銅含量増加の機序は異なるものと推察されたが, 肝硬変においては肝組織銅含量と各種検査所見との間に関連性が認められず, 肝組織銅の蓄積機序を一元論的に解釈することはできなかつた。胆道閉塞においては, 胆汁流出の有無が肝組織銅含量に影響を及ぼすことが証明され, 胆道閉塞の程度と期間はおのおの別個の条件としても銅含量の増加に影響し得ることが示唆された。また, 各疾患における血清銅・セルロプラスミンについても検討した結果, 胆汁うつ滞の肝組織銅排泄の代償経路としてのセルロプラスミン合成促進が確認され, 特に胆汁性肝硬変においてはセルロプラスミン結合銅のほかに非セルロプラスミン結合銅も増加することが示された。肝硬変においては, 胆汁流出障害がなく, 肝組織銅増加の傾向にもかかわらず血清銅・セルロプラスミンが正常であつたことから, 肝組織銅蓄積の主原因は肝細胞内機構にあると考えた。

緒 言

銅は, 植物・動物両者にとつて必須の微量元素である。哺乳動物では, 肝が銅代謝における中心的役割をはたしており, 銅の貯蔵・排泄および血漿蛋白であるセルロプラスミン (ceruloplasmin: 以下CP) の合成は肝で行なわれる。一般

に, 著明な銅代謝異常を示す肝疾患では, 肝組織への銅の蓄積を伴うことが多いとされている¹⁾。このような観点から, 各種肝疾患における肝組織銅含量についての報告が行なわれている。しかしながら, その大部分は外国の諸施設によるものであり, 本邦での系統的な疾患別の肝組織銅含量の定量・検討はほとんどなされていない。そこで, 著者らは肝硬変および胆道閉塞における肝組織銅

[昭和58年11月30日受稿]

含量を測定し、肝組織銅含量の増加をきたす因子を検討した。また、銅の代謝回転を考慮し、その正常回転経路であると同時に肝組織銅の排泄経路の一つでもある血清銅・CPについての考察も合わせて報告する。

対象および方法

(1) 肝組織銅含量について

① 対象

対象は、a) 過去5年間に、理学的所見・臨床検査所見から肝硬変を疑い、死後の剖検で病理組織学的に肝硬変と確定診断された30例（男性24例、女性6例、年齢：42～81才（平均年齢±標準偏差：62.4±11.2才））、b) 過去5年間に、理学的所見・臨床検査所見から胆道閉塞を疑い、死後の剖検で病理解剖学的に胆道閉塞を確認された20例（男性11例、女性9例、年齢：39～82才（平均年齢±標準偏差：62.9±12.5才））である。また、対照としては、脳動脈瘤破裂ないし脳梗塞により短期間で死亡し、肉眼的・組織学的に肝に異常の認められなかつた25例を用いた。

肝組織は剖検後1週間以上10%ホルマリン溶液に浸漬した後、肝右葉の被膜下2～3cmの肝組織片を切り出し、組織中の銅定量を行なつた。なお、10%ホルマリン溶液浸漬により、sinusoid内の血清成分はほとんどホルマリン溶液と置換され、一方、肝細胞内の銅はホルマリン溶液中に溶出しなないということは確認している。

② 分析方法

定量方法は以下のごとくである。すなわち、まず、上記肝組織片約0.5g（湿重量）を切り出し、赤外線ランプ下で重量が一定になるまで乾燥させる。次いで乾燥重量を秤量後、低温灰化法²⁾により充分に灰化させ、1%硝酸にて加温（約100℃、30分間）・溶解し、2mlにメスアップする。これを試料として、原子吸光分析法により銅を定量した。原子吸光分光光度計（Perkin-Elmer社製、403型）の測定条件は、波長：324.7nm、lamp：14mA、C₂H₂：27ml/min、air：55ml/minに設定し、試料中の吸光度を求め、あらかじめ同様の1%硝酸と銅標準液（和光純薬工業株式会社、原子吸光分析用）

により作製した銅標準曲線により銅量を求めた。これを秤量乾燥重量により補正して肝組織銅含量とした。なお、より正確な値を得る目的で、測定はすべて二重測定とした。

以上のようにして肝組織銅含量を求め、これらの値を対照と比較した。さらに各症例を諸種の因子・臨床検査成績により細分類し、肝組織銅含量との関連性を検討した。

③ 統計学的分析

有意差の検定はカイ二乗検定により行ない、危険率（p）が0.005より小さい場合を有意差ありとした。

(2) 血清銅・CPについて

① 対象

対象は、a) 過去3年間に、理学的所見・臨床検査所見・画像診断法・病理組織学的所見により肝硬変と診断された56例（男性25例、女性31例、年齢：35～76才（平均年齢±標準偏差：58.7±9.6才））、b) 過去3年間に、理学的所見・臨床検査所見・画像診断法により閉塞性黄疸をきたしたと診断された20例（男性10例、女性10例、年齢：33～87才（平均年齢±標準偏差：63.1±17.7才））、c) 過去3年間に、理学的所見・臨床検査所見・画像診断法・病理組織学的所見により胆汁性肝硬変と診断された3例（男性2例、女性1例、年齢：31～57才（平均年齢±標準偏差：44.3±13.0才））（10検体）である。また、対照としては、理学的所見および検査成績に異常の認められなかつた46例を用いた。

② 分析方法

a) 血清銅：Landers-Zak変法³⁾により測定した。

b) 血清CP：Ravin変法⁴⁾により測定した。

③ 統計学的分析

群間比較の有意差検定はt検定を用いて行ない、pが0.001より小さい場合を有意差ありとした。

成 績

(1) 肝組織銅含量（図1）

① 対照の肝組織銅含量は表1のごとく26.55±

図 1. 肝組織銅含量

9.87 (平均値 (Mean) ± 標準偏差 (SD)) $\mu\text{g/g}$ 乾燥重量 (以下単位省略) で、Mean $\pm$ 2SD をとり 6.81~46.29 を正常値とした。この値は諸外国の統計⁵⁾とほぼ同様の値である。すなわち、単位重量あたりの肝組織銅含量に関しては、わが国と諸外国との間に差を認めない。

② 肝硬変の肝組織銅含量は表 2 に列記したごとくであり、30 例全例の銅含量は 55.28 ± 70.67 であった。この平均値は正常値を越えている。しかも、30 例中 10 例 (33.3%) が異常高値であり、銅含量高値を示すものは、対照に比し肝硬変に出現する頻度の高いことが有意の差 ($p < 0.001$) をもつて裏付けられた。なお、症例 1, 2 はスミルノフの棄却検定法によれば、統計学的処理の対象から除外しなければならないほど銅含量高値の症例である。しかし、臨床経過・各種検査所見ともに他の症例と大差を認めず、その原因となる因子を見出すことはできなかった。

ちなみに、著者らは原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis: 以下 PBC) の 1 例にお

表 1. 対照の肝組織銅含量

	年令・性別	肝組織銅含量 ($\mu\text{g/g}$ 乾燥重量)		年令・性別	肝組織銅含量 ($\mu\text{g/g}$ 乾燥重量)
1	34・F	24.44	14	66・F	32.61
2	47・M	36.79	15	68・M	32.91
3	58・F	20.50	16	58・F	48.73
4	77・F	21.97	17	59・M	15.48
5	73・M	34.20	18	80・F	12.30
6	63・F	19.35	19	69・F	18.02
7	66・F	48.18	20	36・F	15.75
8	58・M	29.62	21	53・M	16.46
9	75・M	23.00	22	34・F	41.50
10	57・M	19.62	23	48・F	24.12
11	19・M	29.20	24	71・F	23.97
12	38・F	21.17	25	61・M	21.31
13	51・M	32.52	Mean $\pm$ SD		26.55 $\pm$ 9.87

いても肝組織銅含量を測定し、240.22 という高値を得ている⁶⁾。しかし、PBC の成因は一般の肝硬変とは異なるため、今回の分析からは除外した。

③ 胆道閉塞の肝組織銅含量は表 3 に列記したごとくであり、20 例全例の銅含量は 42.83 ± 25.38 であった。異常高値を示したものは 20 例中 8 例 (40%) であり、銅含量高値を示すものは対照に比し胆道閉塞に出現する頻度の有意に ($p < 0.001$) 高いことが証明された。

④ 対照・肝硬変・胆道閉塞において、おのおのの肝組織銅含量についての度数分布は図 2 のごとくである。すなわち、対照では正規分布に一致し、胆道閉塞では、対照と同じ分布に加えて連続性に高値を示す症例が存在し、肝硬変では、対照と同じ分布のほかにも不連続性に高値を示すものが出現している。

(2) 肝硬変における肝組織銅含量と各種検査所見との関連性 (表 2)

肝硬変例をアルコール歴・肝癌合併・剖検肝の肉眼的黄染の有無ならびに死亡時までの発黄期間・臨床検査成績・総ビリルビン (total bilirubin: 以下 T-Bil) と死亡時までの発黄期間の積算により細分類し、肝組織銅含量との関連性を検討した。

① アルコール歴の有無による分類では (+) 群 15 例、(-) 群 15 例で、おのおのの肝組織銅含量は 67.17 ± 86.41 , 43.40 ± 50.76 であった。この平均

値のみを比較すると(+)群の方が高値であるが、銅含量高値例の出現頻度は(+)群15例中6例(40%)、(-)群15例中4例(26.7%)で両群間に有意の差は認められなかった。

② 肝癌合併の有無による分類では(+)群17例、(-)群13例で、おのおのの肝組織銅含量は 63.47 ± 89.68 、 44.58 ± 33.59 であった。この場合も平均値は(+)群で高値であるが、銅含量高値例の出現頻度は(+)群17例中5例(29.4%)、(-)群13例中5例(38.5%)で両群間に統計学的有意差は証明されなかった。

③ 剖検肝の肉眼的黄染の有無による分類では(+)群19例、(-)群11例で、おのおのの肝組織銅含量は 70.36 ± 85.29 、 29.25 ± 14.58 であり、平均値は(+)群で高値である。しかし、銅含量高

値例の出現頻度は(+)群19例中8例(42.1%)、(-)群11例中2例(18.2%)で両群間に有意の差は認められなかった。

④ 肝組織銅含量と死亡時までの発黄期間・T-Bil・alkaline phosphatase (以下ALP)・glutamic pyruvic transaminase (以下GPT)・総コレステロール アルブミン γ -グロブリン プロトロンビン時間・血清鉄・総鉄結合能 血清銅・T-Bilと死亡時までの発黄期間の積算との関係についても検討したが、いずれの間にも相関関係は認められなかった。すなわち、これら諸因子と肝組織銅含量とはおのおの単独では有意の相関を有さず、これについては、肝硬変を銅含量高値群と正常値群の二つに分け、各群内で比較検討しても同様の結果であった。

表2. 肝硬変における肝組織銅含量と各種検査所見

	年 令 ・性別	肝組織銅含量 ($\mu\text{g/g}$ 乾燥重量)	アル コ ル 肝 症 合併	剖検肝 の肉 眼的 黄染	死亡時までの 発黄期間 (ヵ月)	T-Bil (mg/dl)	ALP (BLU)	GPT (IU/l)	総コレ ステ ロール (mg/dl)	アル ブ ミ ン (g/dl)	γ -グ ロ ブ リ ン (g/dl)	血清鉄 ($\mu\text{g/dl}$)	総鉄結 合 能 ($\mu\text{g/dl}$)	血清銅 ($\mu\text{g/dl}$)	T-Bilと死亡 時までの発黄 期間の積算
1	57・M	361.23	+	+	+	0.3	38.0	4.6	37	161					184.50
2	65・M	207.79	-	+	+	9.0	27.4	5.3	24	49					3192.00
3	42・M	123.95	+	-	+	0.2	5.9	4.7	11	95					13.35
4	70・F	98.03	-	-	+	0.2	1.2	5.2	46	133					22.20
5	51・M	97.63	+	+	+	15.0	21.3	5.3	29	191					5242.50
6	77・M	57.41	-	-	+	0.7	1.9	2.3	6	32					18.00
7	51・M	55.73	+	-	-	0.1	2.5	3.0	23	101					4.50
8	67・M	53.57	+	-	-	0	0.9		25	126					0
9	49・M	52.84	+	+	+	0.3	4.0	10.3	29	101					31.50
10	78・M	47.10	-	+	+	0	0.7	9.5	15	191					0
11	68・M	40.26	+	+	+	3.0	4.4	15.3	49	139					333.00
12	43・M	38.48	+	-	-	1.0	13.8	3.4	28	119					51.20
13	69・F	37.43	-	+	+	0.3	4.7	18.4	29	94					34.65
14	71・F	36.76	-	-	+	0.2	27.9	4.0	96						556.20
15	57・M	31.04	+	+	-	1.1	13.6	13.8	84	266					244.65
16	65・M	30.94	+	+	+	0.8	6.6	9.8	9	175					72.00
17	71・M	29.22	+	+	-										
18	47・M	26.28	+	+	+	1.0	3.5	5.4	13	131					117.60
19	81・M	26.06	-	+	+	0.2	5.7	5.4	36	272					26.10
20	58・M	25.33	+	-	+	2.5	4.5	3.5	19	121					135.00
21	54・F	24.76	-	+	-	0.1	1.0	4.4	38	235					0
22	52・M	22.55	+	-	-	0.2	2.7	2.4	51						9.00
23	64・M	21.30	-	+	+	0.6	30.5	5.2	22	125					301.50
24	69・M	18.74	-	+	-	1.5	2.2	3.7	18	164					63.00
25	66・M	18.48	+	-	-	0	0.6	8.1	11	103					0
26	80・F	18.05	-	-	-	0.05	2.3	2.1	27	120					0
27	76・M	16.13	-	-	+	0.1	1.4	3.1	59	115					9.00
28	47・M	15.23	-	+	+	2.0	1.7	5.5	24	104					117.00
29	67・F	15.12	-	-	+	13.0	10.8	1.5	14	28					2691.00
30	60・M	11.10	-	+	-	0.3	2.0	3.6	22	124					5.40

図 2. 肝組織銅含量に関する度数分布

(3) 胆道閉塞における肝組織銅含量と各種検査所見との関連性 (表 3)

胆道閉塞例を胆汁流出の有無・死亡時までの発

黄期間・臨床検査成績・T-Bilと死亡時までの発黄期間の積算により細分類し、肝組織銅含量との関連性を検討した。

① 胆汁流出の有無による分類では(+)群(不完全閉塞または減黄(+))の完全閉塞例)10例、(-)群(完全閉塞かつ減黄(-))例)10例であった。おのおのの肝組織銅含量は 22.29 ± 7.06 , 63.36 ± 19.32 であり、平均値が(-)群で高値であると同時に、肝組織銅高値例の出現頻度は(+)群10例中0例(0%), (-)群10例中8例(80%)で両群間に有意の差($p < 0.001$)が認められた(図3)。すなわち、胆汁流出(-)群に銅含量高値の症例が有意に多く、また、銅含量高値群は全例胆汁流出(-)であった。

② 肝組織銅含量と死亡時までの発黄期間・T-Bil ALP・ γ -glutamyl transpeptidase (以下 γ -GTP)・leucine aminopeptidase (以下LAP) GPT・血清鉄・総鉄結合能・血清銅・T-Bilと死亡時までの発黄期間の積算との関係について検討した結果、ALP・ γ -GTP・LAP・GPT・血清鉄・総鉄結合能 血清銅に関しては有意差を証明し得なかつたが、

表 3. 胆道閉塞における肝組織銅含量と各種検査所見

	年 令 ・性別	肝組織銅含量 (μ g/g乾燥重量)	閉塞の 程 度	減黄術 効果	減黄 効果	胆汁 流出	死亡時までの 発黄期間 (ヶ月)	T-Bil (mg/dl)	ALP (BLU)	γ -GTP (IU/l)	LAP (GRU)	GPT (IU/l)	血清鉄 (μ g/dl)	総鉄結 合 能 (μ g/dl)	血清銅 (μ g/dl)	T-Bilと死亡 時までの発黄 期間の積算
1	64・F	90.02	完 全	—	—	—	0.6	32.5	4.3			101				319.50
2	64・M	80.52	完 全	—	—	—	1.1	14.3	11.4	211	35	26	47	248		316.45
3	42・M	76.90	完 全	+	—	—	5.8	42.8	82.2	264	1349	27	106	268	219	4135.90
4	76・F	72.02	完 全	—	—	—	1.0	18.7	19.9	140	321	57				490.75
5	54・M	69.56	完 全	—	—	—	2.9	21.5	31.5	168	508	30				1250.60
6	39・M	65.89	完 全	+	—	—	6.0	37.7	4.1	55	164	74				4334.75
7	57・F	58.68	完 全	—	—	—	0.9	17.1	11.2	291	404	68	75	289	101	473.45
8	82・F	55.13	完 全	+	—	—	5.0	5.9	21.3	475	60	25				113.70
9	70・F	37.43	完 全	—	—	—	0.4	6.0	15.2	110	406	30				54.00
10	80・F	31.33	完 全	+	+	+	0.8	20.5	4.4	30	389	3	79	245	223	223.90
11	49・M	28.19	完 全	+	+	+	1.1	4.7	11.7	209	356	28				125.65
12	75・M	27.55	完 全	+	+	+	0	2.7	5.4	80		18				0
13	77・M	27.48	完 全	—	—	—	0.8	13.1	19.7	183	355	69	65	217		601.30
14	56・M	26.79	不完全	+	+	+	2.0	24.8	10.6	61	36	29				878.30
15	64・F	25.02	不完全	—	—	+	1.5	22.8	8.0	81	30	12				736.20
16	61・M	24.42	不完全	—	—	+	0.5	17.6	20.0	182	302	89	93	265		421.05
17	69・M	17.91	不完全	—	—	+	0.7	13.8	36.0	211	265	55	105	199	116	186.25
18	71・M	16.56	不完全	—	—	+	0	0.6	4.5	27	71	9	35	244		0
19	47・F	16.51	完 全	+	+	+	0	1.7	12.6	243	385	8	74			0
20	61・F	8.61	完 全	+	+	+	0	0.5	3.7	22	15	6				0

図3. 胆汁流出の有無による肝組織銅含量の検討

図4. 死亡時までの発黄期間による肝組織銅含量の検討

a) 死亡時までの発黄期間に関しては、2カ月を境にして2カ月以内のもの16例、2カ月を越えるもの4例で、おのおの肝組織銅含量は 36.82 ± 24.64 , 66.87 ± 9.07 であった。平均値に差を認めると同時に、銅含量高値例の出現は前者16例中4例(25%)、後者4例中4例(100%)で有意差($p < 0.001$)を認めた(図4)。

b) T-Bilに関しては、30mg/dlを境にして30mg/dl以下のもの17例、30mg/dlを越えるもの3例で、おのおの肝組織銅含量は 36.69 ± 21.91 , 77.60 ± 12.08 であった。平均値に差を認めると同時に、銅含量高値例の出現頻度は前者17例中5例(25.4%)、後者3例中3例(100%)で有意差($p < 0.001$)を認めた(図5)。

c) T-Bilと死亡時までの発黄期間の積算に関しては、300と1000を境にして300以下のもの9例、300~1000のもの8例、1000を越えるもの3例で、

図5. 総ビリルビンによる肝組織銅含量の検討

図6. 総ビリルビンと死亡時までの発黄期間の積算による肝組織銅含量の検討

おのおの肝組織銅含量は 26.58 ± 13.96 , 50.62 ± 27.81 , 70.78 ± 5.61 であった。平均値のみの比較で差を認めると同時に、銅含量高値例の出現頻度は300以下のもの9例中1例(11.1%)、300~1000のもの8例中4例(50%)、1000を越えるもの3例中3例(100%)で有意差($p < 0.005$)を認めた(図6)。

(4) 血清銅・CP

① 血清銅

対照 $101.37 \pm 18.18 \mu\text{g/dl}$, 肝硬変 $102.70 \pm 26.50 \mu\text{g/dl}$, 胆道閉塞 $162.55 \pm 40.00 \mu\text{g/dl}$, 胆汁性肝硬変 $210.10 \pm 72.66 \mu\text{g/dl}$ であり(図7), 対照に比し胆道閉塞, 胆汁性肝硬変において有意に($p < 0.001$)銅は高かった。

② 血清CP

対照 $36.51 \pm 6.57 \text{mg/dl}$, 肝硬変 $36.58 \pm 10.12 \text{mg/dl}$, 胆道閉塞 $59.13 \pm 15.44 \text{mg/dl}$, 胆汁性肝硬変 $59.18 \pm 15.85 \text{mg/dl}$ であり(図8), 対照に比し胆道閉塞, 胆汁性肝硬変において有意に($p < 0.001$)CPは高かった。

③ 血清銅/CP比

対照 0.0028 ± 0.0002 , 肝硬変 0.0028 ± 0.0004 , 胆道閉塞 0.0028 ± 0.0003 , 胆汁性肝硬変 0.0035 ± 0.0004 であり(図9), 対照に比し胆汁性肝硬変のみ有意に($p < 0.001$)血清銅/CP比は大であった。

考 案

肝組織銅含量は、種々の測定法・表示法により報告されてきたが、方法論上、安定した値が得られるようになったのは1950年代後半である。1956年以降報告された健康成人の肝組織銅含量を総括すると、平均 $6 \mu\text{g/g}$ 湿重量($3 \sim 9 \mu\text{g/g}$), $32 \mu\text{g/g}$ 乾燥重量($6 \sim 55 \mu\text{g/g}$), $660 \mu\text{g/g}$ 灰重量($230 \sim 1300 \mu\text{g/g}$)である⁵⁾。著者らの成績でも、正常肝組織銅含量は平均 $26.55 \mu\text{g/g}$ 乾燥重量($6.81 \sim 46.29 \mu\text{g/g}$)であり、諸家の報告^{7)~11)}とよく一致している。

肝組織銅含量の増加する疾患としては、Wilson病, PBCをはじめとして長期の胆汁うつ滞をきたすものがあげられ、また、そのほかの肝疾患でも高値を示すことが知られている¹⁾。各疾患における肝組織銅の蓄積機序はそれぞれ異なつたもので

図 7. 血清銅

図 8. 血清セロプラスミン

図 9. 血清銅/セロプラスミン比

あり、肝を中心に考えた場合には、銅が肝に取り込まれ、貯蔵され、一部はCPに合成されて血中に、さらに一部は胆汁中に排泄され、上部小腸で再吸収されるという一連の代謝経路の中で、そのいずれの部分にも原因を求めることができる。

著者らの成績で見られるごとく、胆道閉塞と肝硬変では、肝組織銅含量についての度数分布が異なっている。この原因は、両疾患における肝組織銅増加の機序の相異にあるものと推察される。そこで、肝組織銅の蓄積をきたす因子を検討しながら、以下に考察する。

胆道閉塞では、たとえ閉塞によりT-Bilが高値であつても、胆汁流出があり減黄が見られるものは肝組織銅含量正常である。一方、銅含量高値であつたものは全例胆汁流出（－）群である。すなわち、肝組織銅含量高値例は全例が完全閉塞を呈した症例であるが、このような例でも人為的に減黄術を行ない、減黄効果が認められれば肝組織銅は減少すると解釈される。さらに、胆汁うつ滞の指標となり得る死亡時までの発黄期間・T-Bil・T-Bilと死亡時までの発黄期間の積算に関する検討で、肝組織銅含量との間に有意の関連性を認めている。このことから、胆道閉塞においては、胆汁排

泄の障害により銅の胆道を介した排泄が減少して肝組織に銅が蓄積することが考えられる。これは、一般に述べられている考え方^{13)~13)}であり、それが最も妥当と思われる。また、その際、胆道閉塞の程度と期間はおのおの別個の条件としても銅含量の増加に影響し得ることが、T-Bilや死亡時までの発黄期間との関連性から証明された。胆道閉塞の期間としては6カ月以上の長期であれば肝組織銅含量が高値の傾向を示すとされている¹⁾が、著者らの対象は全例6カ月以内のものであつた。しかし、死亡時までの発黄期間2カ月を境にして有意差が認められたことから、閉塞期間は6カ月以内であつても肝組織銅の蓄積機転は働いているものと思われる。このように、閉塞期間によつて肝組織銅含量が影響されるということは、胆道閉塞における銅の肝内蓄積に胆汁流出の有無が大きな役割をはたしていることを強く支持するものである。

かつて、著者らはPBCにおける肝組織銅含量増加の機序について考察した⁶⁾。PBCは、胆管崩壊による胆汁うつ滞と同時に肝硬変をきたし、肝疾患において二面を兼ね備えた特異な疾患として位置づけられており、換言すれば、本報告における肝

硬変と胆道閉塞の両者にまたがった疾患とも考えられる。その考察の中で、著者らは、PBCの血清銅/CP比が大であることを指摘した。そこで、今回改めて、健康成人46例、肝硬変56例、胆道閉塞20例、胆汁性肝硬変3例(10検体)における血清銅・CPの検討を行なった。その結果は成績の項で述べたごとく、血清銅・CPのおおの単独の値に関しては肝硬変と対照とで差はなく、胆道閉塞や胆汁性肝硬変のように胆汁うつ滞のある疾患で高値となる。このことは、胆汁流出障害により胆道を介した銅の排泄量が減少し、代償経路としてのCP合成の増加¹⁾がおこり、それに伴った血清銅の増加が認められることを裏付けている。一方、血清銅/CP比に関しては、肝硬変と胆道閉塞は対照と差がなく、胆汁性肝硬変においてのみ比率が大であった。これは、胆汁性肝硬変においてはCP結合銅のほか非CP結合銅も増加していることを意味している。すなわち、その機転は不明であるが、胆汁性肝硬変においてはCP合成能を上回る肝組織銅排泄機構が存在していると思われる。

さらに、血清銅・CPに関して詳細に検討すると、胆道閉塞では両者が増加するが胆汁性肝硬変に比し低値であり、かつ、血清銅/CP比は正常である。本研究で対象とした胆道閉塞例は短期間で死亡した例が多く、肝細胞機能はよく保たれていることが考えられ、また、非CP結合銅が血清中で増加していないことから、肝におけるCP合成能には余力が残されていると推定される。しかし、CPが胆汁性肝硬変に比して低いことは、代償機構としてのCP合成・血中への放出が充分に発動されていない可能性もある。そこで、胆汁性肝硬変における成績をも合わせて考慮すると、銅蓄積に対する肝の代償機構の発現は、極めて緩徐かつ不十分であり、胆道閉塞における肝組織銅蓄積は、胆汁中および血中への銅排泄量の均衡をそのまま反映していると推定される。従つて、胆道閉塞における肝組織銅増加の原因としては、胆汁の流出障害が主であり、加えて肝細胞内機構もいささかの関与をしていると考えられる。

肝硬変では、度数分布上対照と同じ分布のほか

に不連続性に高値を示すものが見られる。この高値例に関しては肝組織銅含量の増加した原因を検索してみたが、臨床経過に特異な点はなく、臨床検査所見も他の症例と大差を認めず、病理解剖学的にも明らかな閉塞機転はなく、結局、その原因となる因子を見出すことはできなかった。銅高値群10例中8例(80%)、銅正常値群20例中11例(55%)に剖検肝の肉眼的黄染が見られ、両群間に統計学的有意差は認められなかったものの、黄染の実体である胆汁栓の存在部位が両群間で異なる可能性も考えられた。そこで、組織学的に胆汁栓の存在部位(肝細胞・毛細胆管・細胆管など)の比較検討も行なつたが、やはり、その差異は認められなかった。

肝硬変における肝への銅の取り込みに関しては、取り込みが増加するという報告はなく、逆に減少することが証明されている¹⁴⁾。その理由としては、肝血流量減少に基づく銅灌流量減少の可能性も考えられたが、今回の検討のみでは、取り込みに関する適切な論理は導き得なかつた。しかし、もし取り込みの低下があるとすれば、それにもかかわらず肝硬変の肝組織銅含量は増加傾向であることから、取り込みの低下を上回る銅蓄積機序の存在が示唆される。

肝硬変では銅のCPへの導入が減少し、CP合成が減少するため、CP合成の前段階の肝細胞内銅貯蔵量が増加する¹⁵⁾という報告がある。一方、CP合成はestrogenにより促進されるが¹⁶⁾、肝硬変ではestrogen代謝が低下し、estrogenの絶体量が増加する。その結果として生じるCP合成の増加¹⁷⁾は肝組織銅含量の減少に貢献していると考えられている¹⁸⁾¹⁹⁾。このように、肝硬変におけるCPの合成・放出は、その肝細胞障害の様式によつて異なるため、これら諸機構の異常によつて肝組織銅含量の増加する可能性がある。

また、肝硬変では、肝内のcollagenが増加し、線維化が進展するために銅の異常蓄積がおこるといふ記載²⁰⁾も見られるが、この論拠は明らかにされていない。ただ、正常に比し、肝硬変では線維組織が不規則に入り乱れているため、肝実質内の銅

の分布も不均一になるということは確認されている¹¹⁾。しかし、このことが測定値に大きな影響を及ぼすことはなく¹¹⁾、著者らも、同一肝硬変症例の数か所から別個に採取した肝組織の銅含量を測定し、これが10%の誤差範囲内にあることを確認している。

本研究における肝硬変例の検討では、胆汁流出障害はなく、血清銅・CPも正常範囲内にあった。ここで、肝組織銅含量増加の傾向があるにもかかわらず血清CP値が上昇していないことから、正常のCP放出能を上回る肝内への銅蓄積の要因があると考えざるを得ない。また、代償性に血清CPが増加し得ないことは、肝硬変における蛋白合成能の低下によるものであろう。すなわち、肝硬変における肝組織銅含量の増加に関しては、肝細胞内の諸機構に主たる原因を求めるべきであり、胆道閉塞や胆汁性肝硬変とは趣を異にした病態であるとする。しかし、著者らの成績では、肝硬変における肝組織銅含量と各種検査所見との間に何らの関連性も認められなかった。従つて、肝硬変における肝組織銅の蓄積機序を一元論的に解釈することはできず、諸家の報告^{9)~11)}と同様、現段階ではまだ現象論にとどまるものとなつた。

以上、肝硬変および胆道閉塞における肝組織銅含量を測定し、肝組織銅含量の増加をきたす因子を検討し、さらに、銅の代謝回転を考慮したうえでの血清銅・CPに関する考察も加えた。胆道閉塞における肝組織銅の蓄積機序には胆汁流出という因子が大きく関与していると考えられたが、肝硬変においては一元論的な解釈はできなかつた。肝硬変の臨床検査成績に影響を及ぼす因子は複雑であるため、肝組織銅含量との関連性を検討するにあたっては、さらに詳細な条件を設定したうえでの分析が望ましい。

結 論

肝硬変30例および胆道閉塞20例を対象として肝組織銅含量を測定し、次の結果を得た。

1) 肝組織銅含量は対照 26.55 ± 9.87 、肝硬変 55.28 ± 70.67 、肝道閉塞 42.83 ± 25.38 であり、肝組織銅含量高値を示すものは、対照に比し肝硬変

および胆道閉塞に出現する頻度が有意に高かつた。また、その度数分布から、胆道閉塞と肝硬変における肝組織銅含量増加の機序は異なるものと推察された。

2) 肝硬変においては、肝硬変例をアルコール歴・肝癌合併 剖検肝の肉眼的黄染の有無ならびに死亡時までの発黄期間・諸臨床検査成績・T-Bilと死亡時までの発黄期間の積算により細分類し、肝組織銅含量との関連性を検討したが、いずれも相関性はなかつた。

3) 胆道閉塞においては、胆道閉塞例を胆汁流出の有無・死亡時までの発黄期間・諸臨床検査成績・T-Bilと死亡時までの発黄期間の積算により細分類し、肝組織銅含量との関連性を検討した。その結果、胆道閉塞における肝組織銅含量増加と胆汁流出の有無との関連を裏付ける以下の所見を得た。

① 胆汁流出のない群に銅含量高値の症例が有意に多く、また、銅含量高値群では全例胆汁流出がなかつた。閉塞によりT-Bilが高値であつても、胆汁流出があり減黄が見られるものでは肝組織銅含量は正常であつた。

② 死亡時までの発黄期間に関しては、2カ月を境にして肝組織銅含量高値例の出現頻度に有意差を認めた。

③ T-Bilに関しては、30mg/dlを境にして肝組織銅含量高値例の出現頻度に有意差を認めた。

④ T-Bilと死亡時までの発黄期間の積算に関しては、300と1000を境にして肝組織銅含量高値例の出現頻度に有意差を認めた。

また、血清銅・CPに関しても検討した結果、

(4) 血清銅は対照 $101.37 \pm 18.18 \mu\text{g/dl}$ 、肝硬変 $102.70 \pm 26.50 \mu\text{g/dl}$ 、胆道閉塞 $162.55 \pm 40.00 \mu\text{g/dl}$ 、胆汁性肝硬変 $210.10 \pm 72.66 \mu\text{g/dl}$ であり、血清CPは対照 $36.51 \pm 6.57 \text{mg/dl}$ 、肝硬変 $36.58 \pm 10.12 \text{mg/dl}$ 、胆道閉塞 $59.13 \pm 15.44 \text{mg/dl}$ 、胆汁性肝硬変 $59.18 \pm 15.85 \text{mg/dl}$ であつた。ともに胆汁うつ滞性疾患において有意に高値であり、肝組織銅排泄の代償機転をうかがわせた。また、血清銅/CP比は対照 0.0028 ± 0.0002 、肝硬変 $0.0028 \pm$

0.0004, 胆道閉塞 0.0028 ± 0.0003 , 胆汁性肝硬変 0.0035 ± 0.0004 で, 胆汁性肝硬変においてのみ有意に大であった。このことから, 胆汁性肝硬変においてはCP結合銅のほかには非CP結合銅も増加しており, CP合成能を上回る肝組織銅排泄機構の存在が示唆された。

以上の事実に基づき, 肝を中心とした銅の代謝経路を考慮しつつ, 肝硬変および胆道閉塞における肝組織銅含量増加の機序についていささか考察し, 胆道閉塞における肝組織銅の蓄積には胆汁流出の有無が大きく関与し, 肝硬変における銅蓄積機序としては肝細胞内諸機構に主原因を求めるべきであると考えた。

謝辞 稿を終えるにあたり, 御指導くださいました清水盈行名誉教授, 御協力くださいました本学第一病理学教室 神田実喜男教授, 諸星利男講師, 臨床病理学教室 高木康講師に深謝致します。

文 献

- Smallwood RA: Other liver diseases associated with increased liver copper concentration. Powell LW, ed. *Metals and the liver*, Marcel Dekker Inc, New York and Basel, 1978, p313.
- 保田和雄, 長谷川敬彦: 低温灰化法, 原子吸光分析, 初版, 講談社, 東京, 1973, p215.
- 石井 暢: 血清銅, 臨床検査技術全書第6巻, 臨床化学検査II, 小酒井望, 他編, 初版, 医学書院, 東京, 1975, p300.
- Richterich R: セルロプラスミン: p-フェニレンジアミンによる酵素的方法, 臨床生化学, 一基礎と臨床一, 第3版, 廣川書店, 東京, 1974, p225.
- Bloomer LC and Lee GR: Normal hepatic copper metabolism. Powell LW, ed. *Metals and the liver*, Marcel Dekker Inc, New York and Basel, 1978, p179.
- 小澤明美, 他: 原発性胆汁性肝硬変の1例, 一銅代謝を中心として一, 日消会誌 80: 2596, 1983.
- Sternlieb I and Scheinberg IH: Prevention of Wilson's disease in asymptomatic patients. *New Engl J Med* 278: 352, 1968.
- 中沼安二, 太田五六: 各種肝疾患の肝細胞内に出現する顆粒状オルセイン陽性物質と肝組織内銅量, 日消会誌 75: 1190, 1978.
- Ritland S, et al: Hepatic copper content, urinary excretion, and serum ceruloplasmin in liver disease. *Scand J Gastroent* 12: 81, 1977.
- Fleming CR, et al: Copper and primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 67: 1182, 1974.
- Smallwood RA, et al: Liver-copper levels in liver disease. *Lancet* 2: 1310, 1968.
- Sternlieb I: Copper and the liver. *Gastroenterology* 78: 1615, 1980.
- 清水盈行: Ceruloplasmin, 最新医学 35: 2391, 1980.
- 津田紘輔: 肝疾患とCeruloplasmin代謝に関する研究, 昭医会誌 33: 79, 1973.
- Piaggi V, et al: Radiocopper (^{64}Cu) incorporation into ceruloplasmin in chronic active hepatitis and in liver cirrhosis. *J Nucl Med Allied Sci* 24: 177, 1980.
- Schenker JG, et al: Oral contraceptives and correlation between serum copper and ceruloplasmin levels. *Intern J Fertil* 17: 28, 1972.
- Ventura E, et al: Serum ceruloplasmin in liver cirrhosis. *Gastroenterologia* 107: 360, 1967.
- Evans J, et al: Liver copper levels in intrahepatic cholestasis of childhood. *Gastroenterology* 75: 875, 1978.
- Leeson PM and Fourman P: A disorder of copper metabolism treated with penicillamine in a patient with primary biliary cirrhosis and renal tubular acidosis. *Amer J Med* 43: 620, 1967.
- Elmes ME: Anti-inflammatory drugs and tissue copper. *Lancet* 2: 1329, 1974.