

原 著

Chenodeoxycholic acid による  
胆石溶解に関する実験的研究

京都大学医学部外科学教室第2講座 (指導: 日笠頼則教授)

谷 村 弘, 竹 中 正文

〔原稿受付: 昭和49年11月5日〕

Experimental Studies on Dissolution of  
Cholesterol Gallstones in Hamsters  
with Chenodeoxycholic Acid

by

HIROSHI TANIMURA, and MASAFUMI TAKENAKA

The 2nd Department of Surgery, Kyoto University School of Medicine  
(Director: Prof. Dr. YORINORI HIKASA)

Since dissolution of cholesterol stones with chenodeoxycholic acid in patients with cholelithiasis was successfully reported, 228 cases were received the treatment of chenodeoxycholic acid until October in 1973 and gallstones in 46 (36.5%) among 126 cases were disappeared or diminished in size. Although this method may be clinically expected as a prominent therapy, however, basic examinations such as chronic toxic tolerability, therapeutic dosis, problems on the ways of administration, or prevention of side effects were not enough performed.

In this paper, our experimental studies on dissolution with chenodeoxycholic acid were undertaken by application of cholesterol gallstone formation in hamsters as a model of cholelithiasis. The effect of various doses of chenodeoxycholic acid was evaluated by operative calculation of cholesterol stones in the gallbladder of hamsters fed on two kinds of our experimental lithogenic diets before and after oral administration of chenodeoxycholic acid with metal gastric tube, and the following results were obtained:

1) Proper dosis of chenodeoxycholic acid seemed to be 1 to 3 mg/kg/day corresponding to daily synthesized dosis or pool size of bile acids, and much larger dosis rather decreased the effect on dissolution or prevention of gallstones in hamsters.

2) Glycine conjugated chenodeoxycholic acid also inhibited increase of gallstones, but taurine conjugated form was not so effective.

3) Cholesterol holding capacity of hepatic bile showed hypersaturation of cholesterol in control group, but it remained within micellar zone in chenodeoxycholic acid group. Hepatic bile in chenodeoxycholic acid group contained abundant volume of lithocholic acid compared with control group, but significant increase was not observed

Key words: Chenodeoxycholic acid, Cholesterol stone Hamster, Bile acids, Therapy.

Present address: The 2nd Department of Surgery, Kyoto University School of Medicine,  
Sakyo-ku, Kyoto, Japan. 〒606.

at mol percentage of bile acids because that concentrated bile might be excreted in chenodeoxycholic acid group.

4) Diarrhea was observed after administration of chenodeoxycholic acid at dose over 6 mg/kg/day in higher incidence than in control group. However, there was no relationship with dosage. Transaminase levels in serum slightly increased in chenodeoxycholic acid group.

5) Specific abnormal findings due to administration of chenodeoxycholic acid were not observed in the histological examinations of the liver, kidney, cecum, thyroid and adrenals.

## はじめに

過去20年間、われわれは、外科領域に於ける脂肪代謝に関する病態生理学的諸問題を、臨床応用可能な脂肪乳剤の開発をはじめとして、次々と解明してきた<sup>1)-4)</sup>。就中、コレステロール系胆石と脂肪代謝の関連性については、ヒト、ラット、ハムスターを用いて密接な関係の存在することを立証<sup>5)-8)</sup>、而もただ実験的な意味で、コレステロール系胆石を高率に作製しようという目的からだけならば、10%バター脂とブドウ糖を主成分とした実験的胆石形成食が最もよくその目的を叶えて呉れるものであることをも明らかにした<sup>9)</sup>。この実験的胆石形成食は今日では海外に於いても広く応用されるに至っている<sup>9)10)</sup>。

われわれの行なって来た一連の研究によると、コレステロール系胆石の形成には、胆汁中のコレステロール量の増加と、その溶存に必要な総胆汁酸量の減少という二つの条件、即ちコレステロールの過飽和状態が胆嚢に至る前の段階にある肝胆汁に既に惹起されていることが必要で且つ最も重要な因子である。而も、胆石形成食から市販のバランスのとれた固形食に戻すことによって食餌性に容易にコレステロール可溶性状態に胆汁組成を還元せしめ、一旦生じた胆石をも溶解、消失せしめ得ることを明らかにして来た。更に食餌成分であるバター脂を不可欠脂肪酸を十分に含むゴマ油に、ブドウ糖をβデンプンに変更することによっても亦よく胆汁中の総胆汁酸量の増加と、コレステロール量の減少をもたらす、全く同様の状態を招来せしめ得ることをも明らかにして来た<sup>11)</sup>。

従って胆石の溶解という目的を果すためには、胆汁酸の分泌量の増加を促がすことが一つの手段であるように思われる。そのような目的に対して、従来からも種々の利胆剤、腸肝循環の阻止により肝における胆汁酸の産生、分泌を高めることを目的とした Choles-

tyramine の投与<sup>12)-14)</sup>、更には胆汁酸そのもの、例えば Ursodeoxycholic acid<sup>15)16)</sup> などの投与が試みられて来たが、未だ安定した臨床効果を挙げるまでには至っていない。

人体に於ける一次胆汁酸としては、Cholic acid (以下 CA と略す) と Chenodeoxycholic acid (以下 CDCA と略す) の二つがあるが、CA は、0.1%の割合にそれを飼料中に添加すると実験的胆石形成を却って促すに至るという報告さえあり<sup>17)</sup>、胆石溶解の目的には利用し難い。ために、もう一つの一次胆汁酸である CDCA に多くの人々の関心が集中したのもとより当然である。

1972年、Hofman<sup>18)</sup>や Bell<sup>19)</sup> 等が、それを胆石症患者に臨床的に応用、胆石の溶解に成功して以来、俄かにこの CDCA の経口投与方法による胆石溶解の臨床的研究が世界的に注目されるようになった<sup>20)</sup>。

併し、一旦実験的に胆石の形成をみた試獣に対して CDCA を投与して胆石の溶解を試みた実験的研究は未だ全くみられず、僅かにそれによる予防実験を Dam 等が試みているに過ぎない。それによると、CDCA の投与は却って結石の形成、増量を促進したという<sup>21)</sup>。

又従来の CDCA そのものには微量の Lithocholic acid (以下 LA と略す) が混在していた可能性もあり、それらを含めて CDCA による肝障害の報告が相次ぎ<sup>22)23)</sup>、本邦でも未だ本格的な臨床実験を開始するまでには至っていない<sup>24)</sup>。

以上のような点に鑑み、われわれは今回われわれがコレステロール系胆石の実験モデルとして案出した方法を駆使、応用することによって CDCA の胆石溶解作用について実験的に検討すると共に、その副作用の軽減のための方策についても併せて検討してみた。

## 実験材料と方法

われわれの実験的胆石形成食は、Dam 等の無脂質

食<sup>17)</sup>とは異なり、10~20%の割合にバター脂又はMCT(中鎖脂肪酸)を含有する脂肪食である(表1)。バター脂は不可欠脂肪酸であるリノール酸の含有量が1.5~2.0%と極めて少なく、飽和脂肪酸を主体とした(低級の飽和脂肪酸をも保有)脂肪であることが特徴的といえる<sup>25)</sup>。

表1 実験的胆石形成食餌成分表

	実験的 胆石形成食 (I)	実験的 胆石形成食 (II)	市販固型食*
ブドウ糖*	60.0%	45.5%	約60%**
カゼイン**	20.0%	20.0%	24%
塩 類***	5.0%	5.0%	6%
ビタミン****	1.0%	1.0%	1.46%
塩化コリン	0.5%	0.5%	0.14%
C. M. C	3.5%	8.0%	4.5%
バター脂*****	10.0%	20.0%	3.5%***
	100.0%	100.0%	100.0%

\*注射用ブドウ糖(中外) +CE-2

\*\*大豆カゼイン(半井) †小麦, トーモロコシデンプン

\*\*\*U.S.P. XII ††植物油

\*\*\*\*パンピタン末

\*\*\*\*\*雪印天然バター

又食餌中の糖質としては、コレステロールの代謝障害をデンプンよりも生じやすいブドウ糖を使用したか、そのみによる時は、肝硬変、下痢、脱肛、更には下血といった異常な病的状態を招来するので不消化な線維素源としてカルボキシ・メチル・セルロース(CMC)を3.5%の割合に加えて、そのような異常状態の発生を防止した。このような実験的胆石形成食による試獣(ハムスター)の飼育方法などについては既にわれわれの発表した綜説<sup>26)27)</sup>を参照されたい。

今回のCDCA投与実験では、そのような実験的胆石形成食にCDCAを初めから混入、添加しておくか、あるいは、金属性胃管を挿入して毎日一定量のCDCAを強制的に経口投与するかの何れかの方法を採用した。

このようにして4週間夫々の試獣群を飼育した後、その夫々の胆石形成率を対照と比較、CDCA投与による予防率を算出した。

他方、CDCAを添加することなく単なる実験的胆石形成食にて予め4~5週間飼育した試獣をネブタール麻酔下に開腹し、胆嚢内に浮遊するコレステロール系胆石の胆嚢内で占める割合を次のように判定し、胆石

指標点数として算出した後(図1)。

実験的胆石による胆嚢充満度(a):

4:胆嚢の1/2以上が実験的コレステロール系胆石によって充満され、占められているもの

3:胆嚢の1/4~1/2が占められているもの

2:胆嚢の1/4が占められているもの

1:実験的コレステロール系胆石が胆嚢内に1~2個が認められるに過ぎないもの

0:胆嚢内に胆石の存在を全く認めないもの

$$\text{胆石指標点数} = \frac{\sum a}{n} \quad (n = \text{動物の匹数})$$

そのまま閉腹して麻酔の影響が消失するのを俟って、新たに一旦生じた実験的胆石を溶解せしめることを意図し、作製した実験食を投与したり、あるいはCDCAの強制的経口投与を行ない、5~6週間経過した後、再び開腹して、胆嚢内のコレステロール系胆石の示す状態を前回と同様の判定基準によって観察し、胆石指標点数の増減によって胆石増減率を算出し、それを夫々の対照群と比較、検討した。なお胆石発生率は、われわれの方法による限り雌雄による相違は認められなかった。

〔実験1〕 飼料中へのCDCAの添加、混入による予防実験

ハムスターを3群に別ち、夫々の群にCDCAの1日摂取量が10mg/kg, 50mg/kg, 100mg/kgとなるように飼料中にそれを添加、混合し、夫々30日間飼育した後、その各々についての胆石形成率を算出した。

〔実験2〕 飼料中へのCDCAの添加、混入による胆石溶解実験

ハムスターを予め10%バター脂含有の実験的胆石形成食で4週間飼育し、前述の如く開腹手術により、胆石の形成されたことを観察、確認し得たものを4群に別ち、その各々に10%バター脂含有実験的胆石形成食、0.5%CDCA添加、混入食、0.5%Hyodeoxycholic acid添加、混入食、及び市販固型食を更に32日間夫々投与、飼育した後、その後胆嚢内に残存する胆石の胆嚢内で占める割合(胆石指標点数)を算出し、胆石増減率の検討を行なった。

〔実験3〕 強制的CDCA経口投与による胆石溶解実験

ハムスターを10%バター脂含有実験的胆石形成食で飼育し、4週間後実験2と同様に胆嚢内に胆石が形成されていることを開腹手術により確認した後、更にこの実験的胆石形成食を引続いて継続して投与すると共

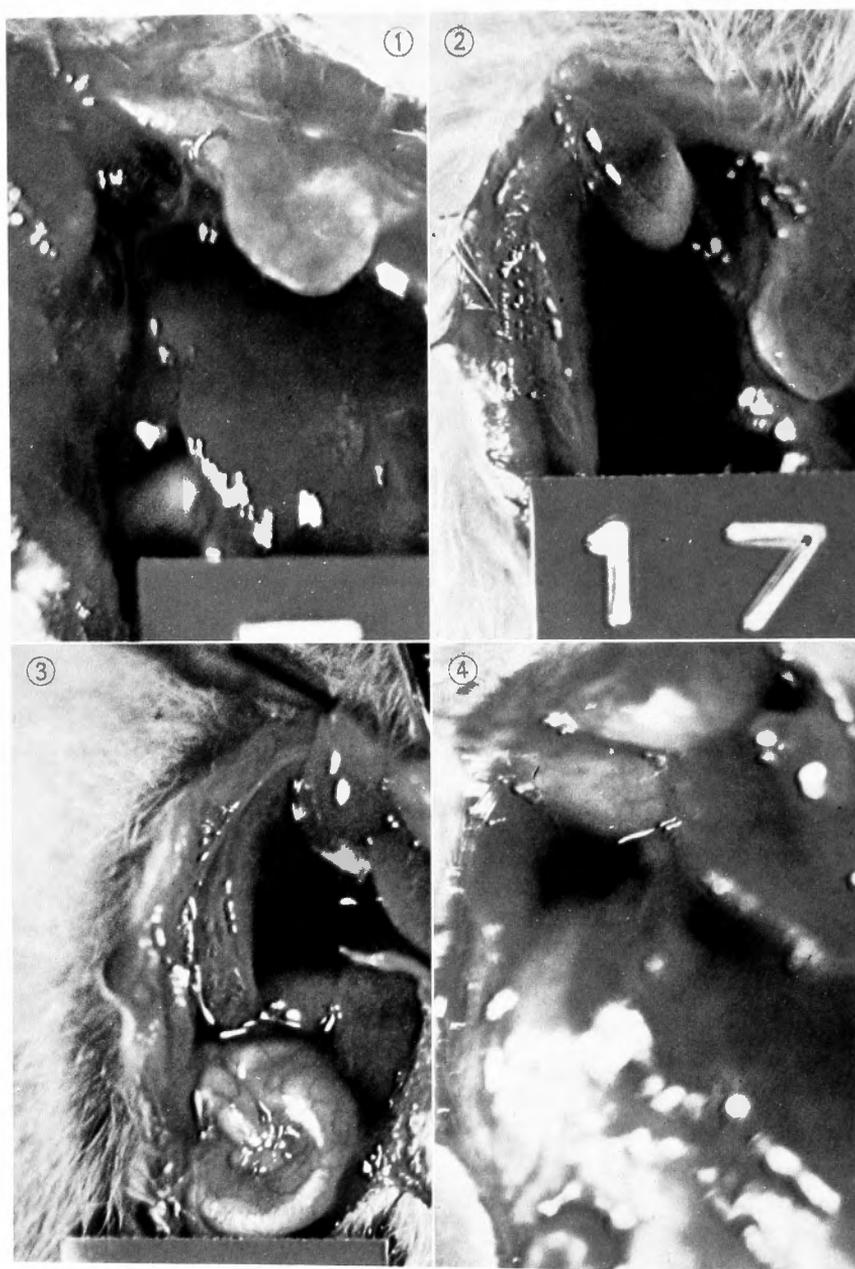


図1 胆石指標点数

- 4: 胆嚢の1/2以上が実験的コレステロール系胆石によって充満され、占められているもの
- 3: 胆嚢の1/4~1/2が占められているもの
- 2: 胆嚢の1/4が占められているもの
- 1: 実験的コレステロール系胆石が胆嚢内に1~2個が認められるに過ぎないもの
- 0: 胆嚢内に胆石の存在を全く認めないもの

に、金属性胃管を用いて遊離型の CDCA (Lot. No. 48. 1222) 3mg/kg を、0.5% CMC の懸濁液として (E No. E613-003) 胃内に4週間に亘り、毎日午後5時に強制的に注入し、投与した。対照群には、0.5% CMC 液 (E No. E613-200) を4週間に亘り毎日投与した。

なお CDCA 懸濁液の作製に当っては、遊離型の CDCA 400mg を秤量し、CMC-Na 4000mg を予め溶解せしめた CMC 溶液 800ml 中にそれを懸濁せしめ、1本6mlの褐色アンプル瓶中に分注し、冷暗所に保存、CDCA の変質防止に努めた。

CDCA の胆石溶解力を判定する都合上、市販の固形食に切り換えた群についても併せ検討した。

#### 〔実験4〕 強制的 CDCA 経口投与による胆石予防実験

実験的胆石形成食にて飼育し乍らも、4週間後になお結石の形成を認め得なかったハムスターについて、更にそのまま飼育を継続すると共に遊離型の CDCA を強制的に経口投与してみた。対照群としては CMC 液の強制的経口投与を行なった。そして、4週間後の胆石発生率を比較検討した。

#### 〔実験5〕 高脂肪食餌下に於ける胆石溶解実験

実験1~4で専ら応用して来た実験的胆石形成食(I)はその投与を開始すると少なくとも4週間目には試獣の85%以上のものに胆石の形成をみるというほど胆石形成促進作用の極めて強力な食餌であるので、バター脂を10%から20%に増量、同時に CMC を3.5%から8.0%に増量し、その割合だけ食餌中のブドウ糖を減量した実験的胆石形成促進作用の稍々弱い実験的胆石形成食II。(便宜上、高脂肪食とも呼称)を作製し、更に以下の実験(実験5~7)を行なった(表1)。但し、この実験的胆石形成食II. は、高脂肪食なるが故に、時としてハムスターでは黒色の色素石が生じることがあるが、これはコレステロール系胆石ではないので、その発生率からは除外した。

実験5ではハムスターをこの実験的胆石形成食II. で飼育し、4週間後開腹により胆石の形成を確認し得たもののみを対象とし、それを2群に別ち、一方には遊離型の CDCA を0.5% CMC 懸濁液として強制的に毎日午後5時に経口的に投与すると共に、他方に対しては0.5% CMC 液を投与し、対照とした。そしてこの再者の4週間後に於ける胆嚢内結石の増減率を比較、検討した。

#### 〔実験6〕 抱合型 CDCA による胆石溶解実験

ハムスターを3群に別ち、夫々に Taurine 抱合型あるいは Glycine 抱合型の CDCA、及び対照群として、50% CMC 液を実験5と同様にして作製した胆石形成試獣に対し、毎日1回遊離型の CDCA に換算して 3mg/kg の割となるように投与し、夫々の胆石溶解作用を比較、検討した。即ち、Na-traurochenodeoxycholate 4.2mg (E No. E613-006) あるいは Na-glycochenodeoxycholate 3.9mg (E No. E613-007) を含む 6ml アンプル瓶を作製、保存し、その都度開封、強制的に経口投与した。

#### 〔実験7〕 高脂肪食餌下に於ける胆石予防実験

ハムスターを4群に別ち、遊離型の CDCA 1mg/kg (E No. E613-008)、3mg/kg、Taurine 抱合型 CDCA (遊離型として 3mg/kg) 及び0.5% CMC 液を夫々毎日1回強制的に経口的に投与し始めると同時に、何れの群に対しても実験的胆石形成食II. を与え、4週間飼育、夫々の群に於ける胆石発生率を比較、検討した。

又下痢、肝機能障害などの副作用についても併せ検討した。

以上、実験2, 3, 4, 5, 7に於いては胆管ドレナージをも併せ行ない、胆汁を3~24時間に亘り採取し、夫々のグループの胆汁を一括、比較、検討した。即ち、クロロホルム・メタノールで抽出後、燐脂質は TLC 法により、コレステロールは Zak-Henly 変法により、胆汁酸はガスクロマトグラフィーにより夫々測定した。

## 実験成績

飼料中への CDCA 添加、混入による予防実験1の成績を一括したのが表2である。飼育開始後14日目までに斃死したものは、本実験の目的を達し得なかったものとして除外した。10mg/kg 群9匹、50mg/kg 群8匹、100mg/kg 群7匹についての成績では、コレステロール系胆石の発生は CDCA 投与量の最も少量であった 10mg/kg 群でその抑制効果がみられた。本実験に於ける食餌の作製に際しては市販固形食の1日摂取量8g/日/匹を基準として食餌中に CDCA を添加、混入したわけであるが、実際には表3のようにハムスターの食餌摂取量は平均7g/日/匹で、実測摂取量からすると CDCA の胆石形成抑制効果は 6.8mg/kg/日以下でみられるものと推測された。

併し、体重の増加率に CDCA の投与が悪影響を及ぼしたとは思われない(表4)。

表2 飼料混入法による予防実験成績 (I)

Group	No. of Animals	Initial Weight (g)	Weight gain during 4 wks (g)	Maximal feeding period (days)	Survivors after 30 days	Gallstones*		Incidence of stones within 14days
						Cholesterol stones	Pigmented stones	
I (CDCA 10mg/kg)	9	60.2	+ 6.8	30	4	55.6%	0%	0%
II (CDCA 50mg/kg)	8	59.2	+16.1	30	3	75.0%	0%	7.7%
III (CDCA 100mg/kg)	7	58.4	+12.1	30	4	85.7%	0%	7.1%
IV (Butter only)	60	54.3	+ 9.3	28	51	86.3%	0%	0%

\*, †混合 \*14日以上生存試験に於ける発生率

表3 実験1に於ける Chenodeoxycholic Acid 摂取量

Group	食餌内容 (kg diet)	食餌摂取量 (g)				平均摂取量	CDCA実測摂取量
		1 wk	2 wks	3 wks	4 wks		
I (CDCA 10mg/kg)	62.5mg/kg diet	5.7	6.9	7.3	7.9	6.95g/日/匹	6.86mg/kg/日
II (CDCA 50mg/kg)	312mg/kg diet	6.4	6.5	7.4	7.8	7.02g/日/匹	32.5mg/kg/日
III (CDCA 100mg/kg)	625mg/kg diet	5.6	6.0	9.0	7.5	7.02g/日/匹	67.8mg/kg/日

表4 実験的胆石形成食I. による飼育と体重の変動

Group (食餌内容)	開始時	胆石形成食期間				実験食期間				実験期間中の体重増加		
		1 wk	2 wks	3 wks	4 wks	1 wk	2 wks	3 wks	4 wks			
実験1	I CDCA 10mg/kg	60.2	—	—	—	67.0					6.8	
	II CDCA 50mg/kg	59.2	—	—	—	75.3					16.1	
	III CDCA 100mg/kg	58.4	—	—	—	70.5					12.1	
	IV 10% Butter	54.3	57.3	62.0	62.9	63.6					9.3	
	cf Chew diet	52.2	66.9	83.8	95.6	100.7					48.5	
実験2	V Chew diet	57.7				89.3					6.7	
	VI 10% Butter	53.8	(実験的胆石形成食飼育)				67.6					19.0
	VII CDCA 0.5%	56.2				64.7	76.9	79.7	83.3	86.6	16.3	
	VIII Hyodeoxy 0.5%	53.0				58.4	79.2	81.1	78.3	81.0	16.3	
実験3	IX CMC	51.2	58.1	67.1	66.4	59.8	64.1	69.0	68.6	68.7	8.9	
	X CDCA 3mg/kg	50.6	54.6	62.2	65.2	56.8	62.6	67.1	68.8	67.5	10.7	
	XI Chew diet	47.7	60.4	66.0	62.8	57.2	67.7	—	75.0	—	(17.8)	
実験4	XII CMC	52.0	66.5	72.7	71.5	62.7	71.0	68.7	60.5	62.0	0.7	
	XIII CDCA 3mg/kg	53.5	60.3	64.0	63.4	59.3	65.4	71.7	66.2	65.0	5.7	

(内胆石の  
開腹手術による  
確認)

表5 Chenodeoxycholic Acid の副作用 (I)

Group	2 wks			4 wks		
	Diarrhea	Melena	Death	Diarrhea	Melena	Death
I (10mg/kg/日)	4/13 (30.8%)	0/13	4/13 (30.8%)	8/9 (88.9%)	1/9 (11.1%)	5/9 (55.6%)
II (50mg/kg/日)	1/13 (7.7%)	0/13	5/13 (38.1%)	5/8 (62.5%)	0/8	5/8 (62.5%)
III (100mg/kg/日)	1/14 (7.1%)	0/14	7/14 (50.0%)	6/7 (85.7%)	0/7	3/7 (42.8%)
IV (Butter only)	13/60 (21.7%)	0/60	1/60 (1.7%)	11/59 (18.6%)	0/59	8/59 (13.5%)

表6 飼料混入法による胆石溶解実験成績 (II)

Group	No. of Animals	Initial Weight (g)	Weight gain during 4wks (g)	Maximal feeding period (days)	Survivors after 32 days	Gallstones		Disappearance of stones
						Cholesterol stones	Pigmented stones	
V (固形食)	10.	89.3	+6.7	42	9	11.1%	0%	88.9%
VI (Butter only)	10.	67.6	+19.0	32	10	100%	0%	0%
VII (CDCA 0.5%)	10.	64.7	+16.3	32	9	100%	0%	0%
VIII (Hyodeoxy 0.5%)	10.	58.4	+10.5	32	9	88.9%	0%	11.1%

下痢は単なる実験的胆石形成食群ではその約20%にみられたが、CDCA 10mg/kg 投与群ではその80%以上のものに2週以後に発来したというものの、その発生率がCDCA 投与量の増大に伴ない益々高くなるという傾向は認められなかった(表5)。

実験的胆石形成食 I で30日間ハムスターを飼育すると、その86.3%のものにコレステロール系胆石の形成を胆嚢内に認めた(表2)。これに対する胆石溶解食投与の効果を一括表示したのが表6である。Dam 等が既に胆石発生阻止効果がありとしている0.5% Hyodeoxycholic acid 投与群に於いても、僅かに9匹中1匹に胆石の溶解、消失を認めたに過ぎなかった。又、CDCA 0.5% 含有胆石溶解食投与群では、全くその効果は認められなかった。それに対し、市販固形食に戻した群では9匹中1匹に胆石の残存を認めたのみで、従って胆嚢内胆石は殆んど完全に消失してしまうものと考えてよい成績が得られた。

しかし、CDCA 投与群では肝機能の異常が認められた(図2)。

以上の2つの実験成績から考え、肝機能障害を来たさしめず、而もその有効性を確保するためにはCDCA

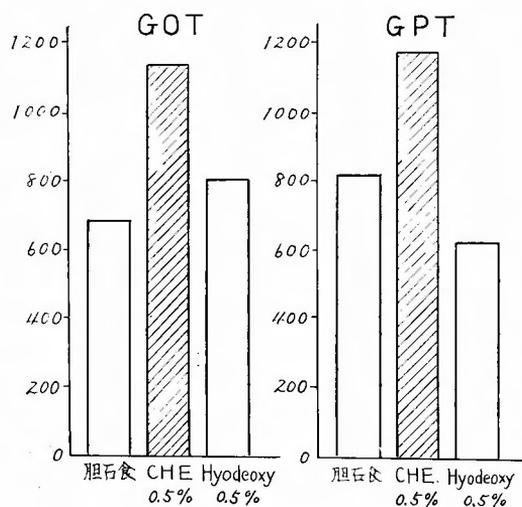


図2 Chenodeoxycholic Acid の肝機能に及ぼす影響

投与量を 6mg/kg/日以下に止めるべきであるように思われる。

併し、飼料中への CDCA 添加、混入法では1日の摂取量が必ず常に一定しているものとは思われない。

そこで実験3として金属性胃管を用いてハムスターの夜間活動開始直前の午後5時を選び、毎日1回、0.5% CMC液に懸濁させた遊離型のCDCAを3mg/kg/日(例えば体重60gとして0.3ml)の割合で直接胃内に注入し、投与した(表7,8)。

表7 強制的経口投与によるコレステロール系胆石溶解実験成績

	開腹時*	4週間後	胆石増減率
	胆石指標点数	胆石指標点数	
バター食 ⇒(CDCA)	(n=10) 23/10=2.30	(n=5) 9.5=1.80	- 0.50
バター食 ⇒(CMC)	(n=10) 18/10=1.80	(n=4) 11.4=2.75	(n=4) + 0.95
バター食 ⇒(固形食)	(n=5) 10.5=2.00	(n=4) 0.4=0.00	- 2.00

\*開腹時の胆石発生率 22/26匹=84.6%

表8 CDCAによる各週別胆石指標点数の変化

動物番号	開始時	CDCA投与期間				下痢*
		1wk	2wks	3wks	4wks	
No. 8	4	→1				(+)
No. 7	1	→1				(-)
No. 6	3	→3				(+)
No. 5	2			→2		(+)
No. 3	2				→0	(+)
No. 14	3				→1	(-)
No. 15	2				→1	(-)
No. 1	1				→3	(+)
No. 2	2				→4	(-)

\*対照群における下痢の発生率は1/10匹

即ち、実験的胆石の形成をみたハムスターに、その後も引き続き実験的胆石形成食を継続投与し乍ら、CDCAの強制的経口投与を併せ行なった群、対照としてCMC液のみの強制的経口投与を併せ行なった群、更に食餌そのものを市販固形食に変更した群の各々について一旦形成された胆石のその後の運命について検索した。その結果、胆石の開腹による発生確認時には試獣の84.6%に胆石を認め、その胆石指標点数は1.80~2.30を示していたが、更に4週間に亘る実験食飼育により、対照群では2.75と著しく増加しているのに対して、CDCA 3mg/kg/日投与群では2.30から1.80とかなりの減少を示した。なお、又市販固形食変更群では完全にそれは消失していた(表7)。

CDCA投与群について1週間毎にその効果をみると、1週間で直ちに胆石が減少しているものもあり、4週間に至るとそれが却って増量しているものもあり、投与後、投与量を更に検討する必要があるように思われる(表8)。

しかし、その際の体重増加は、CDCA投与群と対照群との間に差は認められなかったが(表4)、下痢は50%のものに認められた。但し、対照群では10%に過ぎなかった。

この実験3の施行に際して開腹し、胆石の形成を確認した折りに胆嚢内に未だ胆石の形成がみられなかったものを2群に別ち、その一方に遊離型のCDCA 3mg/kgの割合に毎日強制的に経口投与すると共に他方に対しては、対照としてCMC液のみを強制的に経口投与した。その結果を示したのが表9で、対照群では胆石指標点数は1.67と胆石の形成を新たにみるに至ったが、遊離型のCDCA 3mg/kg/日投与群では、10日目に斃死した1例を除き、その他の全てのものに於いては依然として胆石の形成をみなかった。

表9 強制的経口投与によるコレステロール石発生予防実験成績

	開腹時	4週間後	胆石増減率
	胆石指標点数	胆石指標点数	
バター食 (n=4) ⇒CMC	0/4=0.00	5/3=1.67	+1.67
バター食 (n=6) ⇒CDCA	0/6=0.00	0/5=0.00	0.00

表10 高脂肪食餌下に於ける胆石溶解実験

	開始時	胆石発生時*		胆石溶解後		胆石増減率
		体重	胆石指標点数	体重	胆石指標点数	
CDCA群 (n=12)	55.5g	63.0g	1.78	74.4g	1.56	-0.22
CMC群 (n=9)	61.2g	73.1g	1.20	71.6g	1.22	+0.02

\*開腹時の胆石発生率 18/22匹=81.8%

実験的胆石形成食II.を用いた胆石溶解実験の成績を示したのが表10である。この胆石形成食で4週間飼育した際の試獣に於ける胆石形成率は81.8%であったが、その胆石指標点数は1.78~1.20と実験的胆石形成食I.を投与した場合よりも少々低い(実際はそのように工夫された食餌である)。その後CDCAを投与す

ると対照群に較べ確かに胆石指標点数は低下するが、胆石の減少又は消失した試獣は11匹中3匹に過ぎなかった。GOT, GPT の肝機能検査値は対照群よりも低値を示した。

次いで抱合型の、即ち Taurine 抱合型と Glycine 抱合型の CDCA を投与し、対照群と胆石溶解率を比較してみたが、Glycine 抱合型 CDCA の方が優れているように思われる(表11)。即ちこの際には13匹中3匹に於いて胆石の減少ないし消失を認めたが、胆石指標点数でみると殆んど増減をみない。それに反して Taurine 抱合型 CDCA 投与群では、胆石の減少したのものもあるが、13匹中4匹では却って増加、胆石指標

点数でも増大の傾向を示した。併し、この際でも対照群に較べるとその胆石指標点数の増加の程度が遙かに軽微であった。

この事実は、実験的胆石形成食 II. による飼育に際しての胆石発生予防実験に於いても認められ、対照群の胆石指標点数2.78に較べ Taurine 抱合型 CDCA 投与群ではそれが2.58と大体同じ値を示したが、遊離型の CDCA 投与群ではそれが1.00(即ち胆石は胆嚢内に1~2個しか認められない状態)と遙かに低値を示し、且つ胆石の発生をみた試獣の匹数も少なく、53.3%のものに少数の胆石の形成をみたに過ぎない(表12)。なお、その際の肝機能検査ではGOT, GPT が対照群に比べてやゝ高い値を示した(表13)。

更に以上の実験のうち、実験2~5に於いては、胆汁ドレナージを行ない、それによって採取し得た肝胆汁

表11 抱合型CDCAによる胆石溶解実験

	開始時		胆石確認時*		胆石溶解後		胆石増減率
	体重	胆石指標点数	体重	胆石指標点数	体重	胆石指標点数	
Taurine 抱合型 (n=13)	65.8g	78.5g	1.69	75.7g	2.08	+0.39	
Glycine 抱合型 (n=13)	67.1g	83.8g	1.30	83.7g	1.38	+0.08	
CMC (n=11)	70.1g	83.6g	0.82	69.9g	2.00**	+1.18	

\*開腹時の胆石発生率 15/37匹=40.6% (開腹時の試獣が大きいため)

\*\*黒い色素石を除く

表12 高脂肪食餌下に於ける胆石予防実験

	投与量	開始時	体重増加(30日間)	胆石指標点数	胆石発生頻度(動物数)
Taurine 抱合型 (n=12)	0.21mg/日	56.4g	+23.6g	2.58	77.0%
遊離型 CDCA (n=15)	1mg/kg/日	53.3g	+9.5g	1.00*	53.3%
CMC (n=10)	—	52.7g	+22.2g	2.78*	90.0%

\*黒い色素石を除く

表13 CDCA 投与後の肝機能検査

		GOT	GPT	Alkaline Phosphatase	LDH	Total Bilirubin	LAP	Amylase
*胆石溶解実験2	10% Butter (n=4)	677±216	808±239	5.7±0.3			201±55	985±51
	10% Butter CDCA 0.5% (n=5)	1128±89	1160±190	5.6±1.1			233±36	938±55
	10% Butter Hyodeoxy 0.5% (n=5)	803±131	622±144	5.0±0.8			174±53	1031±101
*実験5	20% Butter CDCA (n=3) 3mg/kg	745±276	930±327	31.0±6.3				
	20% Butter CMC (n=4)	1100±434	1019±355	26.0±2.1				
胆石予防実験7	20% Butter Taurine- (n=11) CDCA	97.3±15.5	112.0±15.3	6.55±0.9	441±38			
	20% Butter CDCA (n=4) 1mg/kg	139.3±15.6	146.7±19.5	32.0±2.5	1090±8	1.25±0.23		
	20% Butter CMC (n=8)	78.2±14.2	89.8±20.2	23.5±1.5	694±77	0.98±0.16		

\*胆汁ドレナージ後の採血

(Mean ± S.E.)

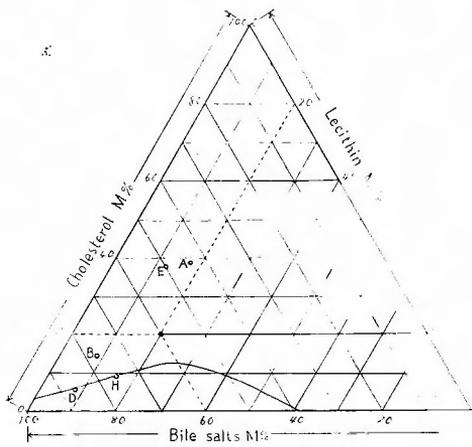


図3 CDCAのコレステロール溶存能に及ぼす影響

- A : 胆石形成食 B : CDCA 0.5%飼料混入
- E : 胆石形成食 D : CDCA 3mg/kg 強制投与
- H : タウリン拘合型 CDCA 強制投与

中のコレステロール、燐脂質、総胆汁酸等を夫々測定した(表14)。これを Small の三角座標に記入し、コレステロールの飽和状態を表現したのが図3であるが、CDCA 投与群の肝胆汁は何れもコレステロールが可溶化されて然るべき micellar zone 内にあった。また各胆汁の胆汁酸組成は表15の如くである。LA 濃度が CDCA 投与群で高値を示したが、他の胆汁酸との比率としては特に多いものではなかった。更に CDCA

の胆汁内胆汁酸におけるこの比が臨床例の如く70%を超えたものは大量投与群のみであった。

考 按

ギリシャ語で chēn とはガチョウのことを意味する。Windaus はその名をとって chenodeoxycholic acid なる名称を与えた。Wieland によってこの chenodeoxycholic acid (CDCA) がヒトの胆汁中から分離されたのは今から50年前のことであった。併し、この CDCA と deoxycholic acid との Dihydroxycholic acid の分離が一般に困難であったこともあって、その後胆汁酸の研究は主として Cholic acid (CA) の代謝に向けられた。コレステロール代謝を研究するために CDCA を臨床的に応用していた Hofman 等が、偶々それに胆石溶解作用のあることを1972年に発見<sup>18)</sup>、同年 Dowling 等亦同様の事実を発表し<sup>19)</sup>、俄かに CDCA を胆石溶解の目的に応用しようとする試みが世界的に企てられるに至った<sup>20)</sup>。

1957年外科医である Johnston は胆汁酸を投与することによって胆石の溶解を試みんと意図したが、試験による実験的胆石の溶解効果の実証も当時未だなされておらず、且つ又その毒性についても充分なデータもなく、直ちにそれを臨床的に応用することは危険な要素をはらんでいた。殊に1973年4月 Huntington 研究所から Rhesus monkey に対して CDCA を40

表14 胆石溶解実験におけるハムスター肝胆汁の各種成分

(mM dl)

		Bile Volume	Total BA	PL	Chol	BA+PL : C
胆解石実 溶解 (2)	10% Butter 食	1.82ml	1.67	0.65	1.47	1.58
	10% Butter 食 CDCA 0.5%	(n=3) 1.23ml	61.31	5.92	11.90	5.65
	10% Butter 食 Hyodeoxy 0.5%	(n=2) 3.60ml	4.94	7.38	33.78	0.36
胆解石実 溶解 (3)	10% Butter 食 CDCA 3mg/kg	1.18ml	16.84	1.41	1.29	14.15
	10% Butter 食 CMC	3.64ml	0.93	0.23	0.70	1.66
胆解石実 溶解 (5)	20% Butter 食 CDCA 3mg/kg	2.37ml	31.2	0.33	2.92	1.18
	20% Butter 食 CMC	1.04ml	7.49	—	0.54	
	tauro-CDCA* (CDCA 3mg/kg)	(n=3) 1.54ml	37.65	7.70	4.47	10.14

\*胆汁ドレナージ開始後3時間までの胆汁、他のグループは24時間採取

表15 各種胆汁酸の濃度 (mM/dl) とその比率 (%)

Group		Lithocholic acid	Deoxycholic acid	Chenodeoxycholic acid	Cholic acid
実験 2	10% Butter	0.25(15.0%)	0.17(10.2%)	0.35(21.0%)	0.90 (53.1%)
	10% Butter CDCA 0.5%	12.38(20.2%)	1.97( 3.2%)	44.74(73.0%)	2.27 ( 3.6%)
	10% Butter Hyodeoxy 0.5%	0.81(16.4%)	0.21( 4.3%)	1.25(25.3%)	2.67***(54.0%)
実験 3	10% Butter CDCA 3mg/kg	3.81(22.6%)	0.69( 4.1%)	3.76(22.3%)	8.58 (51.0%)
	10% Butter CMC	0.51(54.8%)	0.19(20.4%)	0.15(16.1%)	0.08 ( 8.6%)
実験 5	20%Butter CDCA 3mg/kg	0.83(26.6%)	0.91(29.2%)	0.87(27.9%)	0.51 (16.3%)
	20% Butter CMC	0.45( 6.0%)	1.85(24.7%)	0.81(10.8%)	4.38 (58.5%)
実験* 7	Tauro-CDCA (CDCA 3mg/kg)	4.30(11.4%)	5.32(14.1%)	18.60(49.4%)	9.43 (25.0%)

\*胆汁ドレナージ開始後3時間までの胆汁, 他のグループは24時間採取

\*\*この検体には Cholic acid とほぼ同じRTのところ不明物が多量に出ているが, この表では除いてある。

mg/kg の割合に投与すると, 著しい肝機能障害を惹起せしめるに至るとの報告がなされ, それ以来その臨床的应用は一時中断せざるを得ない状態に陥った。

実験的にコレステロール系胆石を作製するに適した試獣としてはヒヒ<sup>28)</sup>, リスザル<sup>29)</sup>, プレアリードッグ<sup>30)</sup>, ハムスター<sup>31)</sup>, ウサギ<sup>32)</sup>, マウス<sup>33)</sup>などがあげられている。モルモット<sup>34)</sup>, ラット<sup>35)</sup>イヌ<sup>36)</sup>等にも胆石はみられるが, その際の胆石は, コレステロールを主成分としたものではない。

腸内細菌や<sup>37)</sup>, 肝におけるコレステロール代謝<sup>38)</sup><sup>39)</sup> 40), 胆汁酸の組成<sup>41)</sup>, 肝ミトコンドリアの性状<sup>42)</sup>などから考え, それら試獣の中でもハムスターが, コレステロール系胆石の疾患モデルを作製するに当たり最も適したものと考え, われわれは従来からそれを専ら利用して来た<sup>43)</sup>。

ハムスターに於いて実験的胆石を最初に形成せしめることに成功したのはデンマークの Dam であるが, 彼等は又1972年 CDCA をその飼料中に0.5%の割合に添加, 投与すると却ってハムスターにみられる実験的コレステロール系胆石の形成が促進されるに至ることを実験的に立証している<sup>21)</sup>。又 CDCA を100mg/kgの割合に投与した本邦に於ける追試実験に於いても実験的コレステロール系胆石の形成は確かに促進されたという<sup>44)</sup>。

併し, 食餌中に0.5%の割合に CDCA を添加し, それを体重60gのハムスターに投与すると, それを1日約8g摂取するので, CDCA を約600mg/kg体重/日の割合に摂ることになり, それが摂取量が極めて過大となり, 肝障害を招くのも寧ろ当然の帰結のように思

われる。

一方, 臨床的にも, 欧米では最初1日4g(体重70-80g)の投与が行なわれたが, 現在では0.75~1.5g/日の投与で, その効果と耐薬に於いて略々満足し得る成績をあげ得るに至っている。この量は, 体重当り10-20mg/kg/日となる。ヒトにおける一次胆汁酸プール(CA+CDCA)は1.85gで, 而も1日当たりの総一次胆汁酸合成が495mg<sup>45)</sup>であることを併せ考えると, CDCA 500mg/日の投与が大体妥当な線のように思われる。

従ってハムスターでも, その一次胆汁酸(CA+CDCA)の胆汁酸プールが2.3mgである<sup>46)</sup>ので, CDCA 1~3mg/kg/日の投与量が妥当な線と考えられるところから, われわれは, まずCDCAの投与量と胆石の発生阻止効果との関係をみるために, 食餌中にCDCAを1日摂取量にして10mg/kg, 50mg/kg, 100mg/kgの割合となるように添加, 混入した実験的胆石形成食を投与した。然るに, 100mg/kgという大量よりも, 10mg/kgの方が寧ろ実験的コレステロール系胆石の形成を阻止する効果の大なることを知ったわけである(実験1)。

次いで, CDCA の一旦生じた実験的コレステロール系胆石に対する溶解作用についても検討したが, その際同時に Dam 等が提唱するに至った Hyodeoxycholic acid (ブタの主胆汁酸であり, ヒトやハムスターには存在しない)のそれについても併せ検討した。即ちわれわれの実験的胆石形成食にて一旦ハムスターの胆嚢内に生じせしめた実験的コレステロール系胆石が, これら CDCA や Hyodeoxycholic acid の投与によって再び溶解, 消失するに至るかどうかを検討して

みると, Hyodeoxycholic acid 投与群では, 胆石は殆んど消失せず, 食餌中に0.5%といった大量の CDCA を添加した際にも CDCA の胆石溶解作用は殆んど認められないことを知ったのである (実験2).

実験1に於ける1日当りの実際の飼料摂取量は市販固形食の単独投与の場合よりも可成り少なく, 1日6.7~7.0gに止まったため, 実際にはCDCAの摂取量は6mg/kg/日であったことになる. 前述したようにそれによって胆石の形成を抑制する傾向はみられても完全なものではなかったし, 又一旦生じた胆石の溶解能力はCDCA大量(実際の摂取量375mg/kg/日)では全く認められなかった. 亀田等も0.005%の割合にCDCAを添加し, 換言するならば約1mg/kgのそれが投与で同様の結果が得られたと報告しており<sup>47)</sup>, 実験3以降では, ハムスターの胆汁酸プール量から換算して3mg/kg/日を投与してみることにした. 併し, このような微量の薬剤の食餌中への添加, 混入に際しては恒常的なそれが摂取を望めないで, 金属性胃管を用いてCDCAを強制的に而も経口的に直接胃内に確実に一定量宛毎日投与することとした.

然るに遊離型のCDCAは水に難溶であるため, 0.5% CMC懸濁液として一定量宛それを毎日投与せざるを得ない. この際には一旦生じた実験的コレステロール系胆石に対するCDCA3mg/kg/日投与の効果は表7のように, 又実験的コレステロール系胆石の形成抑制効果は表9のように確かに認められた.

ところで本実験に使用したハムスターは1930年シリアで発見された1腹の雌雄に由来するもので, 行動の上で非常に特徴的である<sup>48)</sup>. 即ち, それは夜行性動物で, 点灯時はケージの片隅でまるくなって寝ているが, 暗くなる1~2時間前より, 夜間にかけて最も活発に活動する<sup>49)</sup>. この時期に一致して体内ATPは一層速やかに(25%以上)ADPに移行, エネルギー放出を行なうようになるという<sup>50)</sup>.

従って今回の実験で採用した午後5時の薬剤経口投与は, 斯る摂食や活動の開始直前に行なったということになる.

又このような日内リズムはHMG-CoA reductaseによるコレステロールの生合成に於いても, コレステロールから胆汁酸への転化に与かるCholesterol-7 $\alpha$ -hydroxylase活性に於いても, 明らかにみられ, それら生合成の最も亢進する時刻は齧歯類では午後8時から12時頃までであるという<sup>51,52)</sup>. このような事実に基づけばCDCAの投与にも自ら最適な時刻があるもの

と考えられる.

一方, 胆石症患者に於いても, 胆汁中の胆汁酸やコレステロール等の濃度が食事や絶食などと極めて密接な関係のあることが知られており, 例えば, Sarles等は, カロリー過多の食餌摂取時にはその1~2時間後に胆汁中のコレステロール濃度は急激に増加するとしている<sup>53)</sup>, 又胆石症手術後にTチューブを挿入し観察すると, その初期にはコレステロール過飽和の胆汁を間歇的に分泌するが<sup>54)</sup>, 次第にそれは正常化し, コレステロール未飽和の状態になるという<sup>55)</sup>.

とはいうものの, 実際に臨床的にCholesterol-7 $\alpha$ -hydroxylaseなどの日内リズムを肝に於いて測定することは不可能であり, 現状では推測や経験によって, 1日1回投与がよいか分割投与がよいか, 又1回投与の場合には1日の中のどの時間がよいかなど, 投与時刻の決定を行なわざるを得ない.

前述もしたようにコレステロール過飽和胆汁の生成が間歇的であり, 胆汁中の胆汁酸濃度が, 夕食と翌日の朝食との間でもっとも低下することから, 一応夕刻にCDCAを投与することがよいとわれわれは考えた<sup>24)</sup>.

BackもCDCA投与を就寝前に行なうと, 翌朝の血清にCDCAの増加を認め, 正午頃に至って正常値に戻ることから同じような見解を表明している. 併し, Hofmanは下痢などが就寝前に投与した方が少ないという根拠もなく, 腸管からの吸収も速く, 而も数ヶ月という長い期間に亘り投与するわけであるから投与方法等は左程問題にならないと反論している<sup>20)</sup>.

ここで重視されるべきもう一つの問題は, CDCAの投与の目的が胆石溶解条件の何れに変化を求めようとするものであるかによっても又その投与量や投与時間を考慮することが必要のように思われることである. ヒトではCDCA10mg/kg/日投与で胆汁中の胆汁酸の70~80%がCDCAによって占められるようになりCDCAのプール量は2~7倍に増大し, そのためCAプール量は極端に減少する. 併し総胆汁酸プール量としては増加する. 従って最終的にはCDCAの投与の治療効果が,

1) 腸肝循環している胆汁酸の大部分がCAよりも表面活性の強いCDCAによって占められるに至ることに求められて然るべきか.

2) 減少している胆汁酸プール量の単なる増加に求められて然るべきかが問題となって来る.

Dowling等は, 後者の立場をとっており, Rhesus

monkey では 30 mg/kg 宛 2 日間投与すれば胆汁酸プール量が増加するのに対して、5 mg/kg では 5~7 日を要するところから、最初まず胆汁酸プール量を増大させ、次いで維持量を続けるのが最もよいと提唱しているが、又他方では、少量から投与し始め、下痢の発生をみるまで漸次増量してゆくと 1~1.5g/日投与までは十分に耐薬し得るという臨床的な経験も報告されている。

併し、何れにしても CDCA がコレステロール系胆石溶解治療の効果を果たすためには、胆汁中の胆汁酸+磷脂質/コレステロールの比 (BA+PL/C) の増大、即ちコレステロール溶存能力の増大を招来するに至ることが必要であるように思われる。

われわれの実験的胆石形成食 I はハムスターを試験とする限り極めて強力な胆石形成促進作用を有するため、そのままでは投与を続けると CDCA の胆石溶解力を相殺してしまう可能性もあり、われわれが従来下痢止めとして使用して来た CMC を、Pomare 等による維生素の経口投与が、CA を減少させ、寧ろ相対的に CDCA を増加させるという報告<sup>56)</sup>もあるところから、それを 3.5% から 8.0% に増加させ、更にバター脂を 10% から 20% に増量して高脂肪食とすることによって相対的に食餌中の糖質を減少 (60% から 45% に) し、コレステロール生合成能の亢進を遅延化せしめようとして、ここに実験的胆石形成食 II を作製して、再度胆石溶解実験を行なってみた。表 10 に示す如く対照群では殆んど胆石の大きさが増大することはなかった。それに対して CDCA 投与群では体重増加も良好で、而も明らかに胆石溶解の傾向を示した。

以上の実験に用いて来たこの遊離型の CDCA は、水溶性下痢を最も招来し易い<sup>57)58)</sup>、又沈澱したり、カプセル内で固まったりする可能性があり、そのためにも抱合型にした方がより一層生理的でよいのではないかということが考えられる。併し、遊離型で投与してもそれが一旦腸管壁から吸収されて肝を通過すれば完全に抱合型になり、左程問題にはならないという意見もあるが、肝機能の低下があるような場合にはやはり抱合型の方が安全なように思われる。

Taurine の併用は、Palmar のラットの実験にみられるように Lithocholic acid (以下 LA と略す) の毒性を減少させると一方、Taurine と遊離型の CDCA との併用は却って血清コレステロール値を上昇させる事実も知られている。Dowling は単なる CDCA の投与は Glycine/Taurine (G/T) 比を上昇させるが、

Taurine 投与は、この G/T 比を却って減少せしめ、又胆石の溶解作用もその際には認められなかったとしている。

又 Fisher は 6 人の総胆管結石患者に対して、牛胆汁より精製した約 8% の割合に CDCA をも含んだ Glycine 抱合型 CA (Sigma 社製) を投与したところ、1 日当り Glycine 抱合型 CDCA 80mg という少量投与ではあったが、6 例中 4 例に於いて 6 ヶ月以内に胆石の溶解を認めた報告をしている<sup>20)</sup>。

このような事実を鑑み、われわれも Taurine 抱合型、Glycine 抱合型の CDCA (遊離型 CDCA にして 3 mg/kg/日に相当する量) を投与して対照群と比較検討してみた。然るに、対照群では実験的コレステロール系胆石は益々増加したにもかかわらず、Glycine 抱合型投与群では殆んど増加していない。他方、Taurine 抱合型では抑制効果を示したものもみられたが、増加したものも可成りみられた。

次いで、胆石の形成予防実験として、遊離型 CDCA 投与量を 1 mg/kg/日に減量、投与した群と Taurine 抱合型 CDCA 投与群について比較、検討してみたが、対照群では 90% の試験に胆石の形成をみ、又 Taurine 抱合型 CDCA 投与群でも 77% のものに胆石の形成をみ、その抑制効果は極めて僅微なものであった。それに対して遊離型の CDCA 投与群ではその投与量が小であるにもかかわらず明らかな抑制効果が認められたのである。

藤平等<sup>59)</sup>も、Dam の無脂質食飼育のハムスターに、Taurine を 250~1000mg/kg 投与しても胆汁中のコレステロール量が減少せず、胆石の形成を予防し得なかったとしている。従って、胆石の溶解の目的としては、遊離型かあるいは抱合型なら Glycine 抱合型 CDCA がよく、ハムスターに関しては Taurine 抱合型は望ましいものではない。

CDCA 投与によって惹起される下痢については Glycine 抱合型であるからといって最初予想した程少ないことはなかった。臨床的にも下痢の程度は遊離型 CDCA で 1 日 2~3 回招来されるに過ぎないという程度のものから夜間度々便意を催して目が覚めるなどいろいろの程度の報告がある。CDCA を 250~1000mg 投与した際には、その 85% 以上が吸収されるが、それ以上ともなると、吸収量は低下して 50~60% 程度になる。従ってそのような際には吸収されなかった残りの遊離型の CDCA が多量に結腸に達して、水分と電解質の吸収を阻害、そこに下痢を招来することになる。

要するに1.0g/日以上との投与ではそれが殆んど必発するようである。

Danzinger によれば CDCA 投与時に下痢を招来した患者の糞便中の胆汁酸はその99%までがCDCAで、下痢が一旦止まると2日後には既に糞便中のCDCAは殆んど零となり、逆にLAが主成分になるという<sup>60)</sup>。

われわれの今回の CDCA 多量投与による下痢の発生は表5の如くCDCA投与量との間に相関関係を示さなかったが、6mg/kg/日以上ともなると、非投与群よりも約2倍の頻度となるようである。併し、CMC 8.0%群ではCDCAを1~3mg/kg/日の割合で投与しても対照群と殆んど差異を認めなかった。

次に、今回使用したCDCAの純度が99%としても、例えばその残り1%がLAであったとすると、そのCDCA 1g/日の投与に際してはLAを10mg/日毎日摂取していたことになる。LAの毒性については、既によく知られており<sup>61)62)</sup>、当然肝機能障害が心配される。CDCAの投与に際しては臨床例でGOTの一過性の上昇をみるものが約40%あるというし、Rhesus monkey では40mg/kg/日の投与で既に肝機能障害がみられたとの報告がある。しかし、ラットに於いては200mg/kgまでの投与では肝機能障害は惹起されないとされている。Rhesus monkey は特にLAを吸収し易いのか、あるいはそれを硫酸抱合型で尿中へ排出出来ないのではないかといったことが推測される。

未だ、ハムスターに於けるCDCA投与時の肝機能検査成績については全く報告をみない。われわれの検査し得たところでは図2、表13に示すようにGOT、GPTの増大が認められた。

CDCA投与の全身の臓器に及ぼす影響を観察するために、肝、腎、盲腸、副腎、甲状腺を病理組織学的に検索したが、臨床的肝生検に於いて認められるような細胆管の過形成や門脈周囲の浸潤像は認められなかった。併し、脂肪変性とまではいえなくても脂肪によると思われる空胞形成が肝組織に認められた。とはいえ、これは対照群にも認められ、CDCA投与の直接の影響とは断じがたい。臨床的にも肝生検により肝の軽度の脂肪変性が認められた症例も報告されているが、それらは糖尿病患者や肥満者であり、この際にもCDCAのためとは断定出来ない。

以上の事実から、CDCAによる治療に際しては下痢や肝機能障害などの副作用を減ずるためにも、CDCAの作用機序をもう一度再検討しなおしその必要にして最少の量を投与するように努むべきと考える。

われわれは臨床的並びに実験的立場からコレステロール系胆石の成因は、肝に於けるコレステロール生合成能の亢進とコレステロールから胆汁酸への異化抑制によることを明らかにして来た。従って胆石溶解のためにはその逆の状態、即ち、肝に於けるコレステロール生合成の抑制と胆汁酸生合成の促進をもたらすことが必要のように思われる<sup>11)24)26)</sup>。そのため胆汁酸プールを増加せしめるためには、1)この肝に於ける胆汁酸の生合成能を亢進せしめるか2)腸からの胆汁酸の吸収増加を図るかの何れかである。前者の目的で使用されたCholestyramineは実験的にコレステロール系胆石の形成を抑制しはするが、実際に臨床的にそれを応用しても胆石を溶解するまでの効果はなかった。後者の手段により相当量の胆汁酸を投与し胆汁酸プールを増加することによって胆石を溶解せしめることが出来ないかという問題が当然浮びあがってくる。併し、その際にはコレステロール生合成(特にHMG-CoA reductase 活性)の抑制を伴うに至ることも当然考えられなければならない<sup>63)</sup>。

興味あることには、ラットではCDCAもCAも共にコレステロール生合成を抑制するのに対して、ハムスターではCDCAとCAとではその態度が異なることである<sup>40)</sup>。例えばハムスターに43mg/kgのCDCAを投与した場合には、胆汁酸の生合成を調節するCholesterol-7 $\alpha$ -hydroxylaseよりもコレステロール生合成を調節するHMG-CoA reductaseを抑制する作用が強いが、同量のCA投与では後者よりも胆汁酸生合成抑制作用の方が顕著なのである<sup>64)</sup>。

又CDCAを750mg/日宛4ヶ月間服用せしめた胆石症患者に於いてはHMG-CoA reductase 活性は、正常化し、ために肝コレステロール量も正常化したとの報告<sup>65)</sup>や、CDCA投与群の胆汁成分の統計的に有意である変化は総胆汁酸量の増加ではなく、コレステロール濃度の低下にあるといった事実<sup>19)</sup>からも肯ける。

われわれの実験成績では、表14の如く、CDCA 3mg/kg/日の投与で既にBA+PL/Cの比は増大しているのに対し、0.5%の割合にそれを食餌中に添加、混入した大量投与時には却ってその比が低くなっている。これをSmallの三角座標に記入、検討すると対照群では肝胆汁がコレステロール過飽和の状態を示したのに対して、CDCA 3mg/kg/日投与群ではコレステロールは可溶化されて然るべきmicellar zone内にある。CDCAの大量投与に際しては胆汁中に232mg/dlという多量のCDCAを排出、総胆汁酸量の73.0%を占め

ようになるが、3mg/kg 投与では19.5mg/dl と対照群と殆んど差異を認めない。

他方、LA の胆汁内濃度をみると、対照群では0.25~0.51mM/dl であるのに対して、CDCA 大量投与群では、12.38mM/dl、3mg/kg 投与群でも3.81mM/dl であった。Taurine 抱合型を使用しても4.30mM/dl と減少せず、寧ろ、CMC を増量した高脂肪食群では CDCA 3mg/kg の割合に投与し乍らもそれは0.83 mM/dl に抑えられていたことは興味深い (図4)。こ

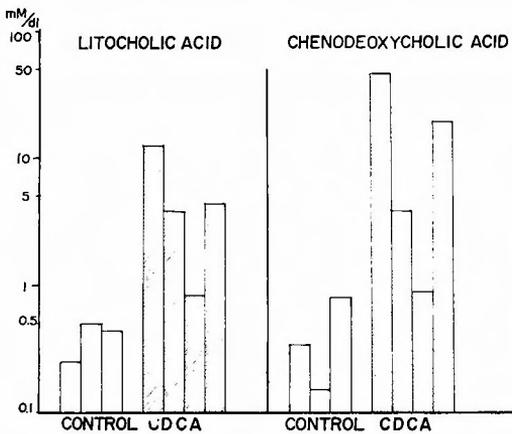


図4 CDCA 投与後の胆汁内胆汁酸濃度 (mM/dl)

れをモル%で比較してみると、LAは対照群では6.0~54.8%であり、CDCA 大量投与後では20.2%、CDCA 3mg/kg 投与群では22.6%、Taurine 抱合型 CDCA 群では11.4%であり、CMC を増量した高脂肪群でも26.6%である。このことはLAの絶対量の多い胆汁では、他の胆汁酸も多く、より濃い胆汁が分泌された結果とも考えられる。

以上、試獣を用いて胆嚢内に一旦生じたコレステロール系胆石を溶解せしめる方策に関する実験成績について論じて来たが、胆石溶解の他の方法についてもこの際再考してみる必要があるように思われる<sup>66)67)68)</sup>。

というのも、本実験でも明らかなように少なくともハムスターでは市販固形食による胆石溶解の方が遙かに有望でより一層確実であったからである。実験的胆石形成食と市販固形食との主な相異点は前者に保有されている糖質がブドウ糖や蔗糖であり、脂肪が低級脂肪酸を含む飽和脂肪酸で、線維類が少ないということである。

又近時胆嚢摘出術後の胆汁酸代謝の研究が急速に進歩し、胆嚢摘出術によって胆汁が腸管へ常に流出する

状態になると、その腸管からの吸収量が増加し、腸肝循環によって肝に帰って来る胆汁酸量が増大、健康人よりも肝に於けるコレステロール生成機構が鋭敏過ぎていた胆石症患者のそれが調節機構が却って正常化し、次第にコレステロール可溶性胆汁になってゆくことが知られるに至った<sup>69)70)</sup> 従って、胆嚢摘出術は単なるコレステロール系胆石形成の場を除去するという意味ばかりでなく、その再発を予防する策の一つともなり、手術に際しての管理技術の発達、従ってその危険率の低下を併せ考えると、現状では CDCA 療法のみで執着するのは賢明な方法とはいえないように思われる。

## 結 語

Chenodeoxycholic acid (CDCA) が臨床的に胆石の消失を招来するという報告が、1972年発表されて以来、1973年10月までに228例の臨床経験がなされ、126例中46例(36.5%)に胆石の消失又は縮少を認め、有力な治療法として大いに期待されているが、その基礎となるべき慢性毒性実験や有効投与量、投与方法、更には副作用防止方策等については充分な検討がなされていない。

このような現状に鑑み、われわれはハムスターを用いたコレステロール系胆石の疾患モデルを駆使、応用して、この点について検討、次のような結論に到達した。

1) CDCA 投与量としては、胆汁酸プール量又は一日生成量に相当する1~3mg/kg/日が適当と思われる、それ以上の大量投与は却って胆石溶解能力を低下せしめる。

2) CDCA は遊離型でもその実験的コレステロール系胆石に対する溶解能力には左したる問題はない。抱合型としては Glycine 抱合型がよく、Taurine 抱合型は却ってその胆石溶解能力を低下せしめる。

3) 下痢は6mg/kg/日以上で、対照群より高率に認められ、投与開始10日以降に発生するが、投与量との間に相関関係はみられない。

4) 肝胆汁のコレステロール溶存能 (BA+PL/C) は対照群ではコレステロール過飽和の状態を示したが CDCA 投与群ではコレステロール溶存状態を示した。

5) 併し、その胆汁中には対照群と較べてかなり多量の Lithocholic acid が含まれていた。モル%では有意の差がなく、濃い胆汁が排泄されるといえよう。

6) CDCA 投与群では GOT, GPT 値が少々上昇

傾向を示した。

7) 肝, 腎, 盲腸, 甲状腺, 副腎などの病理組織学的検査で, 特に CDCA によると思われる著しい異常所見は認められなかった。

8) 併し, フドウ糖や蔗糖など単糖類, 二糖類の含量を減ずると共に低級飽和脂酸をも含む動物性脂肪の含量を少なくした比較的線維素の多い食餌摂取の方が CDCA 投与よりも遙かに実験的コレステロール系胆石に対する形成予防効果も, 又それが溶解能力も大であった。

本実験の要旨は, 第60回日本消化器病学会胆石症シンポジウムに於いて発表し, 第9回日本成人病学会, 第61回日本消化器病学会に於いて発表予定である。

#### 謝 辞

この研究に用いた Chenodeoxycholic acid は, エーザイ株式会社開発部より提供して頂いたことをここに記し, 感謝の意をささげます。

#### 文 献

- 1) 谷村 弘, 日笠頼則: 外科領域における脂質代謝に関連した病態生理学的研究, 医研新報, **2**: 42, 1972.
- 2) 日笠頼則, 他: Polyenoic fatty acid をめぐる臨床的諸問題, (Ⅲ), 特に外科的立場から. 最新医学, **22**: 1227, 1967.
- 3) 日笠頼則, 他: 外科領域における脂質代謝に関連した2, 3の問題. 日本臨牀, **22**: 509, 1964.
- 4) 日笠頼則, 他: 脂質代謝に関連した外科領域における病態生理学的諸問題, 日本臨牀, **22**: 2158, 1964.
- 5) Hikasa, Y. et al.: Initiating factors of gallstones, especially cholesterol stones. Arch. Jap. Chir., **33**: 601, 1964.
- 6) Hikasa, Y. et al.: Initiating factors of gallstones, especially cholesterol stones (II). Arch. Jap. Chir., **34**: 1430, 1965.
- 7) Hikasa, Y. et al.: Initiating factors of gallstones, especially cholesterol stones. Recent Advances in Gastroenterology, **IV**: 208, 1967.
- 8) Hikasa, Y. et al.: Initiating factors of gallstones, especially cholesterol stones (III). Arch. Jap. Chir., **38**: 107, 1969.
- 9) Heaton, K. W.: Bile salts in health and disease, Churchill Livingstone, Edinburgh and London, 1972.
- 10) Wheeler, H. O.: Biliary excretion of bile acids, lecithin, and cholesterol in hamsters with gallstones. Gastroent., **65**: 92, 1973.
- 11) 谷村 弘, 他: 胆石症とりわけコレステロール系結石の成因, 日本臨牀, **31**: 2085, 1973.
- 12) Sondergaard, E. Prange, I. and Dam, H.: Alimentary production of gallstones in hamsters. 22. The influence of a non-adsorbable bile acid binding resin, cholestyramine, on formation of gallstones in hamsters. Z. Ernähr., **9**: 174, 1969.
- 13) Van der Linden, W. and Nakayama, F.: Change of bile composition in man after administration of cholestyramine (a gallstone dissolving agent in hamsters). Acta Chir. Scand., **135**: 433, 1969.
- 14) Bergman, F. and van der Linden, W.: Influence of cholestyramine, a bile acid sequestrant, on gallstone formation in hamsters. Acta Chir. Scand., **132**: 724, 1966.
- 15) 菅田文夫, 清水盈行: 胆石陰影消失例の再検討, 日誌誌, **71**: 75, 1974.
- 16) 亀田治男: 胆道の病気, 中外医学社 (東京), 1974.
- 17) Dam, H.: Nutritional aspects of gallstone formation with particular reference to alimentary production of gallstones in laboratory animals. World Review of Nutrition and Dietetics. **11**: 199, 1969.
- 18) Danzinger, R.G., Hofman, A. F., Schoenfield, L. J., and Thistle, J.L.: Dissolution of cholesterol gallstones by chenodeoxycholic acid. New Eng. J. Med., **286**: 1, 1972.
- 19) Bell, G. D., Whitney, B. Dowling, R. H.: Gallstone dissolution in man using chenodeoxycholic acid. Lancet, **2**: 1213, 1972.
- 20) Hofman, A. F. and Paumgartner, G.: Chenodeoxycholic acid therapy of gallstones. Workshop held in Freiburg I. Br., 1973. F. K. Schattauer Verlag.
- 21) Dam, H. Prange, I. and Sondergaard, E.: Alimentary production of gallstones in hamsters. 24. Influence of orally ingested chenodeoxycholic acid hyodeoxycholic acid on formation of gallstones. Z. Ernähr., **11**: 80, 1971.
- 22) Thistle, J. L., and Hofman, A. F.: Efficacy and specificity of chenodeoxycholic acid therapy for dissolving gallstones. New Eng. J. Med., **289**: 655, 1973.
- 23) Bell, G. D., Mok, H. Y. I., Thwe, M., Murphy, G. M., Henry, K., and Dowling, R. H.: Liver structure and function in cholelithiasis: Effect of chenodeoxycholic acid. Gut, **15**: 165, 1974.
- 24) 谷村 弘, 日笠頼則: 胆石症の成因とそれに関連した病態生理学的諸問題. 第60回日本消化器

- 病学会, S-III, 1974.
- 25) 谷村 弘, 他: 胆石症に合併する膵炎の発生機序について, 臨床成人病, **2**: 1477, 1972.
  - 26) 谷村 弘, 日笠頼則: 胆石症—コレステロール結石—, 日本臨牀, **30**: 234, 1972.
  - 27) 谷村 弘: 胆石症. 代謝, **11**: 1551, 1974.
  - 28) McSherry, C.K., Javitt, N.B., Carvalho, J.M. and Glenn, F.: Cholesterol gallstones and the chemical composition of bile in baboons. *Ann. Surg.*, **173**: 569, 1971.
  - 29) Osuga, T., and Portman, O.W.: Experimental formation of gallstones in the squirrel monkey. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **136**: 722, 1971.
  - 30) Breneman, D.E., Connor, W.E., Forker, E.L., and Besten H.D.: The formation of abnormal bile and cholesterol gallstones from dietary cholesterol in the Prairie Dog. *J. Clin. Invest.*, **51**: 1495, 1972.
  - 31) Tanimura, H.: Experimental studies on the etiology of cholelithiasis. *Arch. Jap. Chir.*, **34**: 1160, 1965.
  - 32) Borgman, R.F. and Haselden, F. H.: Cholelithiasis in rabbits: Effects of cod liver oil on dissolution of gallstones. *Am. J. Vet. Res.*, **32**: 427, 1971.
  - 33) Tepperman, J. and Weiner, M.: Experimental gallstones: An adventure in biological geology. *Yale J. Biol. Med.*, **41**: 107, 1971.
  - 34) Pavel, I., Cheisiu, N. et Sdrobici, D.: Gallstones in the scorbutic guinea-pig. *Nutr. Dieta.*, **11**: 60, 1969.
  - 35) Palmar, R. H.: Gallstones produced experimentally by lithocholic acid in the rats. *Science*, **148**: 1340, 1965.
  - 36) Englert, E. Jr. et al.: Gallstones induced by normal foodstuffs in dogs. *Nature*, **324**: 280, 1969.
  - 37) 田嶋嘉雄: 実験動物学総論, 朝倉書店(東京), 1970.
  - 38) Lee, C.C., Herrmann, R.G., and Froman, R.O.: Serum, bile and liver total cholesterol of laboratory animals, toads and frogs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **120**: 542, 1959.
  - 39) Bernick, S., Patek, P. R., Ershoff, B. H., and Wells, A.: Effect of cholesterol feeding on the thyroid gland and vascular structures of the rabbit, guinea pig, hamster and rat. *Am. J. Path.*, **41**: 611, 1962.
  - 40) Beher, W.T., Baker, G.D., and Penney, D.G.: A comparative study of the effects of bile acids and cholesterol on cholesterol metabolism in the mouse, rat, hamster and guinea pig. *J. Nutrition*. **79**: 523, 1963.
  - 41) King, J. E. Oshiba, S, and Schoenfield, J.: Bile secretion in isolated hamster liver. *J. Appl. Physiol.*, **28**: 495, 1970.
  - 42) CDCA 研究会(東京) Sep. 1974.
  - 43) Tanimura, H. and Hikasa, Y.: Initiating factors of gallstones, especially cholesterol stones. 9<sup>e</sup> Congrès International de Gastroenterologie. Paris, 1972.
  - 44) 五十君裕玄, 他: 経口胆石溶解剤としての Chenodeoxycholate に関する実験的研究—臨床応用に対する問題点提起として— 第60回日本消化器病学会. 1974.
  - 45) Vlahcevic, Z.R., Miller, J.R., Farrar, J.T., and Swell, L.: Kinetics and pool size of primary bile acids in man. *Gastroent.*, **61**: 85, 1971.
  - 46) Beher, W.T., Filus, A.M., Rao, B., and Beher, M. E.: A comparative study of bile acid metabolism in the rat, mouse, hamster, and gerbil. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **130**: 1067, 1969.
  - 47) 松本和則, 亀田治男: 各種胆汁酸の胆石生成に及ぼす影響について, 医学のあゆみ, **89**: 701, 1974.
  - 48) 井上昌次郎: ハムスターの生物時計. 化学と生物. **11**: 720, 1971.
  - 49) Slater, G. M.: The care and feeding of the syrian hamster. *Prog. Exp. Tumor Res.*, **16**: 42, 1972
  - 50) Luce, G. G. (岡まりな訳): Body time, Pantheon books, Random House Inc. New York 1971.
  - 51) Danielson, H.: Diurnal variations in and effect of biliary obstruction on cholesterol and bile acid formation. *Helv. Med. Acta*, **37**: 121, 1973.
  - 52) Mitropoulos, K.A., Balasubramaniam, S, and Myant, N.B.: The effect of interruption of the enterohepatic circulation of bile acids and of cholesterol feeding on cholesterol 7-alpha-hydroxylase in relation to the diurnal rhythm in its activity. *Biochim. Biophys. Acta*, **326**: 428, 1973.
  - 53) Sarles, H. et al.: Diet, cholesterol gallstones and composition of the bile. *Digestive diseases*, **15**: 251, 1970.
  - 54) Smallwood, R. A., Jablonski, P. and Watts, J. MacK.: Intermittent secretion of abnormal bile in patients with cholesterol gallstones. *Brit. Med. J.*, **4**: 263, 1972.
  - 55) Shaffer, E.A, Braasch, J.W., and Small, D.M.: Bile composition at and after surgery in normal persons and patients with gallstones. Influence of cholecystectomy. *New Eng. J. Med.*, **287**: 1317, 1972.
  - 56) Pomare, E. W. and Heaton, K.W.: The effect

- of cholecystectomy on bile salt metabolism. *Gut*, **14**: 753, 1973.
- 57) Mekhjian, H. S., and Phillips, S. F. : Perfusion of the canine colon with unconjugated bile acids (Effect on water and electrolyte transport, morphology and bile acid absorption). *Gastroentel.*, **59**: 120, 1970.
- 58) Mekhjian, H.S., Phillips, S. F., and Hofmann, A. F.: Colonic secretion of water and electrolytes induced by bile acids: Perfusion studies in man. *J. Clin. Invest.*, **50**: 1569, 1971.
- 59) Fujihira, E, Ohshima, T., Ushioda, I., Furuhashi, T., Takahashi, N., Sasajima, M., and Tanaka, I. : Effect of taurine on the capacity of the bile to solubilize cholesterol in lithogenic hamsters. *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)*, **21**: 2796, 1973.
- 60) Danzinger, R. G., Hofman, A. F., Thistle, J.L., and Schoenfield, L. J. . Effect of oral chenodeoxycholic acid on bile acid kinetics and biliary lipid composition in women with cholelithiasis. *J. Clin. Invest.*, **52**: 2809, 1973.
- 61.) King, J.E. and Schoenfield, L.J. : Lithocholate cholestasis in isolated hamster liver. *Gastroent.*, **60**: 189, 1971.
- 62) Schaffner, F., and Javitt, N. B. : Morphologic changes in hamster liver during cholestasis induced by tauroolithocholate. *Lab. Invest.*, **15**: 1783, 1966.
- 63) Back, P., Hamprecht, B., and Lynen, F. : Regulation of cholesterol biosynthesis in rat liver; diurnal changes of activity and influence of bile acids. *Arch Biochem. Biophys.*, **133**: 11, 1969.
- 64) Schoenfield, L. J., Bonorris, G. G., and Ganz, P.: Induced alterations in the rate-limiting enzymes of hepatic cholesterol and bile synthesis in hamster. *J. Lab. Clin. Med.*, **82**: 858, 1973.
- 65) Salen, G., Nicolau, G. and Shefer, S.: Chenodeoxycholic acid (CDCA) inhibits elevated hepatic HMG-CoA reductase activity in subjects with galltones. *Clin. Res*, **21**: 523, 1973.
- 66) Whyte, H. M., Nestel, P. J., and Pryke, E. S. : Bile acid and cholesterol excretion with carbohydrate-rich diets. *J. Lab. Clin. Med.*, **81**: 818, 1973.
- 67) Prager, G. N., Voigt, W., and Hsia, S. L. : Stimulation of taurodeoxycholate 7 $\alpha$ -hydroxylase of rat liver by adenosine 3': 5'-monophosphate and saturated fatty acids. *J. Biol. Chem.*, **248**: 8442, 1973.
- 68) Pomare, E. W., and Heaton, K.W. . Alteration of bile salt metabolism by dietary fibre(Bran). *Brit. J. Med.*, **4**: 262, 1973.
- 69) Simmons, F., Ross, A. P., and Bouchier, I. A. D. . Alterations in hepatic bile composition after cholecystectomy. *Gastroent.*, **63**: 466, 1972.
- 70) Smith, D. C., Mcallister, R. A. and Mackay, C. . The effect of cholecystectomy on the composition of bile in gallstone patients. *Br. J. Surg.*, **60**: 899, 1973.