特集 教授定年退職
記念講演

順天堂医学 45(2)
p. 151~162 (1999)

30年間の研究生活に感謝をこめて**

Put grateful into research life for thirty years

南部 勝 司*

MASAJI NAMBU

ICG 試験

1960年の始め頃、BSP試験によるショックが相次いで起こったため、BSP試験はほとんど使用されなくなっていた。しかし、この時代ではまだ、肝硬変の診断に、この試験は欠くことができなかったため、何かBSPに代わるものはないかと捜していたところ、アメリカで、カルディオグリーンという商品名で心臓機能検査に使用されていた色素〔一般名 インドサイアニングリーン (ICG)〕があって、この色素は血中からの消失が早く、胆汁中への排泄も速やかであることが認められたため、BSPの代わりにこの色素を使用することにした。ICGは、1957年、フィルムカメラメーカー；コダック社のBrookerにより合成されたTricarbocyanine系の色素である。

これを臨床に用いるためには、BSPと同じように血中停滞率として現わさなければならない。当時はまだ電算器もなかった頃であったから、各研究者は苦勞をして、それぞれの方法を算出し、報告している。著者は、ICGを体重kg当たり0.5mgを静注し、10分 15分および20分の血中消失曲線の吸光度と血中消失率 (K) との関係を検討し

た結果、15分値に最も密接な関係が認められ、この関係は正常対照および各種肝疾患においても同様であった (図-1)。また、Kが正常値 (0.187 ± 0.019) を示した症例30例中、血中停滞率 (R) が10%以下の肝硬変例は1例のみであり、Kが0.150以下でRが10%以下の症例は7例 (4.9%) であった。したがって、Rの正常値を10%以下とすれば、これらは5%以下の危険率で信頼限界内にあり、このことから、Rを現わす場合には15分値をとるべきものと考えられた。すなわち、著者の方法は、ICGを静注負荷した後、15分に採血 (一般的にはICG静注の対側の肘静脈で行って

図-1 15分値 (停滞率) と血漿消失率との相関

*順天堂大学医学部内科学教室消化器内科学講座 (浦安病院) 教授

Urayasu Hospital of Juntendo University School of Medicine, Chiba, Japan

**第288回順天堂医学会学術集会 [Mar. 31, 1999 開催]
[Apr. 12, 1999 原稿受領]

るが、静注と同側の肘静脈および最初のICG静注と同部位から採血しても、測定値に差はなかった)して、その血中停滞(R₁₅)が10%以下であった場合を正常値とした。

多くの報告例の中から、幸いにも、著者のこの方法が学会で採用されることになり、現在、広く使用されている。

新しい遺伝性病態の発見 (体質性ICG排泄異常症)

同一症例で、BSP R₄₅とICG R₁₅を同時期に測定してみると、この両者の間にはほぼ相関が認められたが、相関軸からひどく離れて存在する症例がみられた。そこで、内科から外科へ転科する全症例について、術前検査の目的で、BSPとICGの血中消失曲線を観察すると、BSPの血中消失は正常でもICGの消失が極度に遅延している症例がみつかった(図-2)。この症例について、15分から25分にかけて、細かく採血して血中消失曲線を描かせると、ICG静注後20分前後でステッ

図-2 同一症例でBSP血中消失曲線が正常でICG血中消失曲線が極端に遅延していた症例
(体質性ICG排泄異常症)

プを形成していることが認められた(図-3)。これは、このICGの血中からの高度の排泄遅延が、血中のICGが肝細胞に取り込まれる過程において何らかの障害があることを示しているのではなかろうか、と考えた。

家族内発生をみるために、家族内調査を行うと、調査を行ったほとんどの症例で家族内発生がみられた(図-4)。このことから、本疾患は遺伝性の疾患であろうと考えた。そこで遺伝子の解析を行うと、Glutathione S-transferase (GST) 1 遺伝子に障害のあることがわかった(図-5)。これらのことから、ここに新しい遺伝性病態の発見と

図-3 体質性ICG排泄異常症のICG血中消失曲線にみられたステップ形成

図-4 体質性ICG異常症における家族内発生

図-5 体質性黄疸における Glutathione S-transferase 1 (GST1) 遺伝子の障害

なった。そこで、これに対して体質性ICG排泄異常症 (Constitutional indocyanine green excretory defect) と名付けた。1965年から1990年までの25年間に、著者はこの症例を20例経験している。

体質性黄疸の立方体仮説と 新しい体質性黄疸の発見

1940年の末頃から1960年にかけて体質性黄疸が次々と報告された。これは予後が良好な疾患であるからあまり関心が持たれなかったが、ビリルビンの代謝が注目された。古くは、1901年に Gilbert と Lareboullet が《cholémie simple familiale》として発表したことに始まる。しかしこの頃は、この疾患が体質性黄疸であるとの認識はなかった。

体質性黄疸が、新しい黄疸の概念として注目されたのは、1948年 Rotor らが、1953年 Johnson, 1958年 Dubin が、非溶血性の過ビリルビン血症として報告した、いわゆる Rotor 症候群および Dubin-Johnson 症候群の発見に負うところが大きい。1952年には Crigler と Najjar が、いわゆる

図-6 体質性黄疸における立方体仮説

『Crigler-Najjar 症候群』を発表し、さらに、1960年には Lucey と Driscoll が、新生児で、母体ホルモンに関係があると考えられている、『Lucey Driscoll 症候群』を発表した。間接型ビリルビン優位の疾患としては Gilbert 症候群と Crigler-Najjar 症候群 I 型と II 型 (成人型) があり、直接型ビリルビン優位の疾患としては Rotor 症候群と Dubin-Johnson 症候群がある。著者は1990年までに、Gilbert 症候群20例、Crigler-Najjar 症候群 II 型を1例、Rotor 症候群28例、Dubin-Johnson 症候群21例、あとで述べる、新たに発見された体質性黄疸1例の計71例を経験している。

著者は、これらの71例について詳細に検討した結果、これらの疾患は図-6に示すような、ビリルビン、BSP・ICGを軸とする立方体の各コーナーに位置するものと考え、立方体仮説を提唱した。しかし、この仮説が成立するためには、一つだけ空席のコーナーがあり、この体質性黄疸の存在が確認されなければならない。これは BSP だけが高度に異常な体質性黄疸である。著者は必死になってこの疾患を追求めたのであるが、なかなか見付けることができなかった。もう、このような疾患は存在しないのであろう、と諦めていたところに、大変幸運なことに、患者の方からやってきてくれた。1979年のことである。

症例：29歳 男性、旧国鉄職員
主訴：黄疸

既往歴：特記すべきことはない

家族歴：母親にも黄疸があり、疲労時増強するという。

現病歴：15歳頃から、家族に黄疸を指摘されていた。この当時、近医で肝炎と診断されて約1ヵ月間入院治療を受けたが黄疸は軽快しなかった。母親の話によると、新生児期より黄疸が強く、それがかなりの期間遷延したという。特に自覚的な訴えがなかったので、その後は放置していたが、1979年10月、視力障害を訴えて某病院を受診した際黄疸を指摘され、その精査のために、1979年10月22日、旧国鉄中央鉄道病院消化器内科に紹介され入院した。

入院時現症：体格、栄養中等。眼球結膜と皮膚に黄疸を認めるが貧血はない。脈拍74/分、整。血圧120/70mmHg。胸部に異常なく、心音は清。腹部は平坦で、肝、脾は触知しない。クモ状血管腫や手掌紅斑などの所見もみられない。

入院時検査成績：血清総ビリルビン値は 2.3 mg/dl (D-Bil. 0.9 mg/dl)であったほかは、肝機能検査成績に著変はなかった。血液検査で貧血はなく、 ^{51}Cr 赤血球寿命 ($T_{1/2}$) 33日、赤血球抵抗最大0.34%，最小0.46%，クームス試験直接・間接とも陰性で、溶血を示す所見はなかった。

BSP血中消失曲線：図-7に示すように、BSP

図-7 新たに発見された体質性黄疸のBSP血中消失曲線とBSP R₄₅値

の血中での初期消失はいちじるしく遅延しており、BSP R₄₅も25.6%と高度の異常を示した。標式物質 ($^{99\text{m}}\text{TC-HIDA}$ と $^{99\text{m}}\text{TC-PI}$)の胆管への排泄はほぼ正常であった。

胆汁中ビリルビン分画：エステル型ビリルビンの中で占めるグルクロン酸抱合型ビリルビンのモル比が減少しており、肝におけるグルクロン酸抱合能の低下が示唆された。

胆汁中胆汁酸所見：各胆汁酸の組成比の、ケノデオキシコール酸に対する比率、総胆汁酸の中で占める割合ともに正常であった。

腹腔鏡所見：肝の表面は平滑で腫大はなく、色調も正常であった。肝生検による組織学的所見では、光顕では著変を認めなかったが、電顕ではDisse腔内細網線維の増加、糸粒体の腫大変形とパラクリスタリン包入体の出現などの所見がみられた。

ICG血中消失曲線：図-8に示すようにICGの血中からの排泄は正常で、ICG R₁₅も9.8%と正常範囲内にあった。

以上の所見から、新しい体質性黄疸の発見とな

図-8 新たに発見された体質性黄疸のICG血中消失曲線とICG R₁₅値

った。また、この発見によって、先に述べた立方体仮説も証明されたものと考えている。

沖縄県久米島でみられた体質性黄疸のcluster

沖縄県久米島の一部落から集団就職でやってきた1少女を発端患者にして、この少女が初診で訪れた横浜船員保険病院と東大の医科研それに著者ら、の3施設で協同研究を行うことになった。1976年のことである。当時、この部落の人口は988名で、その中から体質性黄疸が疑われた患者を、保険婦に島の公民館に連れてきてもらって、そこで著者らが検査をして、検体は直ぐに飛行機で那覇に送り、琉球大学で検査をするか、凍結血清にして持ち帰って検査を行った。この調査の結果、部落には約20名の体質性黄疸患者が存在することがわかった。そして、これらの患者は図-9に示すような4家系に限定されていた。

3家系では、同一疾患から成っていたが、1家系（NS家系）ではDubin-Johnson症候群とRotor症候群が混在しており、注目された。しかしこれは、父親がDubin-Johnson症候群の家系、母親がRotor症候群の家系で、両型が混在している極めて稀な家系であることが判明した。発端患者の少女はこの家系の1員である。この少女の兄（当

時19歳）に著明な黄疸がみられた。Rotor症例群であった。彼の血清総ビリルビン値は 57.5 mg/dl で、あまりの高値に、最初は信用することができず、何回も測定を繰り返したが間違いではなかった。肝外閉塞性黄疸で、強い黄疸患者をしばしば経験するが、それでも 30 mg/dl から 40 mg/dl 程度の黄疸であるから、この 60 mg/dl に近い黄疸がどれほどのものかご想像いただけたと思う。

青年の、中学での成績は優秀であったが、このような高度の黄疸のために自閉症になり、高校に進学せず、砂糖黍栽培とか道路工事などの重労働に携わっていた。汗が出ると白い下着が真黄色になり、絞ると黒黄色の汗が滴り落ちた。風の便りに、最近、彼が自殺したと聞いたので、1986年の暮、久米島に出かけた。最初の調査から12年目である。体質性黄疸は予後も良好で、腎障害などの臓器障害はみられず、重労働に携わっていたのにもかかわらず自覚的訴えもなく、普通の生活を送っていた。 60 mg/dl に近い黄疸がありながら、このように普通の生活ができることは、現在の医学常識ではとうてい説明することのできない、極めて重要な現象と考えられる。

ビリルビンの構造が、肝疾患で出現するビリルビンとは異なるのではなからうか、と考えられて研究されたこともあったが、現在は、この両者に

図-9 沖縄県久米島の1部落における体質性黄疸のclusterと家系図

違いはない、と考えられている。この青年の死亡の原因が知りたくて久米島まで出かけたのであるが、家族には会ってもらえず、彼の親戚だという老母から話が聞けた。彼女の語るところでは、彼は酒を飲み過ぎて死んだというが、自殺者を出すことを非常な汚名と考えている閉鎖された社会では、はっきりと自殺とはいわぬのが常であり、老母のいい淀んだ口から、著者はやはり自殺ではないか、と感じた。

勿論、剖検はされておらず、死亡に関する何の資料も残されていなかった。体質性黄疸での剖検例はWeber（1948）の報告があるが、これは老人であり、特別の所見は得られていない。

剖検されなかったのはまことに残念であるが（また剖検が行われるような環境ではなかったが）、強い黄疸のために高校にも進学することができず、彼の暗い、若者らしくない顔を思い浮かべるとき、体質性黄疸は予後良好な疾患であるが、精神的予後は必ずしも良好でないことを痛感する次第である。

この頃の久米島には珊瑚礁の素晴らしい自然があり、特に有名なのは、豆腐を作る際の苦塩に海水を用いていたことである。それほど海の水が綺麗だった。しかし、現在は立派なホテルも建ち、羽田から直通便が飛んでいる時代なので、この体質性黄疸のclusterがどのように変化したか、懸念されるところである。

沖縄本島の北100 kmにある火山性の或る離島には、少なくとも500～600年前から人が住んでいたと思われ、同島の主産物である硫黄をもって沖縄本島との交流があった。同島には何回か噴火の歴史があったが、特に、1903年の大噴火を機に、1903年12月より1904年2月にかけて、当時の住民670名が総引きあげを行い、久米島に移住してきた。久米島では1つの部落に住み、現在まで（調査当時）約70年間、2～3世代にわたって、かなり濃厚な血族結婚が繰り返されてきたものと考えられる。1969年12月現在、同部落の人口は988名を数えるが、部落には、久米島内部でも理解し難い、移住前からの特有な方言も伝わってい

て、この部落が閉鎖社会であったことをうかがわせる。体質性黄疸のclusterが形成されるにいったのは、このような背景因子があったからである。

Rotor 症候群の独立

1948年、Rotorらは、それまでに報告されていた、間接型ビリルビンが血中に増加する黄疸例とは異なって、直接型ビリルビンが血中に増加する黄疸患者2家系5例を報告した。1948年といえ、第二次世界大戦後まだ日も浅く、フィリピンは荒廃していて、研究ができる状態ではなかったであろうと思われるが、そこで彼らは、検査技術上の誤りを恐れてか、数回にわたって血清ビリルビン値を測定しなおし、常に直接型ビリルビンが増加していることを確かめて、これが新しい病態であることを示唆したのである。直接型ビリルビン優位の体質性黄疸の報告はこれが最初であった。しかし、この報告は、掲載された雑誌がActa Med Philip.であったためか、注目されることが少なかった。Dubin-Johnson症候群にみられる黒色肝と肝細胞内の色素顆粒は診断上極めて特徴的であり、研究者に強い印象を与えるのに反し、Rotor症候群は診断の決め手になる所見に乏しく、当初は、その存在すら疑問視されがちであった。

しかも、肝細胞内色素顆粒がDubin-Johnson症候群に特有なものでなく、Rotor症候群にも程度の差こそあれ存在する、との報告がみられるにおよんで、Rotor症候群に対する研究者達の眼はますます批判的となった。このような下地があって、Wolfら（1960）、Arias（1961）は、Rotor症候群は独立した疾患とは考えられない、と発表した。特にAriasは、Dubin-Johnson症候群家族3例中の2例に、肝細胞内に色素顆粒が認められたのに、1例では電顕的に観察しても色素顆粒がみられなかったことから、Dubin-Johnson症候群の差は質的なものではなく、量的なものであると述べ、2つのまったく関係のない疾患が同一家族内に独立して存在する可能性は極めて少な

く、Dubin-Johnson症候群とRotor症候群は、共通の機能障害をもった異なった表現型であると考えた。

権威ある人の考えは何の疑いもなく許容されるのが世の常であって、この場合も、それ以来、Rotor症候群はDubin-Johnson症候群の1亜型あるいは不全型（したがって、Rotor型過ビリルビン血症と呼ばれた）とする考えが定着した。しかし、一方では、1959年に、Schiffらが、Rotorらの症例に類似した症例を報告しているし、Dubinもその原著の中で、Rotor症候群との鑑別にふれ、それがDubin-Johnson症候群とは異なった病態である可能性を示唆している。著者らも、Rotor症候群の色素代謝について検討し、これらが、Dubin-Johnsonで特異的とされている、Mandemaら（1960）の、BSP血中消失曲線の再上昇現象とは異なって、BSP、ICG共に高度の血中排泄異常を示すことを、1969年マニラで行われた国際学会で報告し（図-10、1と2）、Rotor症候群はDubin-Johnson症候群の1亜型ではなく、独立した疾患であることを述べた。この報告を、Rotor先生が

聞きに来られて、大変感謝された。

その後、1974年、Wolkoffらによって、尿中コプロポルフィリン代謝が、Dubin-Johnson症候群とRotor症候群でまったく異なることが報告されて、Rotor症候群の独立性が確認された。

新しい血中胆汁酸の発見

1972年、胆嚢のコレステリン結石がケノデオキシコール酸によって溶解されることが報告されて、一時、医学界の話題になったことがある。この際、ケノデオキシコール酸は1日700mgから1200mgを使用したもので、当然のことであるが、腸管内で大量のリトコール酸が発生し、これが血中に入り、肝臓に達して肝障害を起こす症例がみられた。ケノデオキシコール酸で治療を受けた胆石患者の約10%にこの肝機能障害が認められ、問題になった。

わが国で合成され、長い間、細々と、利胆剤として使われてきた薬にウルソデオキシコール酸がある。ケノデオキシコール酸の代わりにウルソデ

図-10の1 体質性黄疸の、ビリルビンとBSPの血中代謝曲線

図-10の2 Rotor症候群におけるBSPとICGの血中消失曲線（両者ともに、血中消失が極端に遅延している）

オキシコール酸を使用して見たところ、ケノデオキシコール酸に優るとも劣らない効果があったことと、副作用がほとんどみられなかったことから、全国的な規模でこの治験が行われることになった。著者らもこの治験に加わったが、その治験例の1例（胆嚢造影で胆嚢内に結石が充満していた、当時35歳の女性）で、ウルソデオキシコール酸（ウルソ）を1日600mg使用した6ヵ月後には胆石はかなり溶解し、治療1年後には完全に溶解して、胆石像はまったく認められなくなった。この症例で問題になったのは、ウルソでの治療6ヵ月目、胆石がほとんど溶解した頃に、強い膀胱炎症状を訴えたことである。

泌尿器科で徹底的に検査をしてもらったが、まったく異常はみられなかった。そこで、何か刺激性の物質が尿に排泄されているのではなかろうかと考え、Gas-liquid chromatography（GLC）を行った。その結果、Gas-liquid chromatogram（ガスクロ像）で、ウルソデオキシコール酸とリトコール酸の中間のretention time（min）に未知の物質のピーク（unknown peak）が明瞭に出現し

ていた（図-11）。また、血清ガスクロ像上にも、同様のretention time（min）に未知のピークが明瞭にみられた（図-12）。そこで、この未知の物質について分析を行った。

1. 方法

血中胆汁酸の抽出は、血清をAmberlite XAD-2に吸着させ、メタノールで溶離させた後、溶媒を留去し、1NのNaOHに溶解させ、n-ヘキサンにより中性脂肪を除去した。次に、1N NaOH中で120℃4時間加熱して加水分解した後、液に塩酸を加えてpHを1.0に合わせ、遊離胆汁酸をエーテル中に抽出した。内部標準物質としてcholanoic acidを加えた後、エーテルを留去して乾固させ、diazomethaneを用いて遊離胆汁酸をメチル化し、続いてtrimethylsilyl（TMS）化してGLCにより分析を行った。GLCは、0.2% Poly-I-110（Chromosorb W-HP）を用い、カラム温度220℃、インジェクターおよび検出器温度265℃、ヘリウム流量40 ml/minの条件で分析した（図-13）。

Solvolysisは、Amberlite XAD-2カラムからの溶離液の溶媒を留去させた後、エタノール：アセ

図-11 ウルソで治療を受けている胆石患者の、尿のGas-liquid chromatogram

図-12 ウルソデオキシコール酸で治療を受けている胆嚢コレステリン結石患者の血清Gas-liquid chromatogram

トン (1:9v/v) 混合液に溶離させ、6Nの塩酸を加えて酸性にし、48時間放置して行った。分解終了後pHを中性に戻し、溶媒を留去させ、残渣に1NのNaOHを加えて溶離させ、n-ヘキサンにより中性脂肪を除去した。塩酸でpHを1.0に合わせ、遊離胆汁酸をエーテル中に抽出し、乾固させた後、これをメチル化し、TMS化して前述の方法でGLCを行った。

胆汁中胆汁酸の測定は、胆汁0.1~0.5 mlに20倍量のエタノールを加え、よく攪拌した後室温にて約24時間放置し、次にこの溶液を3,000 rpm 5分間遠心分離し、上澄液1.0 mlを正確にとり、4 mlの1N NaOHを加え、n-ヘキサンにより中性脂肪を除去した後、血清と同様の操作により中性脂肪を除去した後、血清と同様の操作によりGLCを行った。

薄層クロマトグラフィー (TLC) は、エーテル:酢酸混合液 (50:0.1v/v) を展開溶媒として、

図-13 ヒト血清胆汁酸のGas-liquid chromatography およびGas-liquid chromatography・Mass-Spectrometry

Silica Gel Gの薄層用プレート (メルク社) を用いて行った。展開は3回繰り返した。胆汁酸の検出には10%リンモリブデン酸エタノール溶液を用い、噴霧後105℃で5分間加熱して発色させた。

2. 結果

ウルソを服用している胆石患者の血清をGLCで分析すると、ガスクロ像上に通常検出される胆汁酸以外の未知のピークが明瞭に出現した (図-12)。このピークの相対保持時間 (RRT) は1.96で、リトコール酸 (RRT:1.89) とウルソ (RRT:2.22) の間に出現した。血中の未知物質とウルソの濃度には有意の相関は認められなかった ($r=0.3790$)。

未知物質のガスクロマトグラフィ・マススペクトロメトリー (GC-MS) による分析では、マススペクトル (GC-MS像) は、ベースピークが m/e 370に存在し、これ以外の特徴的なイオンとして m/e 460, 355, 262, 255, 249, 243, 213, 201などが認められた。このガスマス像上の明瞭な2つのピーク、 m/e 460 (M-90) と370 (M-2×90) は、この未知物質がdihydroxy胆汁酸であることを示している。また、 m/e 243のピークは、Sjövallらによって3, 7-dihydroxy胆汁酸のTMS誘導体に特異的なフラグメントであると報告されているもので、このピークが明瞭に出現したことは、未知胆汁酸の水酸基が3と7位にあることを示すものと考えられた。

GC-MSによる結果から、未知の物質がdihydroxy胆汁酸で、2つの水酸基は3と7位に結合することが推定されたが、さらに、水酸基の結合位置を確認するために、患者血清についてTLCを行い、薄層上の、未知物質の部位の部分をかきとり、クロム酸酸化してoxo-胆汁酸に転換させた後GLCで分析した。得られたdioxo-胆汁酸はGLC像上でそのRRTが既知の3, 7-dioxo胆汁酸のRRTと一致した。通常、ヒト血清中にみられるdihydroxy胆汁酸の水酸基結合部位としては、3, 7位以外に3, 6位と3, 12位が考えられるので、これらのdioxo-胆汁酸のGC-MS像を求めて、未知胆汁酸のそれと比較した結果、未知胆汁

酸のGC-MS像は3, 7-dioxo胆汁酸に一致した。これによって、未知物質の水酸基結合位置は3と7位であることが決定された。

胆汁酸の水酸基は α と β の2つの配位をとり得るので、dihydroxy胆汁酸には理論的に4種のepimerが存在する。このうち、3 α , 7 α 配位のケノデオキシコール酸(RRT: 1.59)と3 α , 7 β 配位のは、GLCによるRRTが未知物質のそれと明らかに異なるため除外された。したがって、残る2つのepimer, すなわち、3 β , 7 α 配位と3 β , 7 β 配位をとる胆汁酸との比較をGLCおよびGC-MSによって行った。これらの胆汁酸は、東京田辺製薬株式会社において合成され、提供を受けたものである。ガスクロ像上の未知物質のピークは3 β , 7 β -dihydroxy胆汁酸に一致したが、

さらに、この両者のGC-MS像を比較すると、それはまったく同じであった。これによって、ウルソ服用中の胆石患者の血清中に見出された未知の物質は3 β , 7 β -dihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid (3 β , 7 β -コラン酸)と同定された(図-14)。3 β , 7 β -コラン酸はウルソの3位の水酸基のepimerである。

血中3 β , 7 β -コラン酸の抱合型を、図-15に示すような3通りの方法で検討した。まず最初に、アミノ酸抱合型について検討した。血清胆汁酸を前述の方法で抽出した後、アルカリ加水分解を行ったもので行わなかったものについてGLCで分析すると、いずれでも、3 β , 7 β -コラン酸は明瞭なピークで出現したが、両者でピークの高さにはほとんど差がなかった(図-16)。そこで、

図-14 3, 7-dihydroxy-5 β -cholan-24-oic acidsと未知物質の4つの authentic epimersのメチルエステルTMS GC-MS像

標式Dの物質と未知物質のGC-MS像が完全に一致した。

これらの測定値の平均値と標準偏差 (SD) を求めると、アルカリ加水分解を行わなかったもの (遊離型) では $0.64 \pm 0.32 \mu\text{g}/\text{ml}$ (SD), 行ったもの (遊離型+アミノ酸抱合型) では 0.64 ± 0.31 (SD) となり, その比は 1.00 ± 0.02 (SD) であった。この結果より, 血中で 3β , 7β -コラン酸はアミノ酸抱合型としては存在しないことが示唆された。次に, 硫酸抱合型の有無をみるために, Solvolysis の操作を行った場合 (遊離型+硫酸抱合型) と, さらに Solvolysis に加えてアルカリ加水分解の操作を行った場合 (遊離型+硫酸抱合型+アミノ酸抱合型) の血清について分析した。 3β , 7β -コラン酸のこれらの測定値にはほとんど差がなく, この物質は血中で硫酸抱合型としては存在しないものと考えられた。

胆汁を, まずアルカリ加水分解を行わないで分析し, さらに機器の感度を20倍に上げて (測定限界 $0.005 \mu\text{g}/\text{ml}$) 測定したが, 3β , 7β -コラン酸のピークは検出されなかった (図-17)。しかし, 胆汁酸濃度が微量であるために, 他の胆汁

酸, 特にリトコル酸のピークの裾に含まれてしまう可能性も否定できないので, この確認を372 (リトコル酸検出に用いる) と370 (dihydroxy胆汁酸の検出に用いる) に設定して分析した結果, m/e 372によるリトコル酸のピークは認められたが, 3β , 7β -コラン酸のベースピークである m/e 370 ではまったくピークが検出されなかった。m/e 372 のフラグメントは, 3β , 7β -コラン酸によっては生成されないもので, 胆汁中に, 3β , 7β -コラン酸は存在しないことが確認された。硫酸抱合体についても, 血清と同様に操作して分析したが, まったく検出されなかった。

すなわち, 3β , 7β -コラン酸は血中に存在し, 1部は尿中に排泄されるが, 大部分は肝臓に達し, ここで何らかの epimerase の作用によって 3β から 3α への配位転換が起こり (ウルソになる), そのほとんどは再び血中に入るが, 1部は胆汁中に排泄されるものと考えられる。いわゆる, iso胆汁酸 (isoウルソ) といわれているものである (図-18)。

図-15 ヒト血清および胆汁中の抱合型胆汁酸, 非抱合型胆汁酸の Gas-liquid chromatography による検出法

3β , 7β -コラン酸は、ウルソ服用前の血清中でも検出されることがわかった (図-19)。これを、健常者5例で測定した値は 0.08 ± 0.07 (SD) $\mu\text{g}/\text{ml}$ (総胆汁酸に対する割合: $7.8 \pm 6.2\%$) であった。これによって、血中に新しい胆汁酸が発見されたことになった。

図-16 ウルソ投与中の健常人で、血清胆汁酸の分析にアルカリ加水分解が及ぼす影響

図-17 ウルソで治療を受けている胆嚢コレステリン結石患者の、胆汁中胆汁酸のGas-liquid chromatograms

3β , 7β -コラン酸と、先に述べた、ウルソ服用中にみられた膀胱炎症状との因果関係であるが、多数の治療例の中で膀胱炎症状を起こしたのはこの1例のみであったこと、さらに、この症例でも、治療を続けたにもかかわらず膀胱炎症状は直ぐに軽快したことから、この両者間に、恐らく因果関係はないものと考えている。

稿を終えるに臨み、ご指導を賜った浪久利彦名誉教授、教室の諸先生方および東京田辺製薬株式会社の大浜宏文氏・前田 稔氏に心からお礼を申し上げます。

図-18 3β , 7β -コラン酸の代謝 (iso胆汁酸)

図-19 ウルソで治療前の健常人血清 Gas-liquid chromatogram