

肝疾患における胆汁酸検査の新しい視点

—グルカゴン負荷の意義—

奈良県立医科大学第3内科学教室

山田全啓

A NEW PERSPECTIVE OF SERUM BILE ACID DETERMINATION IN
PATIENTS WITH LIVER DISEASES
—SIGNIFICANCE OF GLUCAGON STIMULATION TEST—

MASAHIRO YAMADA

The Third Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received March 30, 1994

Abstract: Temporal changes in serum total bile acid (TBA) level after glucagon loading were investigated in patients with liver diseases. According to the fluctuation pattern, these changes were divided into four types: with early drastic drop followed by low maintaining levels (Type I), initial decrease followed by late increase often over preload levels (Type II), initial increase followed by late decrease (Type III) and no remarkable changes (Type IV).

Patients at the florid stage of acute hepatitis showed Types III and IV. Patients at the convalescent stage of acute hepatitis and patients with compensated liver cirrhosis showed Types I and II. Types I, II, III and IV were observed in patients with decompensated liver cirrhosis. Patients with extrahepatic obstructive jaundice showed Type IV. Temporal changes in cholic acid (CA) and chenodeoxy cholic acid (CDCA) levels were similar to those of TBA. Decrease of CA/CDCA ratio and increase of G/T ratio were found in patients with Type I.

In patients with liver cirrhosis, percental changes in serum TBA level 15 minutes after an administration of glucagon (%G•TBA 15 min.) were significantly correlated with hepaplastin test, prothrombin time, ICG Rmax and cyclic AMP (cAMP) level 15 minutes after glucagon administration.

Glucagon induced changes in serum TBA in patients with liver cirrhosis were reproduced by DBcAMP infusion. These observations indicate that these changes are mediated by a cAMP - dependent process.

It is suggested that determination of serum TBA after glucagon loading is useful to estimate the severity of liver cirrhosis and evaluate the specific liver functions concerned.

Index Terms

bile acid, dibutyryl cyclic AMP, glucagon, hepatic functional reserve, ICG

緒 言

胆汁酸は、肝細胞でコレステロールから合成され、抱合を受けた後胆汁中へ分泌される。胆汁成分として腸管内に流入した胆汁酸の大部分は、回腸末端から吸収され、大腸に至った残りの胆汁酸は、腸内細菌により種々の変換を受けた後、再吸収あるいは排出される。門脈を経て肝に戻った胆汁酸は肝細胞に効率よく摂取され、再び胆汁中へ分泌される。これがいわゆる胆汁酸の腸肝循環と呼ばれるものであり、体内の胆汁酸の大部分はこの閉鎖的な腸肝循環内に存在する。したがって、全身循環中には胆汁酸はごく微量しか存在しない¹⁾。この胆管、胆嚢、腸管、門脈、肝で構成される胆汁酸の腸肝循環系のいずれの部位に障害が生じて、胆汁酸動態や胆汁酸プールに変動をきたす。これが末梢血中胆汁酸濃度の異常として検知され、この濃度の上昇は肝実質障害および胆汁うっ滞の鋭敏な指標として臨床的に応用されている^{2)~6)}。

一方、膵 α 細胞より分泌されるグルカゴンは、肝臓に対して肝細胞内 cyclic AMP(cAMP)増加作用^{7)~9)}、胆汁分泌増加作用¹⁰⁾、有効肝血流増加作用^{11), 12)}などの種々の生理作用を及ぼすことが報告されている。肝臓側の肝細胞膜には $\text{Na}^+\cdot\text{K}^+$ ATPaseが存在するといわれているが、グルカゴンはsecond messengerであるcAMPを介して細胞膜にある $\text{Na}^+\cdot\text{K}^+$ ATPaseを活性化し、 Na^+ の細胞内流入を促進する^{13), 14)}。一方、陰イオンである胆汁酸は、 Na^+ の細胞内流入に共役して類洞側より肝細胞内へ摂取される^{15), 16)}。これらの機構を考えると、グルカゴンは $\text{Na}^+\cdot\text{K}^+$ ATPase活性を促進させ、胆汁酸の肝細胞内摂取にかかわっている可能性が推測される。しかし、現在まで、グルカゴンの胆汁酸代謝に及ぼす影響を検討した報告はほとんどみられない。

著者は肝予備能検査として用いられているグルカゴン負荷試験^{17)~19)}に際し、血清胆汁酸(TBA)を経時的に測定し、グルカゴン負荷後TBAが肝病態によって、様々な変動をとることを見いだした。そこで、グルカゴンの胆汁酸代謝に及ぼすこの影響について、肝疾患の病態別に詳細に検討を加えた。

さらに、この現象を示す細胞生理学的意義を明らかにするため、肝細胞膜を受容体を介さずに通過し、細胞内でcAMPとして作用するdibutyryl cAMP(DBcAMP)²⁰⁾を肝硬変患者に投与し、経時的にTBAの変動を測定し、グルカゴン負荷時の成績と比較検討した。

対象および方法

1) 対象

腹腔鏡、肝生検および臨床所見により診断の確定した肝・胆道疾患患者で、空腹時TBAが $20\ \mu\text{mol/l}$ 以上を示した症例を対象とした。

(1) グルカゴンテスト

肝・胆道疾患患者86例(男性59名、女性27名、平均年齢 55.3 ± 9.5 歳)を対象とした。その内訳は、急性肝炎極期12例(A型ウイルス性10例、B型ウイルス性1例、アルコール性1例)、急性肝炎回復期10例(A型ウイルス性)、代償性肝硬変31例(C型ウイルス性17例、B型ウイルス性7例、アルコール性5例、原発性胆汁性2例)、非代償性肝硬変24例(C型ウイルス性11例、B型ウイルス性8例、アルコール性5例)および肝外閉塞性黄疸9例(総胆管結石7例、総胆管癌2例)である。

(2) cAMPテスト

グルカゴンテストを行った肝硬変患者のうち25例(男性19名、女性6名、平均年齢 51.2 ± 7.2 歳)を対象とした。その内訳は、代償性肝硬変16例、非代償性肝硬変9例である。

なお、両検査を施行するにあたり、胆嚢摘出後例および胆嚢機能異常例、消化管手術後および回腸疾患などにより明らかな吸収不全状態をきたしている症例は、あらかじめ対象から除外した。

2) 方法

(1) グルカゴンテスト

早朝空腹時に安静仰臥位で、グルカゴン1mgを注射用蒸留水10mlに溶解後、約1分間で経静脈的に投与し、負荷前および負荷後15分、30分、60分、120分に採血し、TBA、血漿cAMPを測定した。TBAの測定はMashige et al.の酵素法²¹⁾に従った。血漿cAMPは、あらかじめEDTA $\cdot 4\text{Na}$ を加えた容器に採血し、血漿分離後ヤマサ社製キットを用いてradioimmunoassay法にて測定した。

グルカゴン負荷後の胆汁酸変化率(%G \cdot TBA)は、負荷後のTBA値を前値で割って求めた。血漿cAMPの変化量($\Delta\text{G}\cdot\text{cAMP}$)は、負荷後のcAMP値から前値を引いて求めた。

(2) 胆汁酸分画の分析(HPLC)

胆汁酸の抽出は、血清0.5mlに85°Cのエチルアルコールを適量加え、1分間混合攪拌した後、3500 r. p. m. で5分間遠心分離し、その上清を採取しておき、さらに沈殿

に対して同様の操作を3回繰り返して、これらの処理によって得られた上清を集め、エバポレーターで蒸発乾固した。測定時にはこの乾固物をメチルアルコール100 μ lで溶解し、うち10 μ lを1回の分析に用いた。

胆汁酸構成成分の分離測定システムはHPLC(日立638-50型)と3 α -hydroxysteroid dehydrogenase(3 α -HSD)固定化酵素(JASCO社製)を組み合わせたOkuyama et al.の方法²²⁾に準じた。本法により、胆汁酸は遊離型、グリシン抱合型(G型)、およびタウリン抱合型(T型)のウルソデオキシコール酸(UDCA)、コール酸(CA)、デオキシコール酸(DCA)、ケノデオキシコール酸(CDCA)、リトコール酸(LCA)の計15種類に分離される。なお、HPLCの分離条件をTable 1に示した。

(3) cAMP テスト

cAMPテストは早朝空腹時にDBcAMP(アクトシン[®])300mgを注射用蒸留水100mlに溶解し、0.05mg/kg/min.の速さで120分間で点滴静注した。負荷前および負荷後15分、30分、60分、120分に採血し、TBAを測定した。

DBcAMP負荷後の胆汁酸変化率(%C \cdot TBA)は、負荷後のTBA値を前値で割って求めた。

(4) 一般的肝機能検査

総ビリルビン、TTT、ZTT、GOT、GPT、ALP、LAP、 γ -GTP、ChE、アルブミン、 γ -グロブリン、総コレステロール、プロトロンビン時間、トロンボテスト、ヘパプラスチンテスト等の検査ならびにICG負荷試験を、グルカゴンテストおよびcAMPテストと同一患者で施行した。

(5) 統計学的処理

本論文で使用した成績は平均値 \pm 標準偏差で示した。統計処理は、Studentのpaired t検定およびunpaired t検定を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

成 績

1) グルカゴンテスト

(1) 疾患別血清胆汁酸値の変動

グルカゴン負荷後のTBAの経時的変動を%G \cdot TBAでみると、急性肝炎極期の前値は220 \pm 32.9 μ mol/lで、各症例の前値を100%として15分値99.8 \pm 17.0%、30分値102.7 \pm 24.2%、60分値105.2 \pm 21.6%、120分値98.7 \pm 13.0%と、グルカゴン投与後もTBAはほとんど変動しなかったが、15分、30分と上昇する症例が数例みられた。一方、急性肝炎回復期ではTBAの前値は39.9 \pm 37.4 μ mol/lで、各症例の前値を100%として15分値56.3 \pm 7.1%、30分値59.8 \pm 15.4%、60分値65.2 \pm 36.8%、120分値64.9 \pm 62.6%と、グルカゴン投与15分後から低下した。この際、前値に比し15分、30分、60分および120分値は、 $p < 0.001$ で有意に低値であった(Fig. 1)。

代償性肝硬変ではTBA前値は39.6 \pm 21.1 μ mol/lで、各症例の前値を100%として15分値68.4 \pm 17.4%、30分値58.8 \pm 19.3%、60分値58.3 \pm 29.0%、120分値57.0 \pm 45.3%と、グルカゴン投与後30分まで低下し、60分、120分とそのままの値を保つ傾向を示した。また数例で60分、120分と再上昇がみられた。この際、前値に対し15分、30分、60分値は $p < 0.001$ で、また120分値は $p < 0.005$ で有意差が認められた。非代償性肝硬変ではTBAの前値は57.1 \pm 31.0 μ mol/lで、各症例の前値を100%として15分値93.1 \pm 17.5%、30分値89.0 \pm 23.1%、60分値98.0 \pm 41.5%、120分値102.4 \pm 56.0%と、30分まで経時的に若干低下する傾向を示したが、その程度は代償性肝硬変に比べて明らかに弱く、個別にみるとTBAが不変かむしろ上昇する症例がかなりみられた(Fig. 2)。

肝外閉塞性黄疸ではTBAの前値は83.3 \pm 34.6 μ mol/lで、各症例の前値を100%として15分値100.9 \pm 5.6%、30分値101.2 \pm 13.3%、60分値99.6 \pm 12.6%、120分値98.4 \pm 4.2%と、グルカゴン投与後もTBAはほとんど変動を示さなかった(Fig. 3)。

疾患別に%G \cdot TBA 15分値を比較した成績をFig. 4

Table 1. Operating conditions of HPLC for the determination of serum bile acids

Column	: JASCO Bilepak	Immobilized Enzyme Column	: Enzymepak-HSD
Column Temperature	: 25 $^{\circ}$ C	Column Temperature	: 25 $^{\circ}$ C
Reagent		Reagent	: NAD Solution
Reagent Flow Rate		Reagent Flow Rate	: 0.5ml/min.
Mobile Phase	: A : CH ₃ CN/(10mM KH ₂ PO ₄ , pH7.8) =40/60		
	: B : CH ₃ CN/(30mM KH ₂ PO ₄ , pH7.8) =20/80		
	A/B(0/100) \rightarrow A/B(55/45)		
	Linear 64min.		
Flow Rate	: 1.0ml/min.		

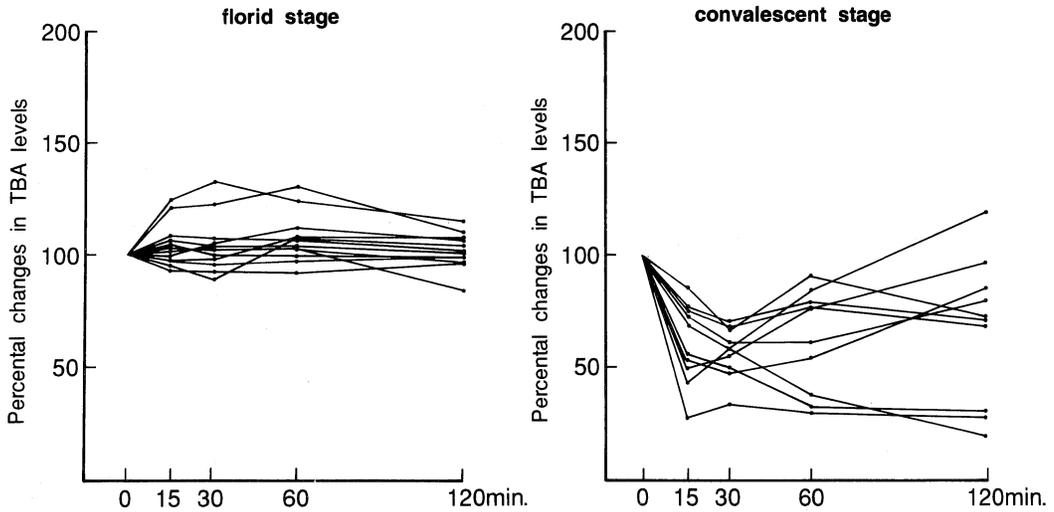


Fig. 1. Percental changes in TBA levels after intravenous administration of glucagon in patients with acute hepatitis.

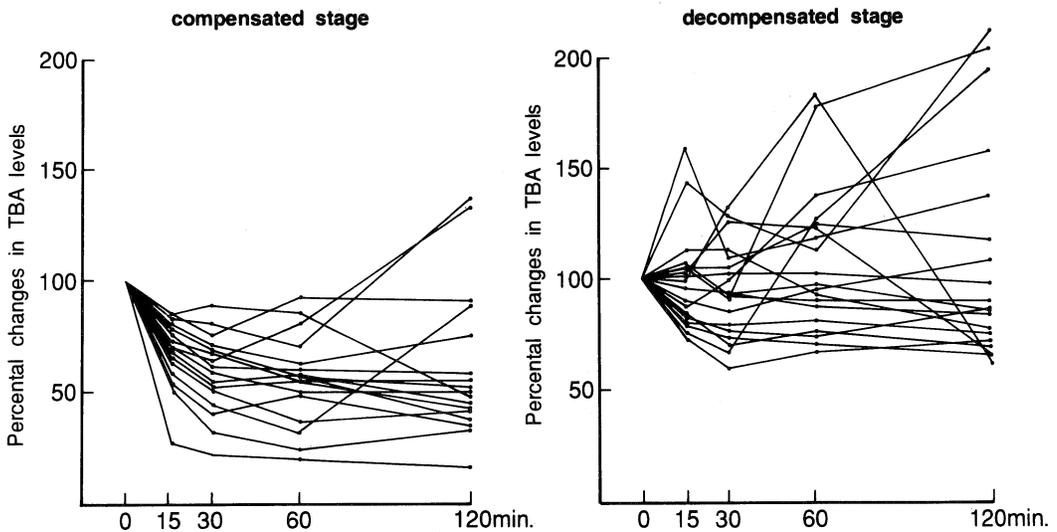


Fig. 2. Percental changes in TBA levels after intravenous administration of glucagon in patients with liver cirrhosis.

に示す。急性肝炎回復期および代償性肝硬変では低下は明らかであるが、非代償性肝硬変では低下例は少なく、急性肝炎極期および閉塞性黄疸ではほとんど変化がみられなかった。

(2) 胆汁酸変動の型分類

グルカゴン投与によるTBAの血中変動は4つのパターンに分類可能であった。すなわち、個々の症例は、Type I：120分まで経時的に低下する型、Type II：初期には

経時的に低下し、その後120分までに前値に戻るか、あるいは前値を上回って再上昇するU字型の変動を示す型、Type III：初期には経時的に上昇し、後で軽度低下する型、Type IV：ほとんど変動しない型のいずれかに分類された。これを症例別にみると、急性肝炎の極期ではType III、IV、回復期ではType I、IIが多かった。肝硬変の代償期ではType I、II、非代償期ではType I～IVまでのいずれの型もみられた。閉塞性黄疸はType

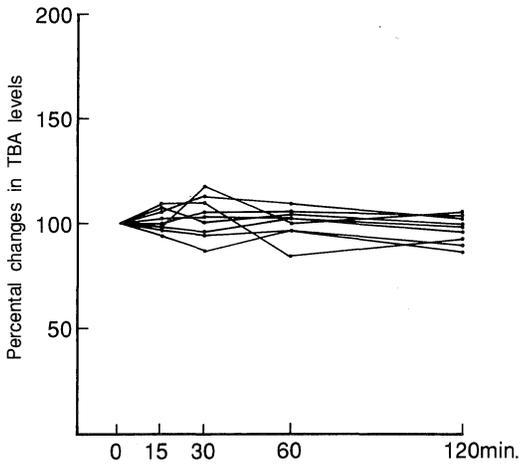


Fig. 3. Percent changes in TBA levels after intravenous administration of glucagon in patients with obstructive jaundice.

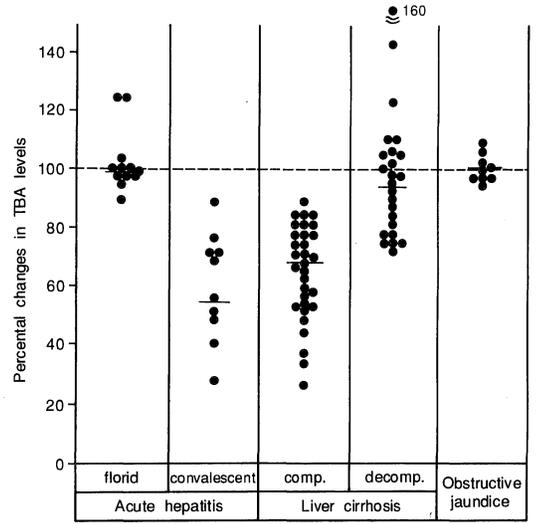


Fig. 4. Percent changes in TBA levels 15 minutes after intravenous administration of glucagon in patients with hepato-biliary diseases.

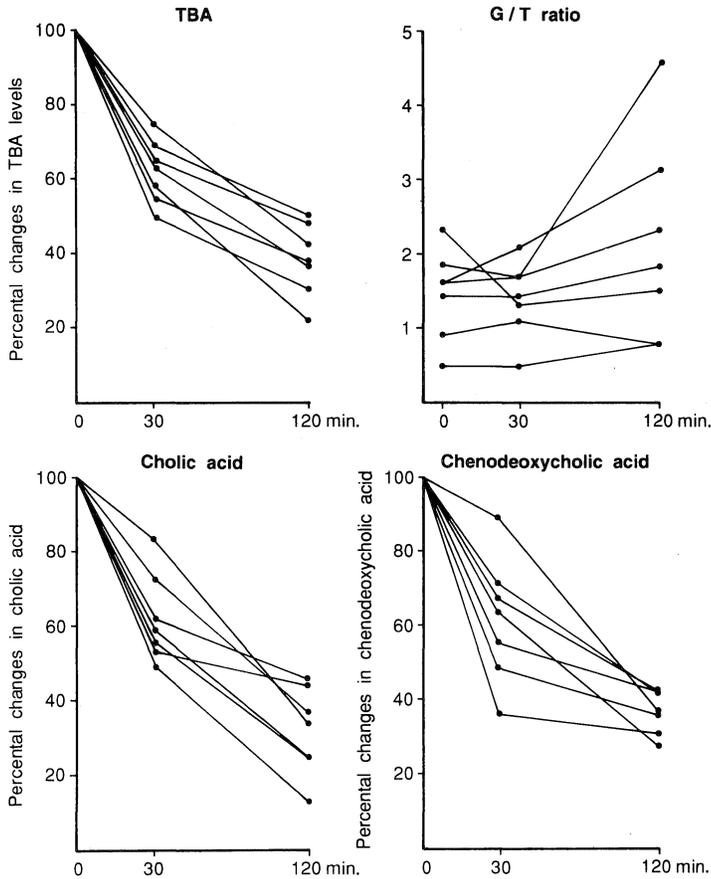


Fig. 5. Bile acid profiles in Type I after intravenous administration of glucagon.

IVがほとんどであった。

(3) 胆汁酸分画の分析

グルカゴン負荷後の胆汁酸構成の変動を上記タイプ別にみると、Type I では、各胆汁酸分画はTBAの変動とほぼ同様の動きを示したが、詳しくみるとCAの減少はCDCAの減少を上回っており、CA/CDCA比は経時的に低下した。また、T型の減少はG型の減少を上回っており、G/T比は増加する傾向($p < 0.01$)にあった。これらの傾向は、TBAの低下の程度が強い程顕著であった(Fig. 5)。

Type IIも、各胆汁酸分画はTBAとほぼ同様に変動し、CA/CDCA比は若干低下傾向を示したが、G/T比はほとんど変動しなかった(Fig. 6)。

Type IIIは、各胆汁酸分画はTBAとほぼ同様に変動

し、CA/CDCA比およびG/T比は変動しなかった(Fig. 7)。

Type IVは、TBA、各胆汁酸分画、CA/CDCA比、G/T比のいずれも変動がみられなかった(Fig. 8)。

(4) 血漿cAMPの変動

グルカゴン負荷後のcAMPの増加曲線を見ると、ほとんどの症例で、負荷15分後に最高値をとり、以後漸減した。負荷15分後のcAMP変化量($\Delta G \cdot cAMP$ 15 min.)の疾患別平均値をみると、正常範囲($940 \pm 217 \mu\text{mol/ml}$)¹⁸⁾に対して急性肝炎極期 $824.2 \pm 223.1 \mu\text{mol/ml}$ 、急性肝炎回復期 $1072.1 \pm 367.8 \mu\text{mol/ml}$ 、代償性肝硬変 $523.8 \pm 246.9 \mu\text{mol/ml}$ 、非代償性肝硬変 $282.8 \pm 163.7 \mu\text{mol/ml}$ 、肝外閉塞性黄疸 $788.9 \pm 303.5 \mu\text{mol/ml}$ であり、非代償性肝硬変では、最も低値であった。一方、急

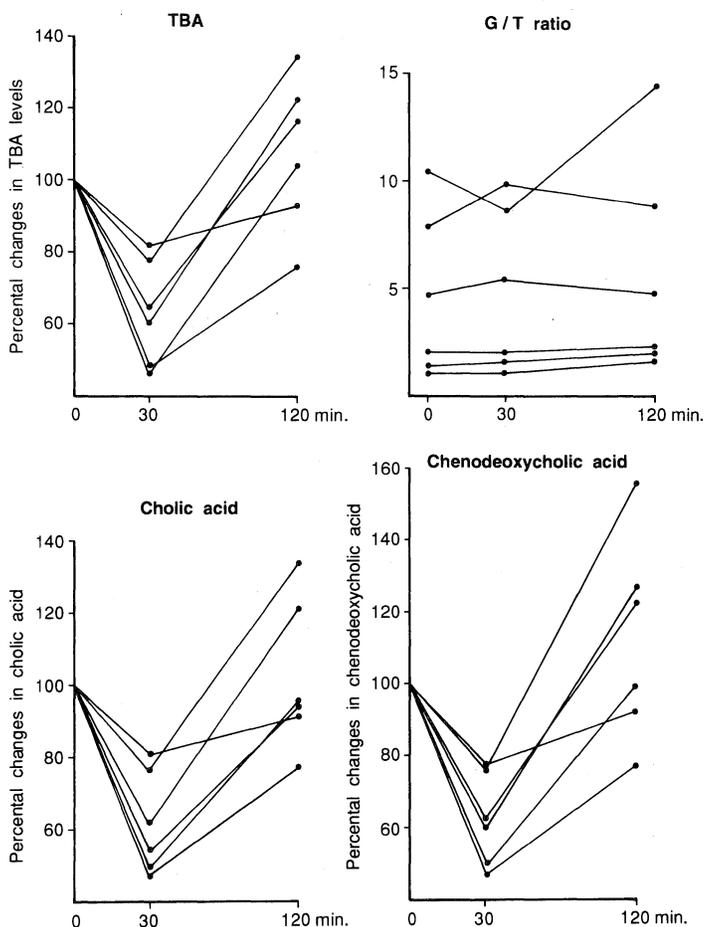


Fig. 6. Bile acid profiles in Type II after intravenous administration of glucagon.

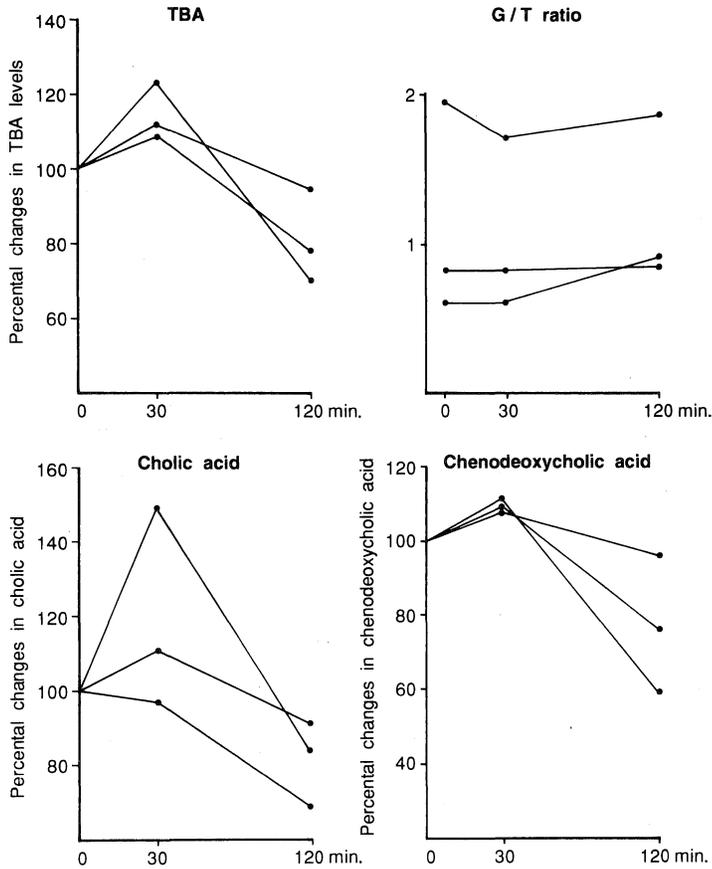


Fig. 7. Bile acid profiles in Type III after intravenous administration of glucagon.

性肝炎極期，肝外閉塞性黄疸では正常に近い反応を示す症例が多く，急性肝炎回復期では，高反応を呈する症例も認められた(Fig. 9)。

(5) 肝硬変におけるグルカゴン負荷後の胆汁酸の変動と各種肝機能検査との比較

代償性および非代償性を含む肝硬変において% G・TBA 15 min. は，ヘパラスチンテスト，プロトロンビン時間，総コレステロール，ICG Rmax， $\Delta G \cdot cAMP$ 15 min.(Fig. 10)，アルブミン，総ビリルビン，ICG R15，ChEなどの既知の肝予備能の指標とよく相関した(Table 2)。なお，グルカゴン負荷試験において% G・TBA 15 min. は他の時間での% G・TBA に比べ，これら肝予備能との相関はより強かった。

2) cAMP テスト

(1) 疾患別血清胆汁酸値の変動

DBcAMP 負荷後の TBA の経時的変動を% C・TBA

でみると，代償性肝硬変の前値は $58.9 \pm 38.2 \mu\text{mol/l}$ で，各症例の前値を 100% として 15 分値 $80.6 \pm 12.4\%$ ，30 分値 $65.5 \pm 12.4\%$ ，60 分値 $47.3 \pm 13.8\%$ ，120 分値 $51.5 \pm 35.2\%$ と，DBcAMP 投与後経時的に低下した。

この際，前値と 15 分，30 分，60 分および 120 分値の間には有意差 ($p < 0.001$) が認められた。非代償性肝硬変では TBA の前値は $119.3 \pm 51.8 \mu\text{mol/l}$ で，各症例の前値を 100% として 15 分値 $97.2 \pm 19.9\%$ ，30 分値 $87.7 \pm 21.0\%$ ，60 分値 $92.1 \pm 17.5\%$ ，120 分値 $96.7 \pm 18.4\%$ と，DBcAMP 投与後の TBA はほとんど変動を示さなかったが，症例別にみると，初期に低下するもの，上昇するもの，不変のものなど種々のパターンがみられた。これらの変化はグルカゴン負荷時の成績とほとんど一致していた(Fig. 11)。

考 察

著者は，肝予備能検査としてのグルカゴン負荷試験を

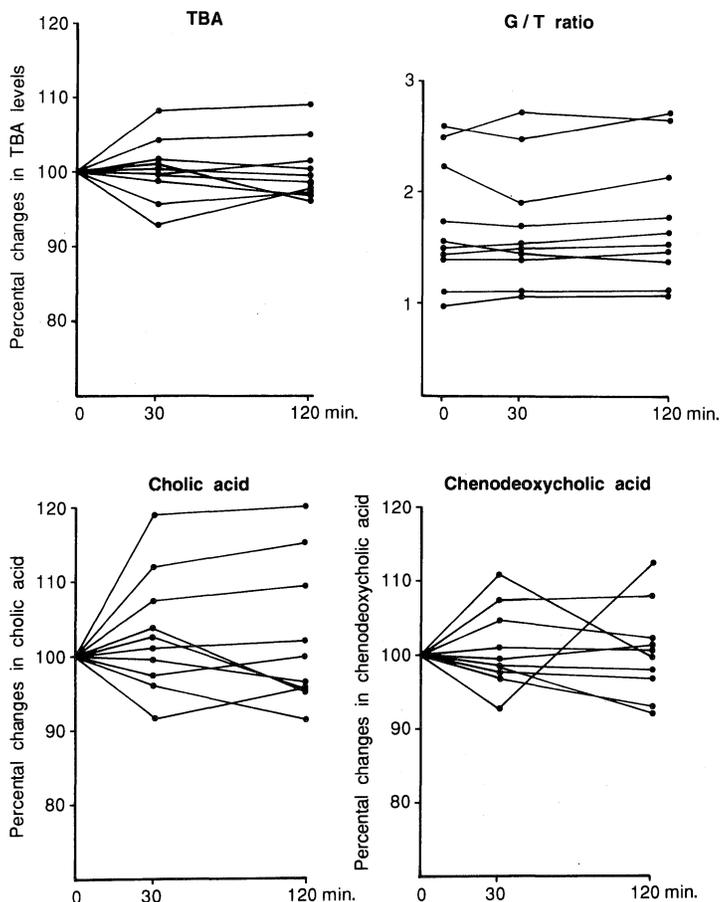


Fig. 8. Bile acid profiles in Type IV after intravenous administration of glucagon.

実施していた際に、同時に TBA 値を測定した結果、肝の病態の違いによって種々の変動パターンを示すという興味ある成績を得た。しかも、そのパターンはその疾患の重症度が比較的軽いほど、反応性に低下するという現象を示し、重篤なほど低下反応が消失するという傾向が認められた。そこで、まず肝病態との関連において、その機序について考察する。

(1) 病態別にみたグルカゴン負荷後の TBA の変動

一般的に、グルカゴンは細胞内の cAMP を second messenger として作用することが知られているが、急性肝炎極期ではグルカゴン負荷後 TBA に全く変動がみられない例が多いにもかかわらず、cAMP の反応が比較的保たれており、両者の反応に解離が認められた。同様の現象は閉塞性黄疸でも認められたが、この理由としては、グルカゴンによる TBA の変動が cAMP を介していないためか、あるいは cAMP を介しているとするれば

cAMP 以降の細胞内 process、とくに TBA 取り込み機構に異常が存在する可能性が考えられた。とくに肝細胞への取り込みを上回る TBA の血中への逸脱が存在する可能性が高く、その成因としては肝細胞の壊死あるいは胆汁うっ滞が考えられる。さらに閉塞性黄疸では cAMP の胆管側への排出が障害されているため、これが類洞側へ逆流し、その結果血漿 cAMP が上昇する²³⁾という考えや、胆汁うっ滞により肝細胞膜変化を生じ、グルカゴンに対し高反応性になる²⁴⁾との考えも報告されている。

急性肝炎の回復期では、TBA 反応は cAMP 反応に相関して低下する症例が多くなり、肝細胞の再生による TBA 取り込み機構の回復を表現しているものと考えられる。

肝硬変、とくに非代償性ではグルカゴン負荷後の cAMP 産生量が低下していることに加えて、TBA 低下率は血漿 cAMP 産生量が低値なほど減弱する傾向を示

しており、グルカゴンによる TBA 低下機序の制御に、肝細胞内 cAMP 量が重要な役割を演じている可能性が強い。事実、DBcAMP 投与による TBA の変動が、グルカゴン投与時と同様のパターンを示したことも、そのことを支持する所見であると考えられる。したがって、グル

カゴン負荷時の cAMP 反応、TBA 変動および DBcAMP 投与時の TBA 変動を総合的に評価すると、肝硬変、とくに非代償性ではグルカゴンレセプターを介した cAMP の産生および cAMP 以降の process としての TBA 取り込み機構の両者に機能低下が存在するものと考えられる。

肝硬変の病理学的特徴は、肝細胞の脱落、線維性隔壁

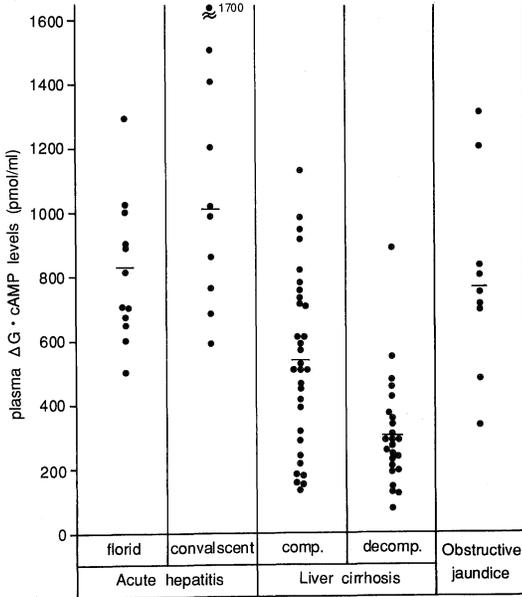


Fig. 9. Plasma $\Delta G \cdot cAMP$ levels 15 minutes after intravenous administration of glucagon in patients with hepato-biliary diseases.

Table 2. Correlation between percental changes in TBA levels 15 minutes after intravenous administration of glucagon and values of various liver function tests in patients with liver cirrhosis

	Percental changes in TBA levels
Hepaplastin test	-0.71 ^a
Prothrombin time	0.63 ^b
T. cholesterol	-0.58 ^a
ICG Rmax	-0.58 ^c
$\Delta G \cdot cAMP$ 15min.	-0.55 ^b
Albumin	-0.53 ^b
T. bilirubin	0.53 ^b
ICG R ₁₅	0.52 ^c
ChE	-0.49 ^b
GOT	n. s.
GPT	n. s.

a : $p < 0.001$, b : $p < 0.01$, c : $p < 0.05$, n. s. : not significant

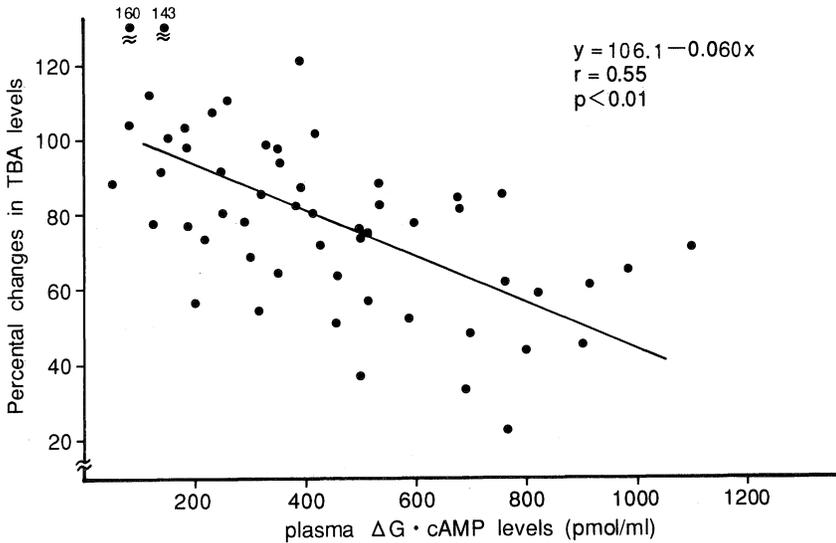


Fig. 10. Correlation between plasma $\Delta G \cdot cAMP$ levels and percental changes in TBA levels 15 minutes after intravenous administration of glucagon in patients with liver cirrhosis.

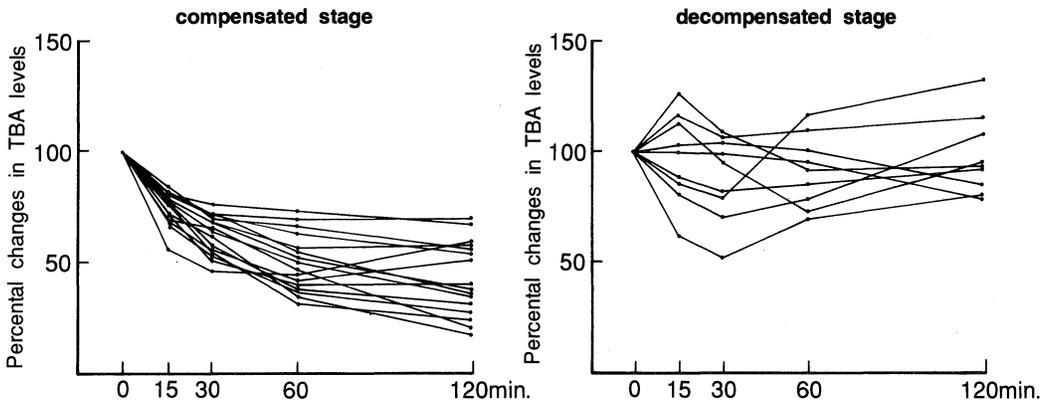


Fig. 11. Percent changes in TBA levels after intravenous administration of dibutyryl cAMP in patients with liver cirrhosis.

による広範な小葉改築，ならびに再生結節の形成にある。その結果，肝血流量の減少，肝機能の低下，門脈圧亢進，門脈-肝静脈間および門脈-大静脈間短絡の形成などをきたす²⁵⁾。したがって，これらの障害がグルカゴンに対するcAMPの反応性の低下に影響を及ぼしていると考えられるが，Francavilla et al.²⁶⁾は，その機序の一つとして，短絡や細胞間線維隔壁により，負荷したグルカゴンが十分に肝細胞に到達できないことをあげている。また，他の報告では，肝細胞数の減少や膜障害による細胞膜グルカゴンレセプターの減少²⁷⁾さらに細胞内ATP量の減少²⁸⁾などをその要因としてあげている。肝硬変では，通常臓臓でのグルカゴン分泌の亢進と肝臓でのグルカゴン分解の低下により高グルカゴン血症をきたす²⁹⁾，³⁰⁾が，このことがさらにグルカゴンレセプターの減少をまねき，外因性グルカゴンに対するcAMPの反応性を低下させる原因の一つになっていると考えられる。

TBAの取り込みに関しては，Horak et al.³¹⁾は，CAを用いてTBAの動態を検討した結果，肝硬変では肝細胞膜障害によるTBA摂取障害，肝細胞内での抱合障害，さらに肝細胞から血中への逆流，胆管側への排出障害などのあることを認めている。また，Engelking et al.³²⁾も，肝硬変ではTBAの肝細胞への摂取能が健常者の1/3程度に低下していることを報告している。したがって，グルカゴン負荷におけるTBAの変動においても，肝硬変のこれらの障害の関与が推測される。なお，グルカゴン負荷早期にTBAが上昇する例や，経時的にTBAが上昇する例については，その機序として肝細胞内胆汁酸プールの末梢血中への移動が推測される。つまりグルカゴン負荷により，肝細胞内TBAが類洞側へ逆流し，末梢血中TBA濃度の上昇をきたした可能性が考えられる。

ところで，グルカゴンは通常正常肝において門脈血流を増加させるとされているが，肝硬変では，門脈血流の増加率は低く，反応の遅延傾向がみられることが報告されている¹²⁾。さらに肝硬変では，シャントにより多くのTBAは腸肝循環から逸脱しており，TBAプールも減少していると報告されており³³⁾，門脈血中TBA濃度は末梢血に比べて高くないことが推測される。これらのことから，肝硬変におけるグルカゴン負荷後のTBAの変動には門脈血流の関与は少ないものと考えられる。

(2) グルカゴン負荷後のTBAの変動パターン

TBAの変動パターンは，グルカゴンに反応して低下する群(Type I, II)と，低下しない群(Type III, IV)の二群に大別される。グルカゴン負荷後の血中TBAの低下は，肝細胞障害の軽減した急性肝炎回復期や代償性肝硬変で認められ，肝細胞障害の程度強い急性肝炎極期，非代償性肝硬変や，胆汁うっ滞の強い肝外閉塞性黄疸では認められなかった。したがって，肝外閉塞性黄疸を除外すれば，この二つのパターンを区別することは，肝障害の重症度を評価する上できわめて有用であると考えられた。

さらに，TBAが低下した例を詳細にみると，120分まで継続して低下した例(Type I)と，60分，120分に再び上昇した例(Type II)の二型に分かれた。再上昇の機序については，肝細胞より類洞へのTBAの逆流が推測されることは既に述べたが，このような現象は，肝細胞内のTBA抱合障害や肝細胞から胆管側への胆汁排出障害を推察する上で意義深い。

TBAが低下しなかった症例は，初期にTBAが上昇し，後に軽度低下した例(Type III)と，ほとんど変動しなかった例(Type IV)に分かれた。前者は，急性肝炎極期と

非代償性肝硬変に多く、後者は肝外閉塞性黄疸に多くみられ、疾患別の特徴あるパターンを示していた。

以上より、今回の4つのパターン分類は肝病態を知る上で有意義であると考えられた。

つぎに、TBA分画をみると、Type Iでは、TBAの種類により肝細胞のTBA摂取に差が認められ、とくにCAはCDCAよりも肝細胞へ良好に摂取されるというHoffman et al.³⁴⁾の報告を支持する結果となった。また、抱合型TBAの肝細胞への摂取は、T型がG型よりも有意に多いといわれており、今回のグルカゴン負荷においても、T型の摂取がより有意に促進されたものと思われる。

一方、Type II~IVについては、CAとCDCAの減少の程度はほぼ同様であり、CAの促進効果はType IIで若干みられたものの、Type III, IVについては全く認められなかった。また、G/T比についても変化はなかった。この成績は、Type III, IVが、肝外閉塞性黄疸を除きType Iよりも肝細胞障害の程度の強い症例が多く、膜障害の程度も強いいため、TBAの種類別の選択的な取り込みができず、また細胞から血中への非選択的なTBAの逆流が生じたためと考えられる。以上、グルカゴン負荷後のTBA分画の測定は、TBA測定のみでは知ることができない肝病態ごとのTBA代謝を知る上で有益であった。

(3) %G・TBA 15 min. と肝予備能

%G・TBAの15分値は、他の時間よりも各種肝予備能検査と最も良好な相関を示した。その理由として、グルカゴン負荷後の血漿cAMPの反応のピークが15分にあることより、ほぼ同時に細胞内cAMP濃度も最高値に達していることが考えられ、グルカゴンのTBA低下作用発現の最も強い時期であるためと推測される。

%G・TBA 15 min. を疾患別にみると、急性肝炎では80%を切るとほぼ極期から回復期に移行したとみられ、また肝硬変では70%以下であればほぼ代償性で、80%以上ではほぼ非代償性であると判断できるようである。また、肝硬変において%G・TBA 15 min. は肝臓での蛋白合成能を反映するヘパラスチンテスト、プロトロンビン時間、血清アルブミン、脂質合成能を反映する総コレステロール、ICGの最大排泄量を表すICG Rmaxとよく相関し、肝予備能の指標になり得ることが示唆された。

以上より、グルカゴン負荷後のTBAの変動パターンの検討は、グルカゴンによるcAMP産生およびcAMPを介するTBAの取り込み機構の促進を含んだ肝細胞機能変化の総和として評価され、詳細な肝病態を知るうえで新たな情報を与えるものとして有意義であると考えられる。

結 語

急性肝炎、肝硬変および閉塞性黄疸患者において、グルカゴン負荷後の血清TBA値の推移を検討し、以下の成績を得た。

(1) グルカゴン負荷後のTBAの変動パターンは、4つのタイプに分類され、それぞれ、Type I：初期に急激に低下し、以後低値を持続する型、Type II：初期に低下し、後に前値に戻るか、前値を上回って再上昇する型、Type III：初期に上昇し、後に軽度低下する型、Type IV：ほとんど変動しない型、であった。

(2) 疾患別にみると、急性肝炎の極期例はType IIIとIV、回復期例はType IとIIを示し、肝硬変の代償期例はType IとIIで、非代償期例はType I~IVの様々なパターンを示した。閉塞性黄疸はType IVを示した。

(3) グルカゴン負荷後の各TBA分画の変動をみると、いずれもほぼTBAと平行した変動を示したが、Type Iにおいてはさらに、CA/CDCA比の経時的低下、G/T比の経時的増加がみられた。

(4) %G・TBA 15 min. は、肝病態をよく反映しており、急性肝炎では80%を切ると極期から回復期に移行したと考えられた。一方、肝硬変では70%以下では代償性肝硬変、80%以上では非代償性肝硬変であると判断でき、病態の解析に有意義であった。

(5) 肝硬変で%G・TBA 15 min. は、ヘパラスチンテスト、プロトロンビン時間、総コレステロール、ICG負荷試験、 Δ G・cAMP 15 min.、アルブミン、総ビリルビン、ChEと有意な相関を示した。

(6) cAMP誘導体であるDBcAMPの投与により、TBAは代償性肝硬変では著明に低下し、非代償性肝硬変では低下の程度が弱く、グルカゴン負荷時のTBAの変動とほぼ一致した反応を示した。このことより、グルカゴン負荷後のTBAの反応にcAMPが関与していることが示唆された。

(7) 以上より、グルカゴン負荷後のTBAの変動は、各種肝胆道疾患患者において特有のパターンを示し、肝硬変においてはその重症度をよく反映しており、肝病態の診断および肝予備能の評価において有用な検査法であるものと考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を賜りました恩師奈良県立医科大学第3内科学教室辻井 正教授に深甚なる謝辞を捧げるとともに、ご校閲、ご助言を賜りまし

た生化学の神谷知彌教授ならびに病態検査学の中野 博教授に深謝いたします。また、ご指導、ご教示を頂いた教室の森田倫史前助教授、福井 博助教授に感謝しますとともに、日々の研究にご援助を頂いた教室員諸兄姉に深謝いたします。

なお、本論文の要旨は、第69回日本消化器病学会総会ならびに第5回アジア太平洋肝臓学会(APASL)にて発表した。

文 献

- 1) 牧野 勲, 中川昌一: 胆汁酸. 中外医学双書, 東京, p 54, 1980.
- 2) Makino, I., Nakagawa, S. and Mashimo, K.: *Gastroenterology* 56: 1033, 1969.
- 3) Kaplowitz, N., Kok, E. and Javitt, N. B.: *JAMA* 225: 292, 1973.
- 4) Morita, T., Matsuyama, Y., Fujimoto, T., Higuchi, M., Tsujii, T. and Matsuoka, Y.: *Gastroenterologica Japonica* 13: 491, 1978.
- 5) 松山義則, 森田倫史, 樋口 勝, 藤本隆由, 高木正博, 久保良一, 後藤 昇, 伊藤秀次, 辻井 正: 臨床と研究 58: 142, 1981.
- 6) 辻井 正, 森田倫史: 最新医学 37: 1934, 1982.
- 7) Broadus, A. E., Kaminsky, N. I., Northcutt, R. C., Hardman, J. G., Sutherland, E. W. and Liddle, G. W.: *J. Clin. Invest.* 49: 2237, 1970.
- 8) Liljenquist, J. E., Bomboy, J. D., Lewis, S. B., Sinclair - Smith, B. C., Felts, P. W., Lacy, W. W., Crofford, O. B. and Liddle, G. W.: *J. Clin. Invest.* 53: 198, 1974.
- 9) Davies, T. F., Prudhoe, K. and Douglas, A. P.: *Br. Med. J.* 17: 931, 1976.
- 10) Dyck, W. P. and Janowitz, H. D.: *Gastroenterology* 60: 400, 1971.
- 11) Richardson, P. D. and Withrington, P. G.: *Liver blood flow* II 81: 356, 1981.
- 12) 岡崎和一, 宮崎正子, 伊藤憲一: 肝臓 25: 1039, 1984.
- 13) Pullman, T. N., Lavender, A. R. and Aho, I.: *Metabolism* 16: 358, 1967.
- 14) Morris, T. Q.: *Gastroenterology* 62: 187, 1972.
- 15) Reichen, J. and Paumgartner, G.: *Int. Rev. Physiol.* 21: 103, 1980.
- 16) 木谷健一, 金井節子: 最新医学 37: 1879, 1982.
- 17) 大西俊郎, 草野満夫, 江端英隆, 水戸迪郎: 肝臓 20: 191, 1979.
- 18) 加納 隆, 宮川秀子, 武藤泰敏, 高橋善弥太: 日消会誌. 77: 23, 1980.
- 19) 松田彰史, 国本雅也, 原田 元, 安藤啓次郎, 宮崎正子, 坪田若子, 沼 義則, 森本哲雄, 福本陽平, 児玉隆浩, 沖田 極, 竹本忠良: 肝臓 21: 1016, 1980.
- 20) Kaukel, E. and Hilz, H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 46: 1011, 1972.
- 21) Mashige, F., Imai, K. and Osuga, T.: *Clin. Chim. Acta* 70: 79, 1976.
- 22) Okuyama, S., Kokubun, N., Higashidate, S., Uemura, D. and Hirata, Y.: *Chem. Lett.* 1443, 1979.
- 23) Carstensen. H. E., Bruun, E., Hansen, O. H., Marcussen, H. and Mollerup, C.: *Surg. Gynecol. Obstet.* 149: 503, 1979.
- 24) 種田裕昭, 吉田隆雄, 前久保博士, 松嶋 喬, 宮崎保: 肝臓 23: 285, 1982.
- 25) 織田敏次: 肝臓の研究 III. 同文書院, 東京, p 925, 1987.
- 26) Francavilla, A., Jones, A. F. and Starzl, T. E.: *Gastroenterology* 75: 1026, 1978.
- 27) Mourelle, M. and Rubalcava, B.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 88: 189, 1979.
- 28) 小沢和恵: 外科 36: 1092, 1974.
- 29) Marco, J., Diego, J., Villanueva, M. L., Diaz - Fierros, M., Valverde, I. and Segovia. J. M.: *N. Engl. J. Med.* 289: 1107, 1973.
- 30) Sherwin, R., Joshi, P., Hendler, R., Felig, P. and Conn, H. O.: *N. Engl. J. Med.* 290: 239, 1974.
- 31) Horak, W., Knoflach, P. and Schuster, E.: *in Biological Effects of Bile Acids*(Paumgartner, G., Stiehl, A. and Gerok, W., eds). MTP Press, Lancaster, England, p215, 1979.
- 32) Engelking, L. R., Barnes, S., Dasher, C. A., Nafter, D. C. and Hirschowitz, B. I.: *Clin. Sci.* 57: 799, 1979.
- 33) Vlahcevic, Z. R., Juttijudata, P., Bell, C. C., Jr. and Swell, L.: *Gastroenterology* 62: 1174, 1972.
- 34) Hoffman. N. E., Iser, J. H. and Smallwood, R. A.: *Am. J. Physiol.* 229: 298, 1975.