

回腸バイパス術後の胆石発生に関する実験的研究

第2編：ハムスターの胆汁脂質および 胆汁酸の腸肝循環におよぼす 回腸バイパス術の影響

京都大学医学部外科学教室第2講座（指導：日笠頼則教授）

小 林 展 章

〔原稿受付：昭和54年11月10日〕

Experimental Studies on Gallstone Formation after Partial Ileal Bypass Operation

(II) Effects of Partial Ileal Bypass Operation on Biliary Lipids and Enterohepatic Circulation of Bile Acids in Hamsters

NOBUAKI KOBAYASHI

Second Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University.

(Director : Prof. Dr. YORINORI HIKASA)

In the viewpoint of gallstone formation, the effects of partial ileal bypass operation on biliary lipids and enterohepatic circulation of bile acids were examined in hamsters, and the following results were obtained.

1) No cholesterol gallstones were found in all 25 animals followed up for 3 months after the partial ileal bypass operation.

2) Fecal excretion of bile acids, especially of deoxycholic acid, and of sterols increased after the operation.

3) Hepatic synthesis of bile acids by mean of "washout" method increased, but bile acid pool size, biliary bile acid secretion and biliary cholesterol secretion showed no significant changes.

4) The percentage of deoxycholic acid in the total bile acids in bile increased, and those of cholic and chenodeoxycholic acids decreased.

Key words : Partial ileal bypass operation, Biliary lipids, Bile acid, Enterohepatic circulation, Gallstone formation.

索引語：回腸バイパス術，胆汁脂質，腸肝循環，胆汁酸，胆石発生。

Present address : Second Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto, 606, Japan.

5) The concentration of cholesterol, total bile acids and phospholipids in bile did not change, and molar ratios of those lipids showed no significant changes.

6) The ratio of bile acids plus phospholipids to cholesterol did not change, and the biliary lipid composition still remained in the micellar zone in the triangular coordinates by Admirand and Small.

7) The lipid composition in bile of a patient who had been subjected to ileal bypass operation 9 months before did not differ from those of controls, and remained in the micellar zone, although the bile acid composition changed; cholic and chenodeoxycholic acids being decreased and deoxychoilic acid being increased. These changes of bile composition in the ileum bypassed patient were similar to those in hamsters.

It was concluded that the partial ileal bypass operation did not increase the lithogenic index of bile as a result of compensatory mechanism of increased hepatic synthesis of bile acids and increased absorption of deoxycholic acid in spite of increased fecal loss of bile acids and sterols after the operation, and actually no gallstones were formed in hamsters and a patient with the partial ileal bypass.

緒 言

回腸切除術を受けた患者や回腸炎の患者には、胆石発生の頻度の高いことが注目されており、その原因は、胆汁酸の吸収障害に起因する胆汁脂質組成の変化によると考えられている⁴⁾¹⁰⁾²⁵⁾³⁰⁾³⁴⁾。すなわち、胆汁酸の主たる吸収部位である回腸²¹⁾³⁷⁾⁴⁸⁾⁵⁰⁾を失うことにより、胆汁酸の吸収障害をきたし、胆汁酸の多大の喪失の結果、胆汁酸の腸肝循環が障害され、胆汁酸プールが減少すること²⁴⁾、胆汁中への胆汁酸分泌が減少し¹³⁾¹⁴⁾³⁴⁾、あるいは胆汁酸組成が変化すること¹⁾¹⁹⁾²⁵⁾⁴³⁾、さらに胆汁脂質組成が変化してコレステロールが過飽和になること⁴⁾¹⁴⁾⁴¹⁾、などが回腸切除後の胆石発生の原因にあげられている。

一方、高コレステロール血症患者に対する外科治療の為に行われる小腸の遠位3分の1を迂回させる Partial ileal bypass 術⁶⁾後にも、回腸切除後と同様、胆汁酸の主たる吸収部位である回腸を迂回することで、胆汁酸の腸肝循環の障害が予測され、そのためにコレステロール胆石の発生が推測される。しかるに、Buchwald⁸⁾によれば、101例の Partial ileal bypass 術施行患者の中、術後10年間の追跡調査で、わずかに1例のみに術後性の胆石発生をみたにすぎない。この頻度はむしろ胆石の自然発生率⁴⁾²⁵⁾³⁰⁾³⁴⁾ (8~12%)よりも低い。しかも Partial ileal bypass 術後の胆汁脂質組成の変化についての臨床的、実験的検索は、こ

れまで殆んどなされておらず、その詳細については不明な点が多かった⁸⁾⁹⁾⁴⁴⁾。

それ故、著者は、果して Partial ileal bypass 術が胆石発生の素地を生むか否かを検討する目的で、まずイヌに Partial ileal bypass 術を施行し、胆汁脂質におよぼす影響を検討し報告した³⁶⁾。その結果は、胆汁中の胆汁酸、とくにコール酸の減少が主な変化であり、胆汁酸+リン脂質/コレステロール比が減少し、Lithogenic index は高くなるにも拘らず、胆汁組成はなおミセル域内にとどまり、胆石発生は全くみられなかった。

しかし、イヌの胆汁はコレステロール濃度が低く³⁴⁾、コレステロール胆石の自然発生は極めて稀れで⁴²⁾、実験的胆石形成食餌負荷によっても、肉眼的なコレステロール胆石発生を認めるに至らないなど⁵⁾¹⁶⁾、胆石形成実験動物として、不適当な性格を有することが反省された。そのため、胆嚢をもち、胆汁組成がヒトによく似ていると言われ⁵⁾⁹⁸⁾、さらに実験的に食餌因子のみで容易にコレステロール胆石を発生すること⁵²⁾、入手が簡易で、取扱いが容易なハムスターを用いることがより適切と考えられる。

そこで今回は、ハムスターを用いて、Partial ileal bypass 術を行い、術後の胆石発生の有無、胆汁の脂質組成、胆汁酸の腸肝循環におよぼす影響などについて検討した。まそ、臨床例における回腸 bypass 術後の胆汁脂質の変化についても、併せ検討した。

実験材料並びに方法

試験として、体重 120~150g の雄ゴールデンハムスター（以下ハムスター）（静岡県実験動物農業協同組合）を用いた。糞尿の摂取をしないよう、ステンレス製金網底の個別ケージ内に収容し、完全空調調整下に室温26°C、湿度60%に維持し、照明は午前9時から午後6時までとした。飼料は全て市販一般飼育用固型食（船橋農場・飼育用・千葉）を ad libitum に与え、飲料水は給水瓶にて自然給水とした。

25匹の雄ハムスターに後述の方法で Partial ileal bypass 術を施行し、術後の体重変化、糞便の性状を観察した。術後4週目あるいは3カ月目に再開腹し、コレステロール胆石発生の有無、腹腔内臓器の肉眼的観察を行い、同時に胆嚢胆汁あるいは肝胆汁を採取して、その脂質を分析した。術後4週目に経時的に分割採取した肝胆汁の分析値より、Washout 法¹²⁾¹⁷⁾で胆汁酸の分泌量、肝での合成量、プールサイズを求めた。また術後4週目あるいは3カ月目に糞便を摂取し、その脂質についても分析した。一方、同条件で飼育した非手術対照群について、胆汁および糞便を採取し、その脂質について同様に分析し、対照値とした。

また、全小腸の遠位約3分の1の Bypass 術を行った臨床例について、術後9ヶ月目に胆汁を採取してその脂質を分析し、対照5例の胆汁中脂質と比較、検討した。

(1) Partial ileal bypass 術の手術手技

ネンブタール®(Pentobarbital sodium, アボットラボラトリーズ, USA) 50mg/kg体重の腹腔内投与に

よる麻酔下に、下腹部正中切開にて開腹し、回盲部より腸間膜附着部で計測して 10cm 口側で小腸を切断し、遠位切断端を閉鎖の上、近位切断端を盲腸根部に図の如く端側に吻合した⁸⁾(Fig 1)。予備実験で、用いた体重 120~150g のハムスターの小腸の長さはいずれもほぼ 30cm であったので、10cm をもって全小腸の長さの3分の1とした。

(2) 胆嚢胆汁採取

術後4週目あるいは3カ月目に、24時間絶食後、ネンブタール®腹腔内麻酔下に開腹し、胆汁が充満した胆嚢を胆汁が流出せぬよう胆嚢管の部で直ちに結紮した後摘出し、肝組織や血液などの附着物を除いた後、小剪刀で胆嚢に小切開を加えて胆汁をアルミ箔に流出させ、10ul 容のマイクロピペットで吸い上げて、10ul 単位で胆汁量を測定しながら、採取した胆汁を 5ml 容のエタノール中に添加した。胆汁採取後に胆石の有無をしらべ、腹腔内臓器の観察を行った。ハムスターの胆嚢胆汁は極少量のため、1~3匹分の胆汁を併せて1試料分とした。すなわち、対照群、術後4週目群、術後3ヶ月目群について夫々10、10、7匹のハムスターから5、6、5の試料を得た。

(3) 肝胆汁採取

術後4週目の早朝に、ネンブタール®腹腔内麻酔下に開腹し、胆嚢内に結石の有無を確かめた上、少量貯留した胆嚢胆汁を摂子で胆嚢を狭んで総胆管へ排出させ、さらに生理的食塩水 0.2ml を胆嚢内へ注入し、胆嚢内を洗い、これも全量総胆管へ排出させた。次いで胆嚢管結紮後、総胆管を十二指腸上部で切開して、外径 0.61mm 内径 0.28mm のポリエチレンチューブ

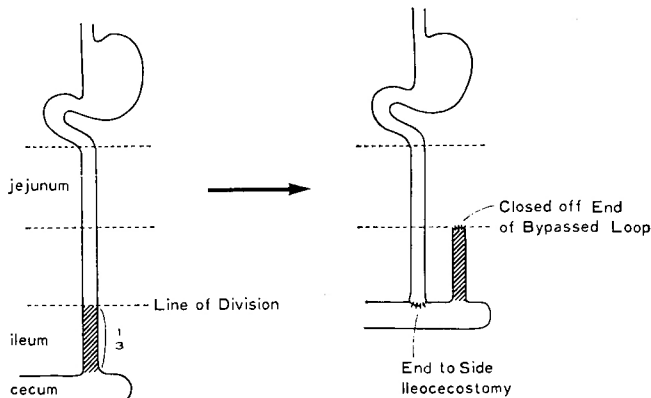


Fig. 1. Diagram of partial ileal bypass operation.

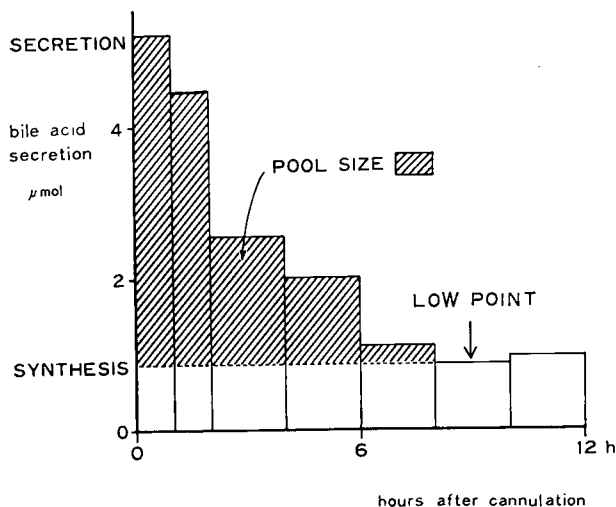


Fig. 2. Example of bile acid secretion during 12 hours after cannulation of the common bile duct in hamsters. Bile acid pool size, bile acid secretion rate and basal hepatic synthesis may be calculated from this "washout" curve.

(Intramedic®, PE-10, Clay Adams, USA) を肝側へ向って 1 cm 挿入し結紮固定した。チューブの遠位端を体外に出し完全外胆嚢瘻とした後、ハムスターをボールマンケージにに入れて腹臥位で固定した。自然滴下で最初の 1 滴目が流出しはじめるのを俟って、最初の 4 時間は 1 時間毎に、引続き 2 時間毎に、12 時間にわたり肝胆汁を経時的に分割採取した。胆汁採取中は飼料、飲料水は自由に与えた。非手術対照群に対しても同様の操作で肝胆汁の採取を行った。

(4) Washout 法による胆汁酸の分泌量、肝における合成量、プールサイズの測定

Washout 法で計測される胆汁酸のプールサイズ値が、アイソトープを用いた希釈法³⁸⁾で得られるプールサイズ値と近似した値を示すことが確かめられているので¹⁷⁾、ここでは Washout 法を用いた。

完全外胆嚢瘻造設 (Washout) 後の胆汁酸の分泌速度の経時的推移 (Washout curve) は、時間経過と共に分泌速度が減少し、数時間後 (今回のハムスターにおける実験では 8 時間後) に最低となり (Low point), その後次第に増加することが観察された (Fig. 2)。

Washout 開始直後の分泌速度は正常な腸肝循環を営んでいる恒常状態 (Steady state) における分泌速度を表わしており、Low point における分泌速度をも

って肝における胆汁酸の合成量とし、Low point に至るまでの分泌量から Low point 時の分泌量を差し引いたものの総和を胆汁酸のプールサイズとした (Washout 法^{12,17)})。

(5) 糞便採取

ハムスターの糞便採取にあたり、排泄された糞便を全量、しかも出来る限り尿と混じることなく乾燥した状態で採取出来るよう、ステンレス製金網底ケージを宙吊りに固定し、その下方にケージ底から約 5 cm 離して、ケージの底面積より広いバット (金属皿) を置き、その中に市販の紙オシメを敷き吸湿を計った。術前、術後 4 週目さらに 3 カ月目の胆汁採取前に、糞便排泄量の日差を補正するために、48 時間分の糞便を 1 匹ごとに全量集め、広口瓶に入れてガーゼで蓋をして、45°C で 24 時間陰圧 (-70 cmHg) で乾燥させた後、分析までデシケーター中に保存した。

(6) 胆汁中脂質の分析

胆嚢胆汁。 採取時胆嚢胆汁を添加した 5 ml エタノールを 5 分間煮沸した後、室温まで冷却し、再びエタノールで正確に 5 ml とし、毎分 3,000 回転で 10 分間遠沈した。この操作で、胆汁の除蛋白と胆汁中の脂質の抽出が行われ得る³²⁾。上澄の 3.5 ml を用いてコレステロールと胆汁酸を、1 ml を用いてリン脂質を夫

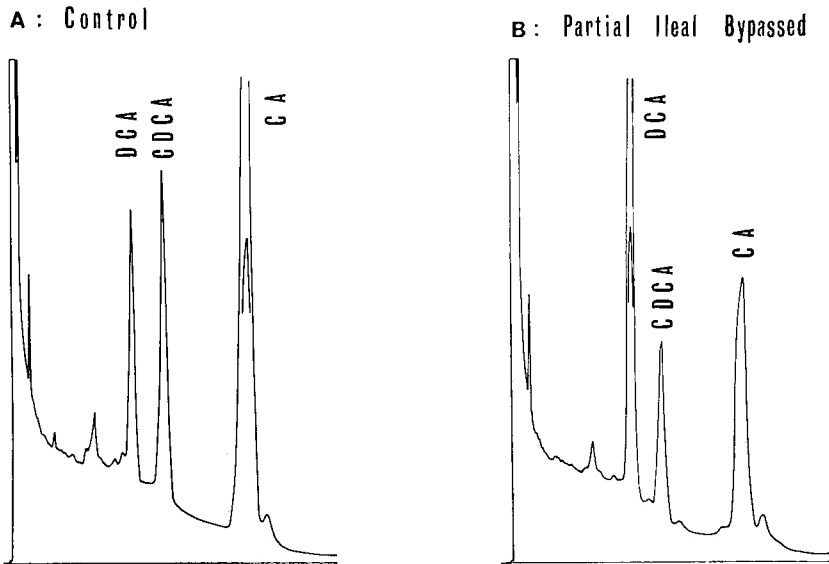


Fig. 3. Comparisons of gas-liquid chromatograms of biliary bile acids in hamsters of control group (A) and partial ileal bypassed group (B).
DCA : deoxycholic acid, CDCA : chenodeoxycholic acid, CA : cholic acid.

々測定し、対照群と術後4週目群および3カ月目群とを比較、検討した。

肝胆汁は1ml容のピペットを用いて、採取に用いた試験管内から全量吸い上げて胆汁試料の容量を測定した後再び試験管内に戻し、蒸留水を加えて1mlとした。除蛋白操作を省いて、これに2.5N苛性ソーダ1mlを加えた後加水分解を行い、コレステロールと胆汁酸を夫々を測定し、対照群と手術群を比較、検討した。

胆汁中各脂質の測定は既報の方法³⁶⁾に従い、胆汁酸は3% QF-1 充填カラムを用いたガスクロマトグラフ⁵⁶⁾で、コレステロールは塩化第二鉄法²⁷⁾⁵⁵⁾⁶²⁾で、リン脂質は湿性灰化法²³⁾⁶⁾で夫々測定した。なお正常ハムスターの胆汁中胆汁酸のガスクロマトグラムはFig. 3の如くで、主な胆汁酸はデオキシコール酸(以下DCA)、ケノデオキシコール酸(以下CDCA)、コール酸(以下CA)であり、術後も同様であったので、この3者の合計から総胆汁酸量を求めた。

(7) 糞便中脂質の抽出および定量

乾燥重量測定した糞便を、市販コーヒーマイルで粉末化し、よく混和してからその1部(1g)をとり、無水アルコール20mlにて85°C下に60分間灌流抽出を行った。60分間静置後、その上澄抽出液を、脱脂綿を

頸部につめたガラス製ロートで濾過した。無水アルコールでさらに2回抽出した後、残渣に5mlの石油エーテルを加えて、サーモミキサー(Thermonics Co. Ltd. Tokyo, Model TM-100)を用いて30秒間振盪抽出を行った。3回繰返した無水アルコール抽出液と2回繰返した石油エーテル抽出液を併せて、ロータリーエバポレーター(柴田化学器工業株式会社, Type S)を用いて40°C水浴上減圧乾固した。4mlの1.25Nの苛性ソーダを加えて、120°Cで6時間加水分解した後、このアルカリ水解液をエチルエーテルで抽出した中性画分より糞便中のステロールを測定し、水層を2N塩酸でpH1~2とした後、エチルエーテルの抽出液から、胆汁におけるのと同様の方法で糞便中の胆汁酸を測定した⁵⁷⁾。各測定値について対照群と術後4週目群および術後3ヶ月目群とを比較、検討した。ステロールの分析は、試料をアセトンに溶解し、ガスクロマトグラフ(島津製作所, Model 4BMPF)により行った。なおカラムには1.5% SE-30 充填カラム(Chromosorb W, 4mm×1.5m)を用いた。カラム温度は230°C、検出器温度は290°C、キャリアガスには窒素(流速55~60ml/min)を用いた。ハムスター糞便中のステロールのガスクロマトグラムはFig. 4の如くで、コレステロールとコプロスタノールの和で

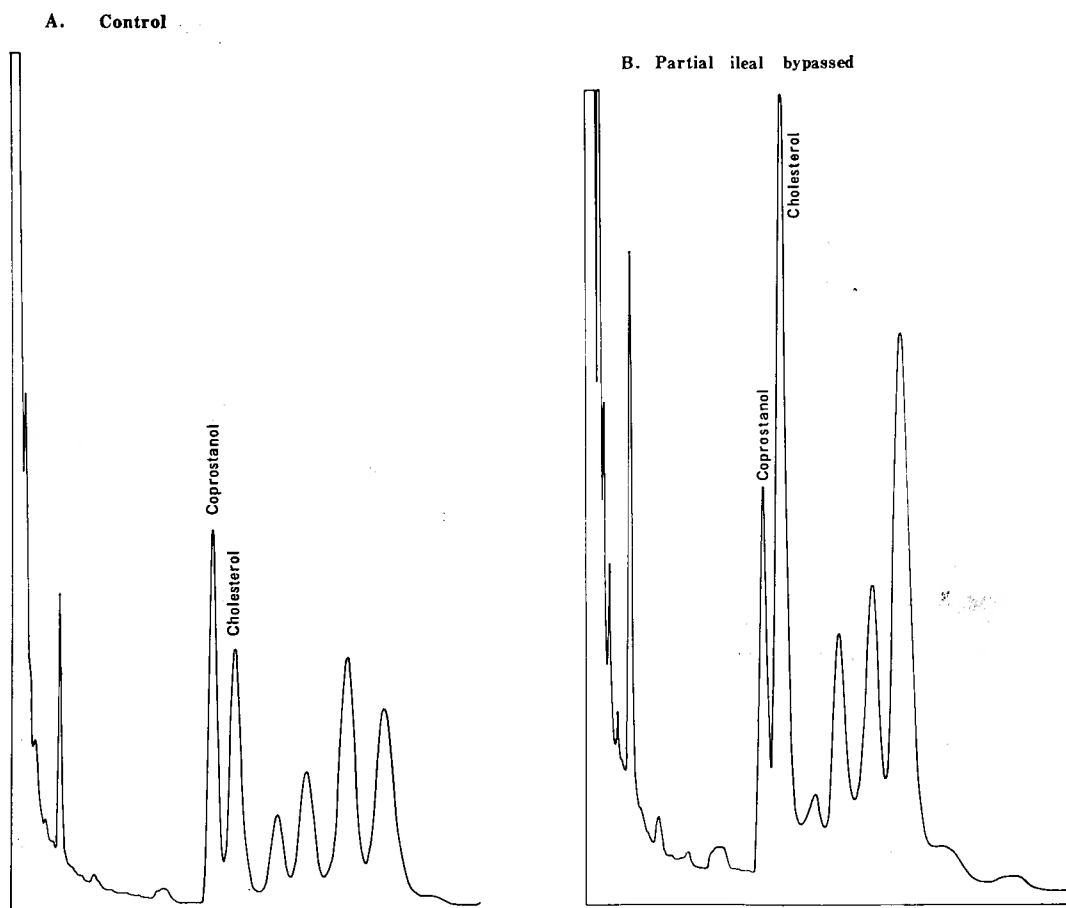


Fig. 4. Comparisons of gas-liquid chromatograms of fecal sterols in hamsters of control group (A) and partial ileal bypassed group (B).

総ステロール量とした⁵⁷⁾。また正常ハムスターの糞便中の主な胆汁酸は、リトコール酸、デオキシコール酸、12ケトリトコール酸であり、手術群でも同様であったので、この3者の合計で総胆汁酸量とした。

(8) 臨床例

症例は、子宮癌のため子宮全摘出術後 3,000R の Co⁶⁰照射を受けた69歳の女性で、放射線障害のため、その1年後回腸の閉塞症状をきたしたため、回腸（閉塞部の直ぐ口側部）と盲腸を側々吻合した。吻合部より口側の小腸の長さが全小腸の約3分の2であった。術後9カ月目の注腸透視で、吻合部より残存回腸肛門側へのバリウムの流入は殆どみられず、また回盲弁から回腸末端への逆流も認められなかった。この回腸 bypass 術施行症例は、Partial ileal pypass 術後の状

態に近いものであった。回腸 bypass 術後9カ月目に、15時間絶食後、Caerulein（協和醸酵工業株式会社、東京）0.2 μ g/kg 体重 筋注により胆嚢収縮の最も高まる15分後に十二指腸ゾンデ法で胆嚢胆汁（B胆汁）を採取し、採取した胆汁中のコレステロール、胆汁酸、リン脂質を測定した。対照としては非胆道疾患患者5例（65～77歳、平均70歳）から得た胆嚢胆汁（塩野義研究所・内田清久博士、東京都老人総合研究所生理部・木谷 健博士より提供）を用いた。

実験成績

(1) 動物の肉眼的所見

Partial ileal bypass 術を施行した全てのハムスターに、術後、脱毛、脱肛などはみられず、便の性状

は、糞塊の大きさが多少大きいものがみられたが、下痢は全くみられなかった。体重の変化は、術後2週目に平均、術前の85%まで減少したが、それ以後次第に回復し、4週目には平均術前の90%、3カ月目には平均95%になった。コレステロール胆石の発生は、対照群、術後4週目群、術後3カ月目群のいずれにも認められなかった。手術群では、吻合部より口側の小腸径が対照に比べ2~2.5倍に拡張しており、また拡張の程度は吻合部に近い程著明であった。曠置された回腸は、極めて細く萎縮していたので、回盲弁からの腸内容の逆流はなかったものと思われる。胆嚢壁には癒着など肉眼的な炎症所見は認められなかった。以上の術後の所見は、術後4週目と3カ月目とで同程度にみられた。

(2) 胆嚢胆汁脂質の成分変化

Partial ileal bypass 術後の胆嚢胆汁中の脂質の成

分は、Table 1 に示す通りである。コレステロール、総胆汁酸、リン脂質の各濃度は、術後4週目群、術後3カ月目群では対照群と比べ、いずれも有意の変化を示していない。これら3つの脂質の相対比 (Molar ratio) では、コレステロールが術後4週目、および3カ月目に平均で各々対照の1.44倍とわずかの増加を示したが、総胆汁酸、リン脂質は変化を示さなかった。これを、胆汁のコレステロール胆石易形成性 (Lithogenicity) を示す Index, 胆汁酸+リン脂質/コレステロール比³³⁾で表わすと、手術群と対照群との間に有意差はなく、いずれも Isaksson のいう臨界値^{11,33)}よりもはるかに高い値であった。さらに、胆汁脂質組成を Admirand and Small の三角座標²⁾にプロットしてみると Fig. 5-A の如く、手術群と対照群との間に差はなく、Holzbach³¹⁾ の Saturation line を用いても、いずれもミセル域内に存在していた。

Table 1. Changes of lipid concentration and molar ratio in gallbladder bile after partial ileal bypass operation in hamsters.

	Control (N=5)		4 weeks after operation (N=6)		3 months after operation (N=5)	
	Concentration ($\mu\text{mol/ml}$)	Molar ratio (%)	Concentration ($\mu\text{mol/ml}$)	Molar ratio (%)	Concentration ($\mu\text{mol/ml}$)	Molar ratio (%)
Cholesterol	3.46 $\pm$ 0.73 ^{a)}	1.83 $\pm$ 0.09	3.64 $\pm$ 0.73	2.63 $\pm$ 1.32	3.35 $\pm$ 1.55	2.64 $\pm$ 1.72
Total bile acids	165.3 $\pm$ 39.8	87.5 $\pm$ 5.0	129.9 $\pm$ 40.7	88.0 $\pm$ 3.8	118.9 $\pm$ 57.6	86.7 $\pm$ 2.9
Phospholipids	19.2 $\pm$ 7.3	10.7 $\pm$ 4.9	13.2 $\pm$ 4.0	9.3 $\pm$ 2.9	13.5 $\pm$ 4.9	10.7 $\pm$ 2.5
$\frac{\text{BA} + \text{PL}}{\text{Ch}}$	53.5 $\pm$ 2.8		42.2 $\pm$ 12.7		41.4 $\pm$ 14.4	

BA : total bile acids, PL : phospholipids, Ch : cholesterol N : Number of samples.

a) : Mean $\pm$ S.D.

Table 2. Changes of bile acid concentration and percentage in the total bile acids in gallbladder bile after partial ileal bypass operation in hamsters.

	Control (N=5)		4 weeks after operation (N=6)		3 months after operation (N=5)	
	Concentration ($\mu\text{mol/ml}$)	%	Concentration ($\mu\text{mol/ml}$)	%	Concentration ($\mu\text{mol/ml}$)	%
Cholic acid	104.5 $\pm$ 25.5 ^{a)}	63.2 $\pm$ 3.7	54.2 $\pm$ 22.1 ^{b)}	41.2 $\pm$ 5.8 ^{b)}	53.7 $\pm$ 27.7 ^{b)}	44.0 $\pm$ 6.9 ^{b)}
Chenodeoxy- cholic acid	43.8 $\pm$ 11.9	26.5 $\pm$ 3.9	13.4 $\pm$ 7.3 ^{b)}	10.7 $\pm$ 6.1 ^{b)}	7.9 $\pm$ 6.4 ^{b)}	5.8 $\pm$ 2.7 ^{b)}
Deoxycholic acid	17.0 $\pm$ 5.1	10.3 $\pm$ 1.4	62.4 $\pm$ 20.0 ^{b)}	48.1 $\pm$ 7.8 ^{b)}	57.2 $\pm$ 24.3 ^{b)}	50.2 $\pm$ 7.9 ^{b)}

N : Number of samples a) : Mean $\pm$ S.D. b) : Statistically significant ($p < 0.05$) against control.

胆汁酸組成の変化は Table 2 に示す通りである。CA 濃度は術後 4 週目には対照の51%に減少していた。CDCA 濃度も、術後 4 週目に対照の31%に、術後 4 週目には18%にまで減少した。これに対して DCA 濃度は、術後 4 週目には対照の3.7倍、術後 3 カ月目にも 3.4 倍と著明に増加した。各胆汁酸の総胆汁酸中に占める割合は、対照群で DCA・CDCA・CA が夫々10.3%、26.5%・53.2%であったのに対して、術後 4 週目群では夫々48.1%・10.7%・42.2%、術後 3 カ月目群でも夫々50.2%・5.8%・44%であった。術後総胆汁酸量は変化せず、胆汁酸組成で CA、CDCA の減少に対し DCA の増加と、組成比の変化が特徴的であった。

(3) 胆汁酸の分泌、肝における合成量、プールサイズとコレステロールの分泌

Washout 法によって測定した胆汁酸の分泌量、肝における合成量、プールサイズおよびコレステロールの分泌量の Partial ileal bypass 術後 4 週目の変化を Table 3 に示す。肝における胆汁酸の合成量は、対照の 9.3 μ mol/day に対し術後 17.8 μ mol/day と1.91倍に有意に亢進していた。一方、胆汁酸の分泌量、プールサイズ、コレステロールの分泌量には、Partial ileal bypass 術により有意な変化を生じなかった。

(4) 糞便中脂質の成分変化

胆汁酸とステロールの糞便中への排泄量の Partial ileal bypass 術後の変化を Table 4 に示す。総胆汁

Table 3. Changes of biliary secretion, hepatic synthesis and pool size of bile acids, by mean of washout method, and biliary secretion of cholesterol after partial ileal bypass operation in hamsters.

	Control	4 weeks after operation
Bile acids		
Secretion (μ mol/day/hamster)	138.3 $\pm$ 26.6 ^{a)} (n=6)	141.4 $\pm$ 44.9 (n=7)
Synthesis (μ mol/day/hamster)	9.3 $\pm$ 2.7 (n=5)	17.8 $\pm$ 6.5 ^{b)} (n=6)
Pool size (μ mol/hamster)	20.1 $\pm$ 5.5 (n=5)	16.4 $\pm$ 5.2 (n=6)
Cholesterol		
Secretion (μ mol/day/hamster)	4.65 $\pm$ 2.09 (n=6)	3.80 $\pm$ 1.51 (n=7)

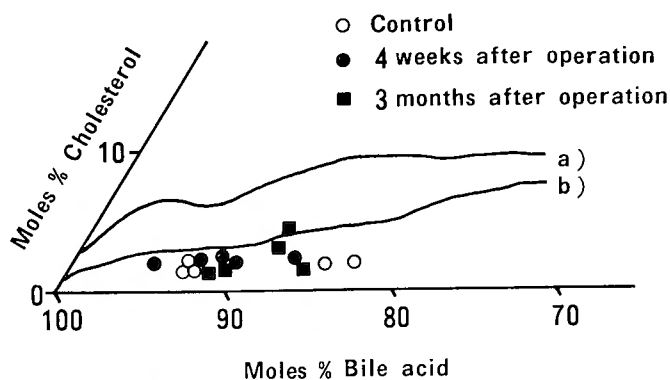
n : Number of animals. a) : Mean $\pm$ S.D. b) : Statistically significant (p<0.05) against control.

Table 4. Changls of daily fecal excretion of bile acids and sterols after partial ileal bypass operation in hamsters.

	Control	4 weeks after operation	3 months after operation
Bile acids (μ mol/day/hamster)	n=6	n=6	n=3
Total bile acids	3.65 $\pm$ 0.78 ^{a)}	12.33 $\pm$ 2.19 ^{b)}	12.32 $\pm$ 2.70 ^{b)}
Lithocholic acid	1.61 $\pm$ 0.29 (44.5 $\pm$ 5.2)	2.33 $\pm$ 0.66 ^{b)} (18.9 $\pm$ 4.1 ^{b)})	2.34 $\pm$ 0.64 ^{b)} (18.9 $\pm$ 8.0 ^{b)})
Deoxycholic acid	1.51 $\pm$ 0.46 (40.9 $\pm$ 5.2)	7.73 $\pm$ 1.88 ^{b)} (62.8 $\pm$ 13.5 ^{b)})	7.35 $\pm$ 2.79 ^{b)} (58.5 $\pm$ 15.2 ^{b)})
12 keto lithocholic acid	0.53 $\pm$ 0.18 (14.6 $\pm$ 3.9)	2.27 $\pm$ 1.61 ^{b)} (18.4 $\pm$ 12.3)	2.64 $\pm$ 1.32 ^{b)} (22.6 $\pm$ 14.1)
Sterols (μ mol/day/hamster)	n=5	n=4	n=3
Total Sterols	2.69 $\pm$ 0.63	6.39 $\pm$ 5.19	4.08 $\pm$ 0.92 ^{b)}
Coprostanol	1.42 $\pm$ 0.23	1.38 $\pm$ 1.19	0.56 $\pm$ 0.23
Cholesterol	1.27 $\pm$ 0.43	5.01 $\pm$ 5.29	3.53 $\pm$ 1.15

n : Number of animals. a) : Mean $\pm$ S.D. b) : Statistically significant (p<0.05) against control. () : Percentage in the total bile acids.

A. Hamster



B. Human

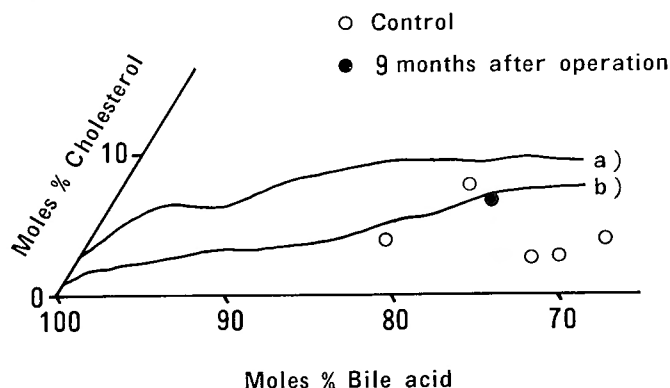


Fig. 5. The lipid composition of gallbladder bile, expressed by triangular coordinates, in controls and partial ileal bypassed hamsters (A), and in controls and a ileal bypassed patient (B). Boundaries of micellar zone are followed from Admirand and Small²⁾ (a), and Holzbach³¹⁾ (b).

酸の1日の排泄量は対照の $3.65\mu\text{mol}$ から術後4週目、3カ月目に夫々 $12.3\mu\text{mol}$ と増加した。その中でも、とくに DCA の排泄量の増加が著明であった。

一方、ステロールの1日排泄量も術後4週目および3カ月目に各々対照の2.4倍、1.5倍と増加していた。

(5) 人体における回腸 bypass 術症例の術後の胆汁中脂質成分の変化

回腸 bypass 術後9カ月目の胆嚢胆汁中の各脂質組成比の変化を Fig. 7 に示す。Molar ratio でみると、

コレステロールは対照の $4.27 \pm 2.22\%$ (平均 $\pm$ 標準偏差) に対し 7.0% とやや高い値を示したが、総胆汁酸は対照の $70.5 \pm 5.1\%$ に対し 69.9% 、リン脂質は対照の $25.3 \pm 5.9\%$ に対し 23.1% と、対照と変らない値を示した。これを、Admirand and Small の三角座標²⁾ にプロットしてみると、手術例と、対照群との間に差はなく、いずれもミセル域内に存在していた (Fig. 5-B)。一方、胆汁酸組成の変化を各胆汁酸の総胆汁酸中に占める割合でみると、CA は対照の $45.5 \pm 13.2\%$

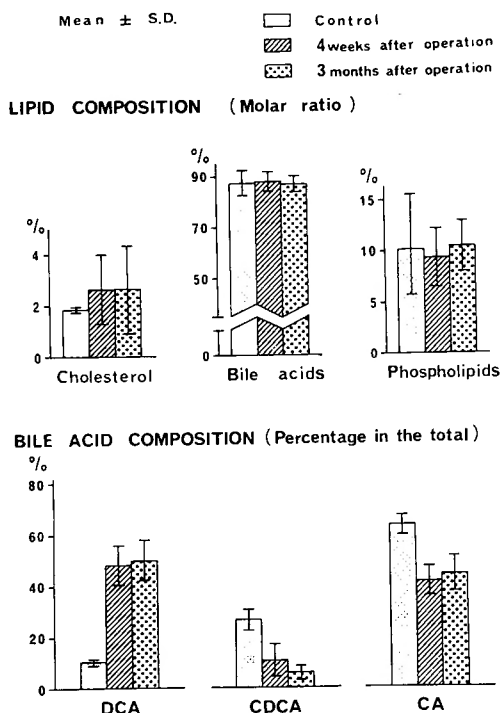


Fig. 6. Changes of biliary lipid composition in molar ratio, and bile acid composition in percentage distribution after partial ileal bypass operation in hamsters.

に対し15.2%, CDCA は対照の $36.0 \pm 8.0\%$ に対し11.4%, DCA は対照の $11.1 \pm 11.0\%$ に対し, 60.3%であり, CA, CDCA の低値, DCA の高値が特徴的であった. 本症例の胆汁脂質組成の変化は, ハムスターにおける Partial ileal bypass 術後の変化と極めてよく似ていた (Fig. 6, Fig. 7).

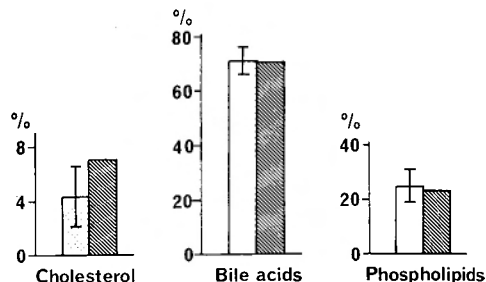
考 按

回腸切除術後や回腸炎の合併症として, 胆石発生が, 自然発生率(8~12%)より数倍も多い24.5~34%にみられることが注目されてきた⁴⁾¹⁰⁾²⁵⁾³⁰⁾³⁴⁾. 胆汁酸の主たる吸収部位である回腸²¹⁾³⁷⁾⁴⁸⁾⁵⁰⁾を欠損することにより胆汁酸の腸肝循環が破綻する結果として生じる胆汁脂質組成の変化が, その原因と考えられている. それは, 胆汁酸プールの減少²⁴⁾, 胆汁酸欠乏による胆汁中コレステロールの過飽和⁴⁾¹⁴⁾⁴¹⁾, グリシンおよびタウリン抱合型胆汁酸比(G/T比)の上昇¹⁾¹⁹⁾²⁵⁾

CASE: H. Y. 69 y.o. female

Nine months after ileal bypass operation

LIPID COMPOSITION (Molar ratio)



BILE ACID COMPOSITION (Percentage in the total)

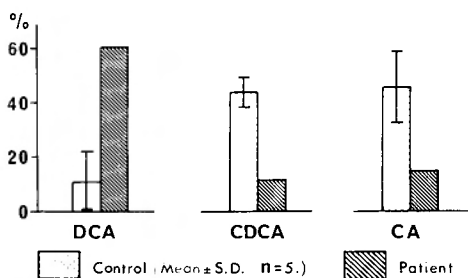


Fig. 7. Changes of biliary lipid composition in molar ratio, and bile acid composition in percentage distribution after ileal bypass operation in man.

³⁴⁾, 腸内細菌がつよく影響をうけて二次胆汁酸が増加すること²⁵⁾³⁴⁾⁴⁰⁾, などが考えられており, また罹病期間の長いものほど胆石の合併率が高いともいわれている⁴⁾²⁵⁾³⁴⁾. 発生した胆石の種類は, コレステロール胆石¹⁰⁾⁴⁵⁾の他にカルシウム含量の多い結石²⁵⁾⁴⁵⁾であったとの報告もあるが, この点に関する検索は充分にはなされていない. 回腸切除術後に発生する胆石の成因は, 自然発生の胆石の成因²⁹⁾⁵³⁾とは異なるものとの意見もある²⁵⁾.

他方, 小腸の遠位3分の1を迂回させる Partial ileal bypass 術が欧米では高コレステロール血症患者の外科治療法として施行されているが⁶⁾, この手術の意義は, 食物内容が回腸を通らないように迂回させることで, (1)胆汁酸の再吸収を減少させて肝に帰る胆汁酸を減少させ, コレステロールから胆汁酸への異化を促進させることによりコレステロールの減少を計ることと, (2)同時にコレステロールの吸収面積を減少させ

て直接コレステロールのプールの減少を計ることにある⁸⁾。その結果、血清コレステロール値を40%程度低下させる効果が持続的にもたらされるわけであるが、その効果は回腸切除術によるよりは Partial ileal bypass 術の方が勝っているという。しかしその理由は不明とされている⁸⁾⁹⁾。この場合にも回腸切除術後や回腸炎の場合と同様に、胆汁酸の腸肝循環の障害から⁷⁾、コレステロール胆石発生の可能性が大いに推測される⁸⁾。しかし、Buchwald⁸⁾によれば、本術式を施行した患者101例の最高10年間の経過観察中に、わずか1例のみに胆石(種類不明)を生じたに過ぎないとしている。この頻度は、胆石の自然発生率⁴⁾²⁵⁾³⁰⁾³⁴⁾(8~12%)よりもはるかに低い。しかも Partial ileal bypass 術後の胆汁脂質に関する臨床的、実験的検索は未だ充分に今日までのところなされていない⁸⁾⁹⁾⁴⁴⁾。そこで著者は果して Partial ileal bypass 術が胆石発生の素地を生むか否かを検討する目的で、イヌに Partial ileal bypass 術を施行し、胆汁脂質組成におよぼす影響を検討した。その結果は既報の如く³⁶⁾、術後、胆汁酸(とくに CA)の減少が著明で、胆汁酸+リン脂質/コレステロール比³³⁾が減少し、胆汁の Lithogenic index が高まったが、胆汁の脂質組成は Admirand and Small の三角座標²⁾で表わすとミセル域内にとどまり、実際に胆石発生は全くみられなかった。イヌは、胆嚢をもち、その胆汁酸組成はヒトに似てはいるが⁵⁸⁾、グリシン抱合型のそれをもたないこと²⁶⁾や、胆汁中のコレステロール値が低く³⁴⁾、コレステロール胆石の自然発生は極めて稀れであること⁴²⁾、さらに食餌性に実験的に肉眼的なコレステロール胆石形成をみるには至らない¹⁶⁾¹⁷⁾、などの点が考えられる。それに対して、ハムスターでは、①胆嚢をもち、②胆汁脂質の組成化がヒトに近く⁵⁾⁵⁸⁾、③グリシンおよびタウリン抱合型をもち胆汁組成もヒトによく似ており⁶⁸⁾、④実験的にも食餌性に容易にコレステロール胆石を発生し⁵²⁾、⑤腸内細菌叢もヒトのそれに近い²⁶⁾⁵¹⁾。

そこで今回はハムスターに Partial ileal bypass 術を施行し、術後のコレステロール胆石発生の有無、胆汁中脂質組成、胆汁酸の腸肝循環におよぼす影響などについて検討した。

恒常状態(Steady state)における胆汁酸の腸肝循環では、胆汁酸プールの約15~20%が糞便中に失われ、それに見合う量が肝で合成されてプールに加わり、胆汁酸プールが一定に保たれていると一般にいわれている²⁶⁾。今回のハムスターにおける成績では、Partial

ileal bypass 術後に、1日の胆汁酸の糞便中排泄量は術前に比べ 8.7 μ mol 増加した(Table 4)のに対して、Washout 法でしらべた肝における胆汁酸の合成量は、手術群で対照群よりも 8.5 μ mol 亢進していた(Table 3)ことより、胆汁酸プールは減少することなく、胆汁中への分泌量も変化せず(Table 3)、胆汁中の胆汁酸濃度も変わらないもの(Table 1)と考えられた。

胆汁中の胆汁酸組成比は、Partial ileal bypass 術後著明に変化した(Table 2)。Active transport site を有し、大部分の胆汁酸とくに CA を吸収する²¹⁾³⁷⁾⁴⁸⁾回腸を腸内容が迂回するために、CA 吸収が障害され、しかも肝での合成増加ではそれを代償しきれなかった結果、胆汁中の CA が減少したものと思われる。吻合部より口側の残存小腸の拡張や回盲弁の喪失は、腸内容の逆流を容易にし、腸内細菌の小腸内での増殖をもたらし²⁰⁾²²⁾、下痢がなかったことから、腸内容の腸内滞在時間は短縮されなかったと考えられ、これらのことから、吸収をまねがれた CA を DCA にかえ、さらに DCA の吸収を増加させた。再吸収で増加した DCA は胆汁酸プールに加わり、プールサイズの保持に役だったと思われる。その結果、胆汁中の DCA 比が著明に増加した。DCA に対する 7 α -水酸化酵素の活性は、ハムスターで存在するとの報告もあるが³⁵⁾、その量的なものは不明である。CDCA は CA に比べ上部小腸からもよく吸収されるが³⁾⁴³⁾⁴⁹⁾、腸内細菌の上行による影響で、吸収される前にリトコール酸になる可能性や、DCA が増加したために、その Feed back mechanism により DCA は CDCA 合成を抑制する可能性³⁹⁾などのため、胆汁中の CDCA 比が減少したものと考えられる。回腸切除術後に残存小腸の拡張と粘膜の絨毛の増生がみられることや¹¹⁾、残存小腸からの胆汁酸の再吸収能が増加することが⁴⁶⁾⁴⁷⁾⁵⁴⁾、ラットでしられているが、Partial ileal bypass 術後に、CDCA、CA の吸収の減少があっても、肝での合成亢進に加えて、DCA 再吸収増加によって、胆汁酸のプールサイズは減少せず、胆汁酸の分泌量も変化しなかったが、胆汁酸組成においては、DCA の増加と CDCA、CA の減少となって現われたものと思われる。

タウリンあるいはグリシン抱合型胆汁酸の組成の変化については、今回検索しえなかったけれども、Gänshirt らの方法¹⁸⁾による薄層クロマトグラフィーでしらべたハムスターの胆汁酸の分析の preliminary の

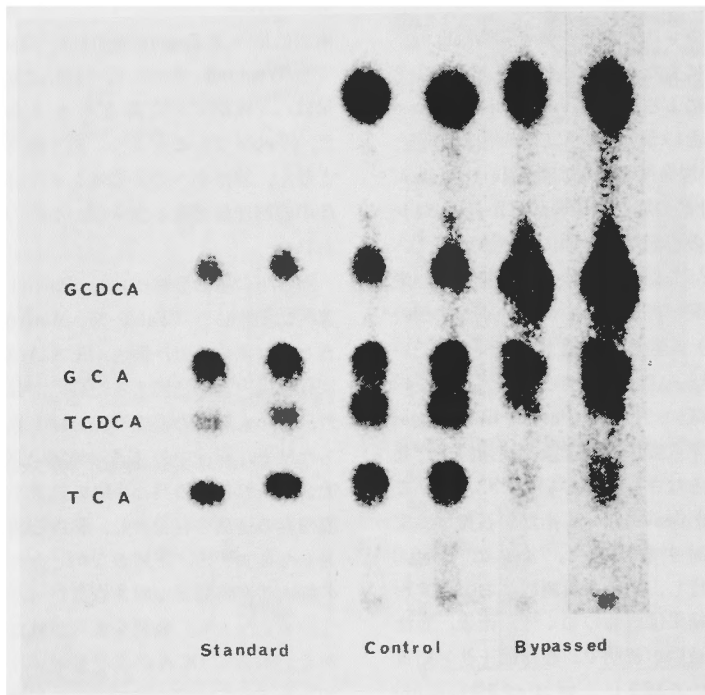


Fig. 8. Comparisons of thin layer chromatograms of biliary bile acids in hamsters from control group and partial ileal bypassed group by mean of Gänshirt's method¹⁸⁾. TCA : taurocholic acid, TCDCA : taurochenodeoxycholic acid, GCA : glycocholic acid, GCDCA : glycochenodeoxycholic acid.

成績の1部を Fig. 8 に示すと、Partial ileal bypass 術後4週目のハムスター胆汁では、タウロコール酸比が減少し、グリコジヒドロキシ胆汁酸比（本法ではDCAとCDCAを分けられない）が増加している。ガスクロマトグラフィーでしらべた今回の成績（Table 2）とあわせると、術後、タウロコール酸が減少し、グリコデオキシコール酸は増加し、G/T比がPartial ileal bypass 術後には上昇するものと考えられる。これはグリシン抱合体は上部小腸からも吸収される⁵⁰⁾のに反して、タウロコール酸の選択的な吸収部位である回腸²¹⁾⁵⁰⁾を迂回することによって生じるタウリンの吸収障害のためと想像される。

ステロールの糞便中への排泄が術後に増加したが、これは回腸迂回による吸収面積減少の結果と思われる。Partial ileal bypass 術後にラットでは、肝におけるコレステロールの合成が亢進するので⁵⁹⁾、ハムスターにおいても肝でそれが合成亢進をみ、胆汁中コレステロールの分泌は減少しなかったものと推察される。

リン脂質の分泌は、胆汁酸に依存するといわれてお

り²⁸⁾、今回の成績では、胆嚢胆汁中のリン脂質濃度は変らなかった。

以上の結果、ハムスターの胆嚢胆汁中の総胆汁酸、コレステロール、リン脂質の濃度および、各脂質の組成比（Molar ratio）には有意な変化はみられなかった（Table 1）。またコレステロール胆石の易形成性を示す胆汁酸+リン脂質/コレステロール比³³⁾も変化せず（Table 1）、胆汁中の脂質組成を Admirand and Small の三角座標²⁾にプロットしてみても手術群と対照群との間に差はみられず、いずれもミセル域内にとどまった（Fig 5-A）。また実際に、Partial ileal bypass 術を施行した全てのハムスターにコレステロール胆石の発生は全くみられなかった。

次に臨床例についても検討してみたが、小腸の遠位約3分の1のBypass 術後9カ月目の胆汁中各脂質の組成比（Molar ratio）は、年令のほぼ等しい対照群に比べて、コレステロール、総胆汁酸、リン脂質とも、ほぼ同じ値を示しており（Fig 7）、三角座標²⁾によって表わしてみても、対照群と差はなく、ミセル域内に

あった (Fig 5-B)。同時に施行した胆道造影にて胆石は認められなかった。胆汁酸組成をみると、各胆汁酸の総胆汁酸中に占める割合は、対照群に比べて CA, CDCA は低値を示し、DCA は高値を示していた。以上の胆汁中脂質組成および胆汁酸組成の変化は、ハムスターにおける Partial ileal bypass 術後の変化と極めてよく近似しているものといえる (Fig 6, Fig 7)。

Partial ileal bypass 術後の変化に対して、回腸切除術後の患者における胆汁脂質の変化については、Dowling¹⁴⁾ らは、Molar ratio で、コレステロールとリン脂質が増加して、胆汁酸は減少したと報告し、Abaurre¹⁾ らは、CA が減少し、DCA がやや増加し、CDCA には変化をみなかったとしている。また、G/T 比の上昇がみられたと報告している。また一方、Wise⁶⁰⁾ らによれば、肥満症患者に対して外科治療法として行う “35cm-15cm-intestinal bypass” 術後には、術後平均29.6か月間の追跡調査で 101 例中 9 例に胆石発生がみられ、その時の胆汁脂質の変化は、コレステロールと胆汁酸が減少し、G/T 比が上昇し、DCA が増加していたと報告しているが、著者の成績では、Partial ileal bypass 術後には、胆汁中胆汁酸の組成は大きく変化するものの、胆汁脂質組成には変化をみず、胆汁の Lithogenic index も変化しなかった。そして術後コレステロール胆石の発生をもみなかった。もし、回腸切除術後におけるのと同じように、Partial ileal bypass 術後に胆石を生じ得るとすれば、手術の他に何等か別の因子、例えば食餌性のような因子、が関与するのかもしれない。

結 語

Partial ileal bypass 術が胆石発生をさせるか否か、コレステロール胆石易形成性を高めるか否かを明らかにする目的で、ハムスターを用いて Partial ileal bypass 術を施行し、胆石発生、胆汁脂質組成の変化、胆汁酸の腸肝循環におよぼす影響について検討し、以下の結論を得た。

(1) 術後3か月まで追跡した25匹の Partial ileal bypass 術を施行したハムスターでは術後コレステロール胆石の発生を全くみなかった。

(2) 糞便中への胆汁酸とくに DCA の排泄、およびステロールとくにコレステロールの排泄が増加した。

(3) Washout 法で検索した限りでは胆汁酸の肝における合成は亢進したが、胆汁酸プール、胆汁中への総胆汁酸分泌、コレステロール分泌には有意な変化は

みられなかった。

(4) 胆汁中胆汁酸組成比では、DCA が増加し、CDCA, CA が減少した。

(5) 胆嚢胆汁中の総胆汁酸、コレステロール、リン脂質の各濃度に変化はなく、各脂質間の相対比 (Molar ratio) においても、有意な変化は認められなかった。

(6) コレステロール胆石形成の指標の1つである胆汁酸+リン脂質/コレステロール比は減少せず、Admirand and Small の三角座標にプロットしてみても、Partial ileal bypass 群と対照群との間に差はみられず、いずれもミセル域内にとどまっていた。これは Partial ileal bypass 術後の胆汁酸およびステロールの排泄増加に対する肝における合成亢進や DCA の再吸収増加による代償機転が働いたためと思われる。

(7) 1例の回腸 bypass 術後9か月目の臨床例では、胆石発生はみられず、胆汁中脂質組成についてみても、コレステロール、胆汁酸、リン脂質の相対比 (Molar ratio) で対照群との間に何等差が認められず、胆汁脂質組成は、ミセル域内にとどまっていた。また胆汁酸組成においても、CA, CDCA が減少し、DCA が増加していた。これら回腸 bypass 術後の胆汁脂質組成の変化は、ハムスターにおける Partial ileal bypass 術後の変化と極めて近似していた。

以上のハムスターにおける実験と臨床例の成績から Partial ileal bypass 術は、胆汁中胆汁酸組成には変化を与えたが、胆汁脂質組成には有意の変化を与えず、術後胆汁の Lithogenic index を高めるようなことはない。

本論文の要旨は、第18回 (伊勢, 1976) および第19回 (奈良, 1977) 日本消化器病学会秋季大会、および VI World Congress of Gastroenterology (Madrid, 1978) において発表した。

稿を終るにあたり、終始御指導頂き、且つ御校閲を頂いた恩師日笠頼則教授、並びに御指導頂いた室家大久博士、谷村弘博士、共同研究者石井恵三先生に深く感謝の意を表する。

文 献

- 1) Abaurre R, Stuart GG, et al : Fasting bile salt pool size and composition after ileal resection. *Gastroenterology* **57** : 679-688, 1969.
- 2) Admirand WH, Small DM : The physicochemical basis of cholesterol gallstone formation in man. *J Clin Invest* **47** : 1043-1052, 1968.
- 3) Angelin B, Einarsson K, et al : Evidence for the absorption of bile acids in the proximal

- small intestine of normo- and hyperlipidemic subjects. *Gut* **17** : 420-425, 1976.
- 4) Baker AL, Kaplan MM : Gallstone in inflammatory bowel disease. *Digestive Disease* **19** : 109-112, 1974.
 - 5) Behr WT, Casazza KK, et al : Effects of accumulated tissue cholesterol on bile acid metabolism in hypophysectomized rats and hamsters. *Atherosclerosis* **12** : 383-392, 1970.
 - 6) Buchwald H : A surgical operation to lower circulating cholesterol. *Circulation* **28** : 649, 1963.
 - 7) Buchwald H, Gebhard RL : Localization of bile salt absorption in vivo in the rabbit. *Ann Surg* **167** : 191-198, 1968.
 - 8) Buchwald H, Moore RB, et al : Surgical treatment of hypercholesterolemia. *Circulation* **45** : Suppl 1-37, 1974.
 - 9) Buchwald H, Varco RL : Partial ileal bypass for hyperlipidemia management past, present and future. In *Metabolic surgery*, edited by Buchwald H, Varco RL, New York, San Francisco, London, Crune and Stratton Press, 1978, p 85.
 - 10) Cohen S, Kaplan M : Liver disease and gallstone in regional enteritis. *Gastroenterology* **60** : 237-245, 1971.
 - 11) Dowling RH, Booth CC : Structural and functional changes following small intestinal resection in the rat. *Clin Sci* **32** : 139-149, 1967.
 - 12) Dowling RH, Mack E, et al : Effects of controlled interruption of the enterohepatic circulation of bile salts by biliary diversion and by ileal resection on bile salt secretion, synthesis, and pool size in rhesus monkey. *J Clin Invest* **49** : 232-242, 1970.
 - 13) Dowling RH, Mack E, et al : Biliary lipid secretion and bile composition after acute and chronic interruption of the enterohepatic circulation in the rhesus monkey. IV. Primate biliary physiology. *J Clin Invest* **50** : 1917-1926, 1971.
 - 14) Dowling RH, Bell GD, et al : Lithogenic bile in patients with ileal dysfunction. *Gut* **13** : 415-420, 1972.
 - 15) Englert E Jr, Harman CG, et al : Gallstones induced by normal foodstuffs in dogs. *Nature* **224** : 280-281, 1969.
 - 16) Englert E Jr, Harman CG, et al : Studies on the pathogenesis of diet induced dog gallstones. *Digestive Disease* **22** : 305-314, 1977.
 - 17) Eriksson S : Biliary excretion of bile acids and cholesterol in bile fistula rats. *Proc Sci Exp Biol Med* **94** : 578-582, 1957.
 - 18) Gänshirt H, Koss FW, et al : Untersuchung zur quantitativen Auswertung der Dünnschichtchromatographie. 2. Mitteilung : Trennung und Bestimmung von Gallensäuren. *Arzneimittelforsch* **10** : 943-947, 1960.
 - 19) Garbutt JT, Heaton KW, et al : Increased ratio of glycine- to taurine- conjugated bile salts in patients with ileal disorders. *Gastroenterology* **56** : 711-720, 1969.
 - 20) Gazet JC, Kopp J : The surgical significance of the ileocecal junction. *Surgery* **56** : 565-573, 1964.
 - 21) Glasser JE, Weiner IM, et al : Comparative physiology of intestinal taurocholate transport. *Ame J Physiol* **208** : 359-362, 1965.
 - 22) Griffen WO, Richardson JD, et al : Prevention of small bowel contamination by ileocecal valve. *Gastroenterology* **58** : 956, 1970.
 - 23) Gomori G : A modification of the colorimetric phosphorus determination for use with the photoelectric colorimeter. *J Lab Clin Med* **27** : 955-960, 1942.
 - 24) Heaton KW, Austed WI, et al : Enterohepatic circulation of C¹⁴-labelled bile salts in disorders of the distal small bowel. *Gastroenterology* **55** : 5-16, 1968.
 - 25) Heaton KW, Read AE : Gallstones in patients with disorders of the terminal ileum and disturbed bile salts metabolism. *Bri Med J* **3** : 494-496, 1969.
 - 26) Heaton KW : Bile salts in health and disease. Edinburgh and London, Longman Group Ltd, 1972.
 - 27) Henly AA : The determination of serum cholesterol. *Analyst* **82** : 826-827, 1957.
 - 28) Henry O, Wheeler MD : Biliary excretion of bile acids, lecithine, and cholesterol in hamsters with gallstones. *Gastroenterology* **65** : 92-103, 1973.
 - 29) Hikasa Y, Matsuda S, et al : Initiating factors of gallstones, especially cholesterol stones. *Arch Jap Chir* **33** : 601-616, 1965.
 - 30) Hill GL, Main WSJ, et al : Gallstones after ileostomy and ileal resection. *Gut* **16** : 932-936, 1975.
 - 31) Holzbach RT, Marsh M, et al : Cholesterol solubility in man, evidence that supersaturated bile is frequent in healthy man. *J Clin Invest* **52** : 1476-1479, 1973.
 - 32) 堀 太郎, 杉田陸海 : 脂質の抽出法, 生化学実験講座 3. 脂質の化学, 日本生化学会編, 東京, 東京化学同人, 1974.
 - 33) Isaksson B : On the dissolving power of lecithin and bile salts for cholesterol in human bladder

- bile. *Acta Soc Med Upsalien* **59** : 296-306, 1954.
- 34) Kelly TR, Klein RL : Alteration in gallstone solubility following distal ileal resection. *Arch Surg* **105** : 352-355, 1976.
- 35) Kempf V, van der Linden W : On the bile acid composition of hamsters and mice fed an atherogenic diet. *Int J Clin Pharmacol* **4** : 183-186, 1971.
- 36) 小林展章 : 回腸バイパス術後の胆石発生に関する実験的研究. 第1編, イヌの胆汁脂質におよぼす回腸バイパス術の影響. *日外宝* **48** : 698-711, 1979.
- 37) Lack L, Weiner IM : Intestinal bile salt transport : structure-activity relationships and other properties. *Am J Physiol* **210** : 1142-1152, 1966.
- 38) Lindstedt S : The turnover of cholic acid in man. *Acta physiol Scand* **40** : 1-9, 1957.
- 39) Low-Beer TS, Pomare E, et al : Control of bile salt synthesis. *Nature* **238** : 215-216, 1972.
- 40) Low-Beer TS, Pomare EW : Can colonic bacterial metabolites predispose to cholesterol gallstone ? *Bri Med J* **1** : 438-440, 1975.
- 41) Marks JW, Conley DR, et al : Gallstone prevalence and biliary lipid composition in inflammatory bowel disease. *Digestive Disease* **22** : 1097-1100, 1977.
- 42) Martensson K : Studies on the etiology of gallstones ; A subtilislike bacilli group as an etiologic factor. *Acta Chir Scand* **84** : Suppl 1-227, 1941.
- 43) McLeod MB, Wiggins HS : Bile-salts in small intestinal contents after ileal resection and in other malabsorption syndromes. *Lancet* **1** : 873-876, 1968.
- 44) Miettinen TA : Clinical implications of bile acids metabolism in man. *In* The bile acids, chemistry, physiology and metabolism. Vol. 2, edited by Nair PP, Kritchevsky D, New-York London, Plenum Press, 1973, p 191.
- 45) Pellerin D, Bertin P, et al : Cholelithiasis and ileal pathology in childhood. *J Pediatr Surg* **10** : 35-41, 1975.
- 46) Perry PM, White J, et al : Bile-acid absorption by jejunum and colon after ileal resection in the rat. *Bri J Surg* **59** : 310, 1972.
- 47) Perry PM, White J, et al : Bile salt absorption following small bowel resection in the rat. *Gut* **13** : 845, 1972.
- 48) Playoust MR, Lack L, et al : Effect of intestinal resection on bile salt absorption in dogs. *Am J Physiol* **208** : 363-369, 1965.
- 49) Schalm SW, LaRusso NF, et al : Diurnal serum levels of primary conjugated bile acids, assessment by specific radioimmunoassays for conjugates of cholic and chenodeoxycholic acid. *Gut* **19** : 1006-1014, 1978.
- 50) Schiff ER, Small NC, et al : Characterization of the kinetics of the passive and active transport mechanisms for bile acid absorption in the small intestine and colon of the rat. *J Clin Invest* **51** : 1351-1362, 1972.
- 51) 田島嘉雄 : 実験動物学, 総論. 朝倉書店, 東京, 1970.
- 52) Tanimura H : Experimental studies on the etiology of cholelithiasis. *Arch Jap Chir* **34** : 1160-1180, 1965.
- 53) Tanimura H, Shioda R, et al : Initiating factors in formation of cholesterol gallstones. *Arch Jap chir* **47** : 427-445, 1978.
- 54) Tilson MD, Boyer JL, et al : Induction of active bile salt transport in jejunal remnants after ileal resection. *Surg Forum* **23** : 359-360, 1972.
- 55) 内田清久, 三宅有 : 去勢ラットの血中脂質に及ぼす諸種ステロイド化合物の影響. 塩野義研究所年報, 第11号, 119-132, 1961.
- 56) Uchida K, Nomura Y, et al : Effects of estradiol, dietary cholesterol and 1-thyroxine on biliary bile acid composition and secretory rate, and on plasma, liver and bile cholesterol level in rats. *Endocrinol Jap* **17** : 107-121, 1970.
- 57) Uchida K, Nomura Y, et al : Effect of dietary cholesterol on cholesterol and bile acid metabolism in rats. *Jap J Pharmacol* **27** : 193-204, 1977.
- 58) 内田清久, 門脇真澄 : 胆汁と胆汁酸の比較生化学, 代謝. **14** : 増刊号 199-210, 1977.
- 59) 内田清久, 小林展章, 他 (未発表).
- 60) Wise L, Stein T : The effect of jejunoileal bypass on bile composition and formation of biliary calculi. *Ann Surg* **187** : 57-62, 1978.
- 61) 吉川春寿 : 臨床生化学 (I). 実験編, 協同医書出版社, 東京, 1955.
- 62) Zak B : Simple rapid microtechnic for serum total cholesterol. *Am J Clin Path.* **27** : 583-588, 1957.