

# 胆石中に含まれる微量元素の X線マイクロアナライザーによる分析的研究

神鋼病院外科 (院長: 平出 典博士)

端 野 博 康, 杉 田 太 一

京都大学医学部外科学教室第2講座 (主任: 日笠頼則教授)

谷 村 弘, 竹 中 正 文, 日 笠 頼 則

(原稿受付: 昭和49年11月12日)

## Analysis by X-ray Microanalyser of Trace Metal Contents of Gallstones

by

HIROYASU HASHINO and TAICHI SUGITA

Department of Surgery, Shinko Hospital, (Director: Dr. Sadamu Hiraide)

HIROSHI TANIMURA, MASAFUMI TAKENAKA, and YORINORI HIKASA

The 2nd Department of Surgery, Kyoto University, School of Medicine.

(Director: Prof. Dr. YORINORI HIKASA)

In twelve gallstones obtained operatively from Japanese patients, nine metal elements — Na, K, P, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, and Zn — were analyzed by electron probe X-ray microanalyser with electron scanning microscope, atomic absorption spectrometer and X-ray diffraction spectrography. The following results were obtained:

1) Every trace metal distributed uniformly, but was found very rarely as a flat curve in linear analysis from the center to the surface of pure cholesterol stones. No well-defined nuclei were observed. As a result, it may be presumed for pure cholesterol stones to be produced by a sudden change of cholesterol holding capacity in bile.

2) The combination of all elements—Ca-Na-Cu-Mg-Mn-P-K-Fe-Zn—was observed commonly and at high density in broad areas of black pigmented stones. The characteristic findings of pure pigmented stones, were that Ca was highly contained in all areas, sometimes 50 or 60% in the surface, and that Mn and Cu were observed at higher level and more widely than the other stones.

3) Maximum content of Ca in calcium bilirubinate stones was about 20%. It was higher than in cholesterol stones but lower than in pure pigmented stones. The coexistence of Ca-Na-Cu was generally observed, and Ca content increased from the center toward the surface. There was a close relationship between dotted distribution of Ca and macroscopic aspects of ring seams of calcium bilirubinate stones. However, the distribution and combination of each metal were lied sporadically compared with

Key words: X-ray microanalysis, trace metals, human gallstones.

Present address: Department of Surgery, Shinko Hospital, Fukiai-ku, Kobe, Japan. 〒651

- pure pigmented stones.
- 4) Metal elements in mixed stones were observed irregularly, and sometimes Ca existed as calcium phosphate.
- 5) The combined stones showed uniformity of metal contents in the center with white-gray cholesterol crystal arrangements, and a special feature as calcium bilirubinate in the dark green surface.

I 緒 言

胆石はコレステロール、胆汁色素、胆汁酸、蛋白質、金属成分等を含有し、その有機成分については19世紀頃から詳細な研究が数多くなされてきた。他方 Müller<sup>1)</sup> は Ca, Mg, Na, K, P, Al, Mn, Cu, B, Ni, Ti, Cr, Fe, V, Mo, Hg, Pb, Si 等の金属元素を胆石中に検出し、更に Schönheimer<sup>2)</sup> は Cu, Mn, Zn, Fe が人胆石中では他臓器に比べて、遙かに多量に含まれているとした。

本邦人の胆石についても滝野<sup>3)</sup>は23種、湯田<sup>4)</sup>は18種、豊田<sup>5)</sup>は17種、太田<sup>6)</sup>は15種の金属成分を夫々検出し、特に Ca, Cu, Zn, Mn, Fe は胆石生成に何等かの役割を果しているのではないかと重視されてきた<sup>7)</sup>。

併し従来の化学的分析法、X線回折による元素分析法<sup>8)9)</sup>、更には組織化学的検出方法<sup>10)</sup>では胆石中に含まれる微量の金属元素を精密に而も部位別に定量し、その分布状態を知することは困難であった。又、赤外線吸収スペクトル分析法<sup>11)12)</sup>は有機物の存在を知り、そ

の同定を行なうに当っては有効な手段ではあるが、微量の無機物を分析するには不適である。

近年に至り開発されたX線マイクロアナライザー (electron probe X-ray microanalyser, 略して EPMA) は極めて細く絞った電子線束 (electron probe) を光学顕微鏡又は電子走査像の助けによって、目的とする試料の表面に照射し、その部分から放射される特性 X 線の波長と強度とを X 線分光器で測定し、試料の表面の数  $\mu^3$  の範囲内に存在する元素を定性又は定量分析し得る装置である<sup>13)</sup>。而も本装置には顕微鏡と同様の機能が組込まれているため、如何様な部分を測定しているかも同時に知ることが出来る。従って試料を化学分析の際のように破壊したり、溶解したりする必要はなく、非破壊的に分析し得るという利点がある。簡単にいえば、走査電子顕微鏡や光学顕微鏡の機能に X 線分光装置を組込んだものと見なし得る。そして点分析、線分析、面分析が可能で、例えば線分析に際しては試料の表面に直線的に電子線を移動せしめながら照射し、而もその際に予め特定の元素の特性 X 線の波長にあわせておけば、その元素がその直線上のどの部

表1 胆石定性分光分析

|                  |            | Ca | Mg | Fe | Cu | Si | Bi | Al | Sn | Mo | Na | Zn |
|------------------|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 純<br>コレステロール石    | 1 (N. O.)  | +  | ±  | Tr | Tr | Tr | —  | —  | —  | —  | ±  | —  |
|                  | 2 (H. O.)  | —  | ±  | Tr | Tr | Tr | Tr | —  | —  | —  | ±  | —  |
|                  | 3 (K. K.)  | —  | ±  | Tr | Tr | Tr | —  | —  | —  | —  | ±  | —  |
| 混<br>成<br>石      | 4 (Y. N.)  | 卅  | 卅  | ±  | ±  | Tr | —  | —  | —  | —  | +  | Tr |
|                  | 5 (U. Y.)  | 卅  | +  | ±  | ±  | Tr | —  | Tr | —  | —  | ±  | —  |
| 混<br>合<br>石      | 6 (F. N.)  | 卅  | ±  | ±  | ±  | Tr | —  | —  | —  | —  | ±  | —  |
|                  | 7 (S. I.)  | 卅  | 卅  | +  | +  | Tr | —  | Tr | —  | Tr | +  | Tr |
| ビリルビン石灰石         | 8 (T. S.)  | 卅  | 卅  | +  | +  | Tr | Tr | Tr | —  | Tr | +  | Tr |
|                  | 9 (T. Y.)  | 卅  | 卅  | +  | +  | Tr | —  | —  | —  | —  | +  | ±  |
| 純<br>色<br>素<br>石 | 10 (S. K.) | 卅  | 卅  | +  | 卅  | Tr | Tr | Tr | Tr | —  | 卅  | Tr |
|                  | 11 (M. O.) | 卅  | 卅  | +  | +  | Tr | Tr | Tr | —  | —  | +  | Tr |
|                  | 12 (K. I.) | 卅  | 卅  | +  | 卅  | Tr | Tr | —  | —  | —  | +  | ±  |



表3 X線マイクロアナライザー (EPMA) による分析

|                | 胆 石<br>番 号 | 分 析<br>距 離     | Ca           |              | Mg                    |               | Fe                   |                |
|----------------|------------|----------------|--------------|--------------|-----------------------|---------------|----------------------|----------------|
|                |            |                | 平均量          | 最高量          | 平均量                   | 最高量           | 平均量                  | 最高量            |
| 純コレステロール石      | 1(N. O.)   | 内→表<br>約9.0mm  | 中心層<br>0.2%  | 中心層<br>1.0%  | 中心層<br>0.061%         | 中間層<br>0.412% | 全体的に<br>みると<br>殆んど0% | 中間層<br>0.05%   |
|                | 2(H. O.)   | 内→表<br>約5.8mm  | 全体的<br>0.04% | 表 層<br>1.0%  | 表 層<br>0.02%          | 表 層<br>0.132% | 全体的に<br>みると<br>0%に近い | 表 層<br>1.0%    |
|                | 3(K. K.)   | 内→表<br>約8.0mm  | 中心層<br>0.08% | 中心層<br>0.68% | 表 層,<br>中心層<br>0.056% | 中間層<br>0.974% | 全体的に<br>みると<br>0%に近い | 中間層<br>1.36%   |
| 混 成 石          | 4(Y. N.)   | 内→表<br>約11.5mm | 中間層<br>0.4%  | 表 層<br>78.5% | 表 層<br>0.143%         | 表 層<br>0.492% | 全体的に<br>みると<br>0%に近い | 中間層<br>1.28%   |
|                | 5(U. Y.)   | 内→表<br>約5.5mm  | 中心層<br>0.53% | 中心層<br>1.6%  | 中心層<br>0.336%         | 中心層<br>0.806% | 全体的に<br>みると<br>0.03% | 中心層<br>0.53%   |
| 混 合 石          | 6(F. N.)   | 内→表<br>約6.1mm  | 中心層<br>0.4%  | 中心層<br>1.6%  | 中心層<br>0.112%         | 中間層<br>1.120% | 全体的に<br>みると<br>0%に近い | 中心層<br>2.0%    |
|                | 7(S. I.)   | 全 長<br>約4.0mm  | 全体的<br>25.4% | 中心層<br>37.0% | 中間層<br>0.616%         | 中間層<br>1.568% | 全体的に<br>みると<br>0.03% | 表 層<br>1.14%   |
| ビリルビン<br>石 灰 石 | 8(T. S.)   | 内→表<br>約8.8mm  | 中間層<br>7.0%  | 表 層<br>23.2% | 表 層<br>0.168%         | 中間層<br>1.120% | 全体的に<br>みると<br>0.02% | 中心層<br>0.0625% |
|                | 9(T. Y.)   | 内→表<br>約5.3mm  | 表 層<br>16.0% | 表 層<br>19.0% | 中心層<br>0.224%         | 中心層<br>0.784% | 全体的に<br>みると<br>0.05% | 中心層<br>1.10%   |
| 純 色 素 石        | 10(S. K.)  | 全 長<br>5.2mm   | 表 層<br>11.6% | 表 層<br>58.0% | 表 層<br>0.38%          | 表 層<br>0.714% | 全体的に<br>みると<br>0.2%  | 中間層<br>1.29%   |
|                | 11(M. O.)  | 全 長<br>4.2mm   | 表 層<br>46.2% | 表 層<br>51.5% | 表 層<br>0.15%          | 中間層<br>0.320% | 全体的に<br>みると<br>0.08% | 中間層<br>0.268%  |
|                | 12(K. I.)  | 全 長<br>約3.9mm  | 表 層<br>43.4% | 表 層<br>48.0% | 表 層<br>0.297%         | 表 層<br>0.559% | 全体的に<br>みると<br>0.05% | 表 層<br>0.30%   |

K, Ca, Mn, Fe, Cu の定量分析に供した。なおその際にはアセチレンガスと亜酸化窒素ガスを使用した。

等分に分割した胆石片の1個はエポキシ樹脂に包埋し、試料表面をエメリー紙で粗研磨し、更に羽布研磨を加えた。その割面を4〜8倍に拡大し、光学顕微鏡的観察をまず行ない、しかる後に更にアルミウム蒸着を施行した。

X線マイクロアナライザーとしては島津製作所製 EMX-SM 型を用い、測定条件としては、加速電圧は20 KV、試料電流は平均0.07μAとし、その分析にあ

たっては胆石の中心から表面に向って（小結石では表面から中心を経て、表面まで全層）、1分間48〜50μの速度で試料を送り、線分析した。その記録に際しては3チャンネルのX線分光器を用いてCa-Na-Cu, Ca-Mg-Fe, Mg-P-Mn, Mg-K-Znの組合せで夫々分析、記録した。なお胆石の線分析は各顕微鏡写真に記録した線上に沿って行なった。（第1図）

標準試料としては99%以上の純元素（Mg, P, Fe, Mn, Cu, Zn）又はその化合物（NaF, KBrO<sub>3</sub>, Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>）を夫々使用した。

| Cu           |           | Na        |           | Zn           |            | Mn           |            | K            |            | P          |            |
|--------------|-----------|-----------|-----------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|------------|------------|
| 平均量          | 最高量       | 平均量       | 最高量       | 平均量          | 最高量        | 平均量          | 最高量        | 平均量          | 最高量        | 平均量        | 最高量        |
| 全体的にみると殆んど0% | 中間層 0.1%  | 全体的 0.08% | 表層 1.50%  | 表層 0.015%    | 中心層 1.394% | 全体的 0.007%   | 表層 0.764%  | 中心層 0.013%   | 中心層 0.472% | 中間層 0.013% | 中心層 0.228% |
| 全体的にみると0%に近い | 中間層 0.1%  | 全体的 0.16% | 表層 1.00%  | 全体として 0.015% | 中間層 1.23%  | 全体として 0.008% | 表層 0.428%  | 中間層 0.06%    | 表層 1.20%   | 表層 0.040%  | 表層 0.65%   |
| 全体的にみると0%に近い | 表層 0.67%  | 中心層 0.23% | 中心層 0.87% | 全体的 0.0152%  | 表層 0.076%  | 中心層 0.031%   | 表層 0.078%  | 中心層 0.027%   | 表層 0.298%  | 中心層 0.124% | 中心層 0.443% |
| 表層 0.12%     | 表層 0.21%  | 中間層 0.26% | 中間層 1.07% | 表層 0.164%    | 表層 0.246%  | 表層 0.072%    | 表層 0.546%  | 表層 0.15%     | 中心層 1.20%  | 表層 0.191%  | 表層 0.588%  |
| 全体的にみると0%に近い | 表層 0.3%   | 表層 0.16%  | 表層 1.00%  | 表層 0.164%    | 表層 1.558%  | 表層 0.060%    | 中間層 0.85%  | 表層 0.06%     | 表層 1.140%  | 表層 0.056%  | 表層 0.770%  |
| 全体的にみると0%に近い | 中間層 0.12% | 中心層 0.13% | 中間層 1.60% | 全体的 0.016%   | 中間層 0.164% | 中心層 0.175%   | 中心層 0.770% | 中心層 0.125%   | 中間層 0.751% | 中心層 0.175% | 中心層 0.770% |
| 全体的 0.15%    | 中心層 0.19% | 全体的 0.38% | 表層 1.00%  | 表層 0.230%    | 中間層 0.900% | 中心層 0.015%   | 表層 0.021%  | 中間層 0.17%    | 中間層 0.340% | 表層 7.85%   | 表層 8.60%   |
| 中間層 2.1%     | 中心層 5.0%  | 全体的 0.74% | 中心層 2.24% | 全体的 0.066%   | 表層 1.6%    | 全体的 0.03%    | 表層 0.35%   | 全体的 0.108%   | 表層 0.138%  | 表層 0.042%  | 表層 0.196%  |
| 全体的 0.15%    | 中心層 0.38% | 全体的 0.95% | 中心層 1.50% | 全体的 0.0658%  | 中心層 0.138% | 全体的にみると0%に近い | 中間層 0.07%  | 表層・中間層 0.30% | 表層 0.60%   | 表層 0.184%  | 表層 1.70%   |
| 表層 2.48%     | 表層 5.36%  | 表層 1.25%  | 表層 3.88%  | 中間層 0.0925%  | 表層 1.0175% | 中間層 0.273%   | 中間層 1.824% | 中間層 0.141%   | 中間層 0.461% | 中間層 0.260% | 中間層 0.650% |
| 表層 0.38%     | 表層 0.52%  | 中心層 0.42% | 中心層 0.85% | 表層 0.196%    | 表層 0.328%  | 中間層 1.064%   | 中間層 1.976% | 中心層 0.150%   | 中心層 0.510% | 中間層 0.575% | 中間層 1.520% |
| 表層 2.08%     | 表層 5.0%   | 表層 0.22%  | 表層 7.84%  | 表層 0.185%    | 表層 0.37%   | 表層 0.425%    | 表層 0.729%  | 表層 0.112%    | 中間層 0.587% | 表層 0.227%  | 表層 0.487%  |

重量濃度は既知の標準試料のX線強度と各胆石より検出されたX線強度とを相互に対比しながら算出した。従ってこの値は定量補正を行っていないため絶対値を示すものとは言い難い。

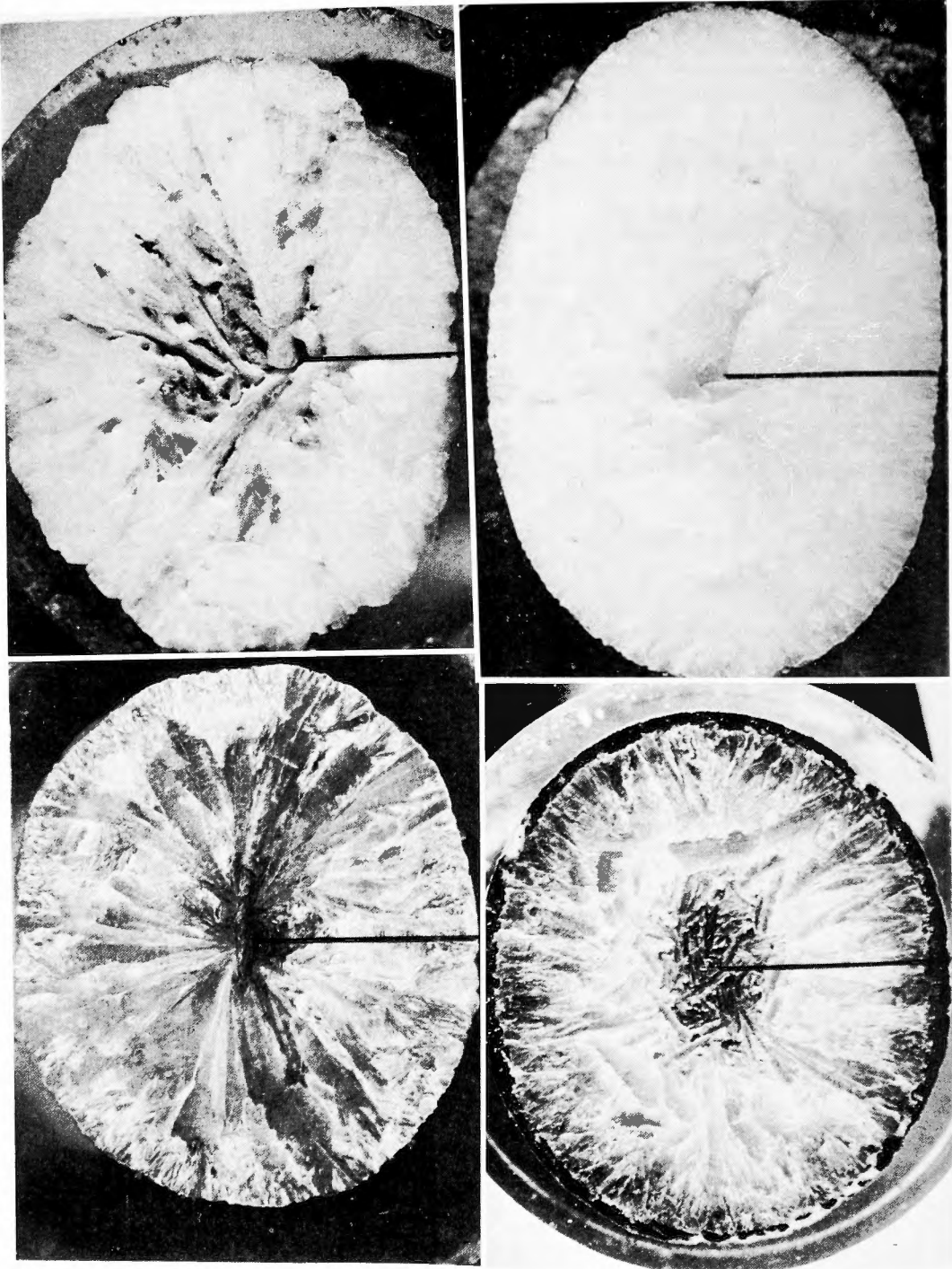
### Ⅲ 実験成績

#### ① 予備実験成績

まず定性分光分析を行ない、その結果 Ca, Mg, Fe, Cu, Si, Bi, Al, Sn, Mo, Na, Zn, Mn, K, Pb, Sr, P, Ba 等17種の金属元素を検出し得た(第1表)。一般に

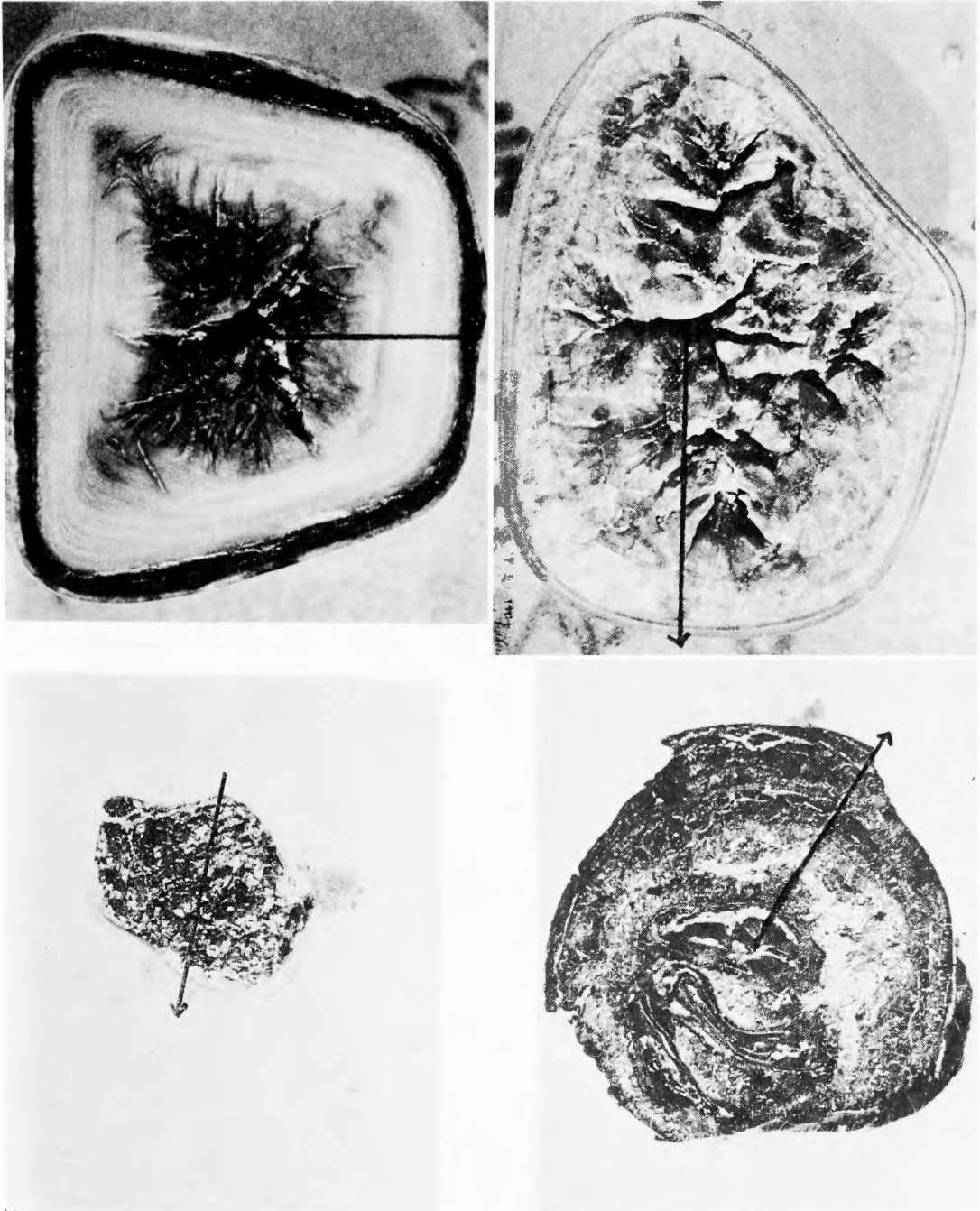
コレステロール系胆石(特に純コレステロール石)はビリルビン系胆石(特に純色素石)に比べて金属元素に乏しい。

原子吸光分析法による定量分析の結果も亦全く同様で(第2表)、コレステロール系胆石(特に純コレステロール石)では金属元素が質的にも量的にも少なく、ビリルビン系胆石(特に純色素石)では金属元素が前者に比べて多種にわたり、而も多量に保有されている。即ちこの点では従来の諸家の報告<sup>3)4)6)</sup>と大差を認めない。



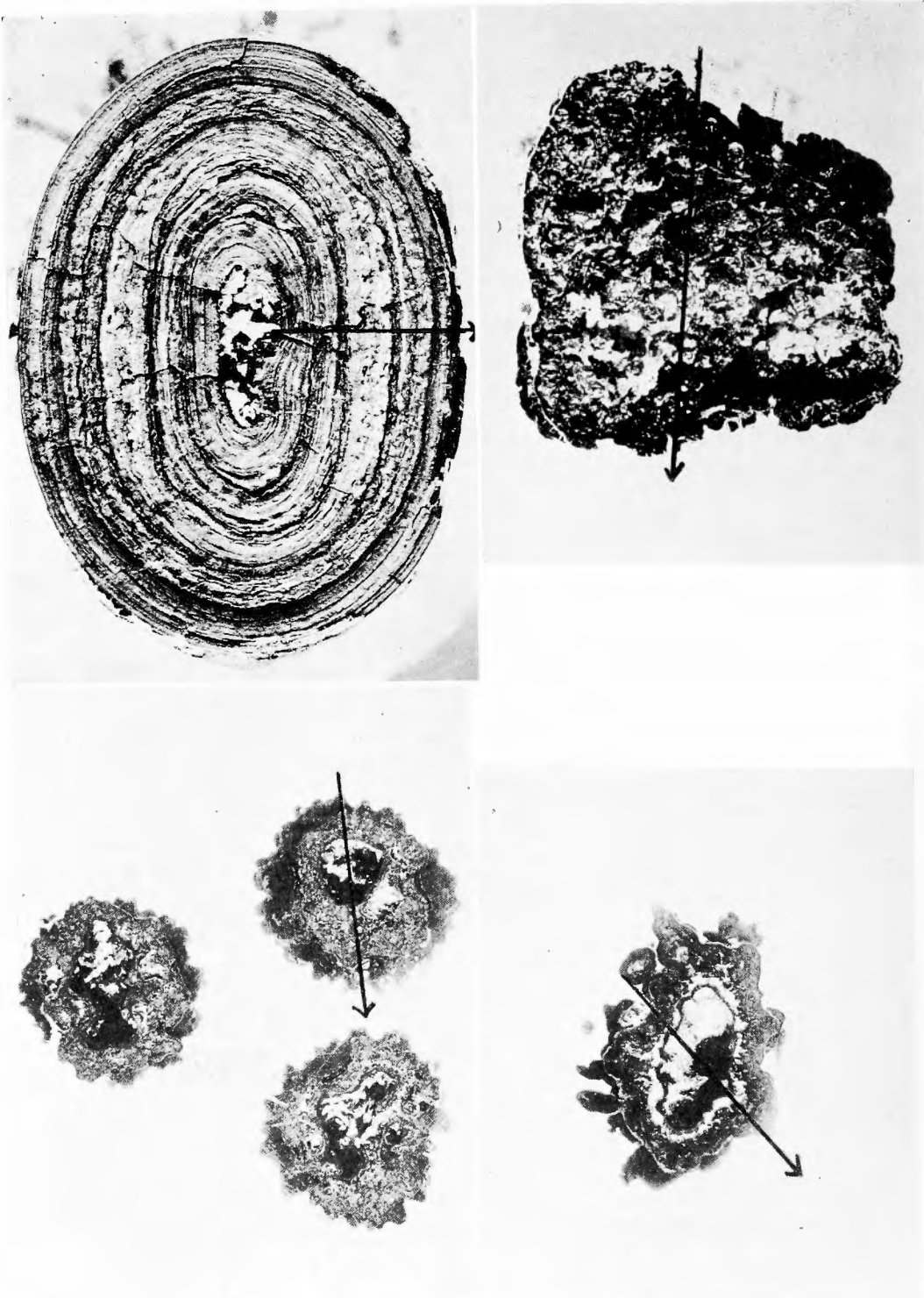
第1圖 (1) ①左上 (×4.90) N.O.  
③左下 (×5.42) K.K.

②右上 (× 6.60) H.O.  
④右下 (× 4.19) Y.N.

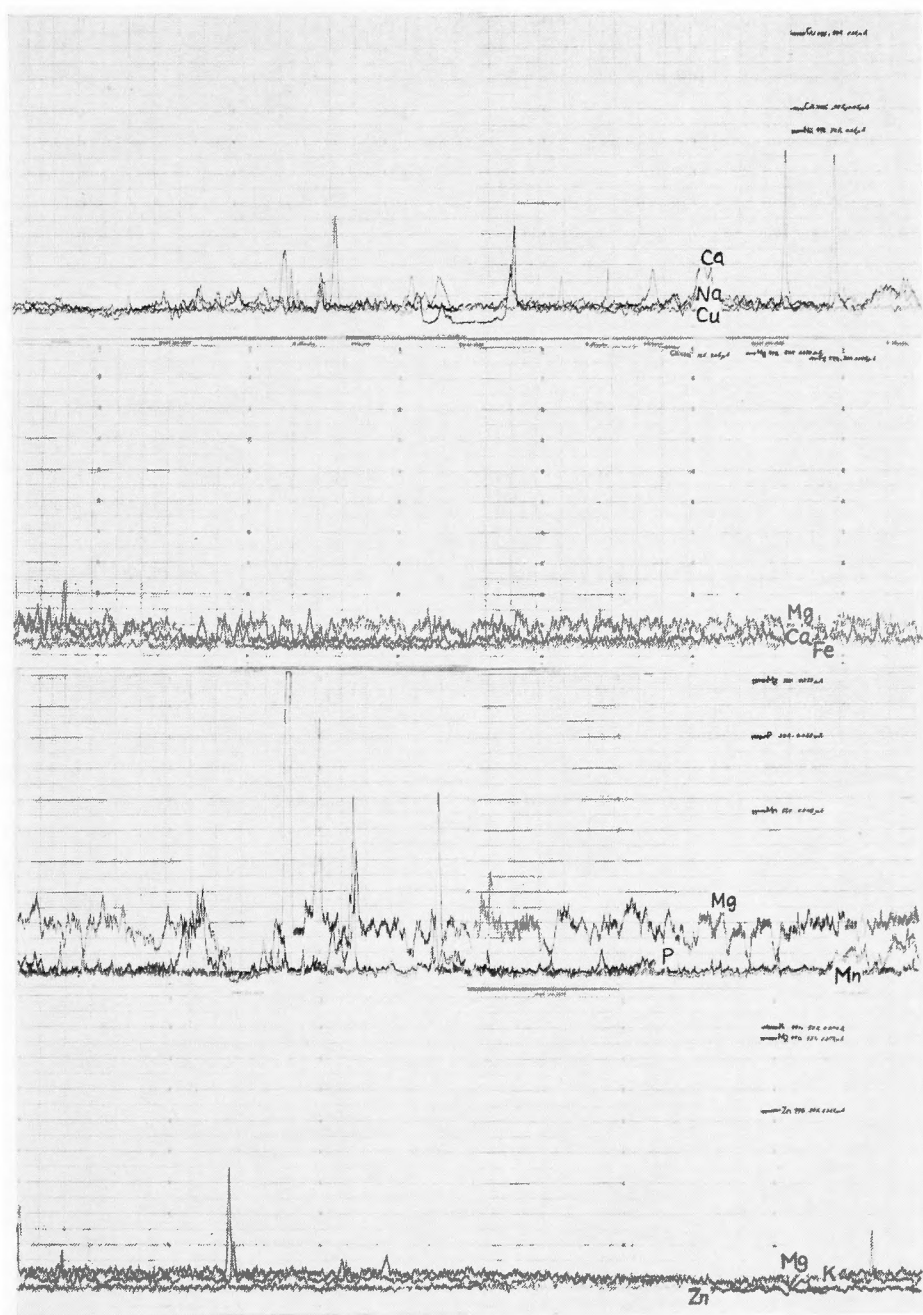


第1図 (2)

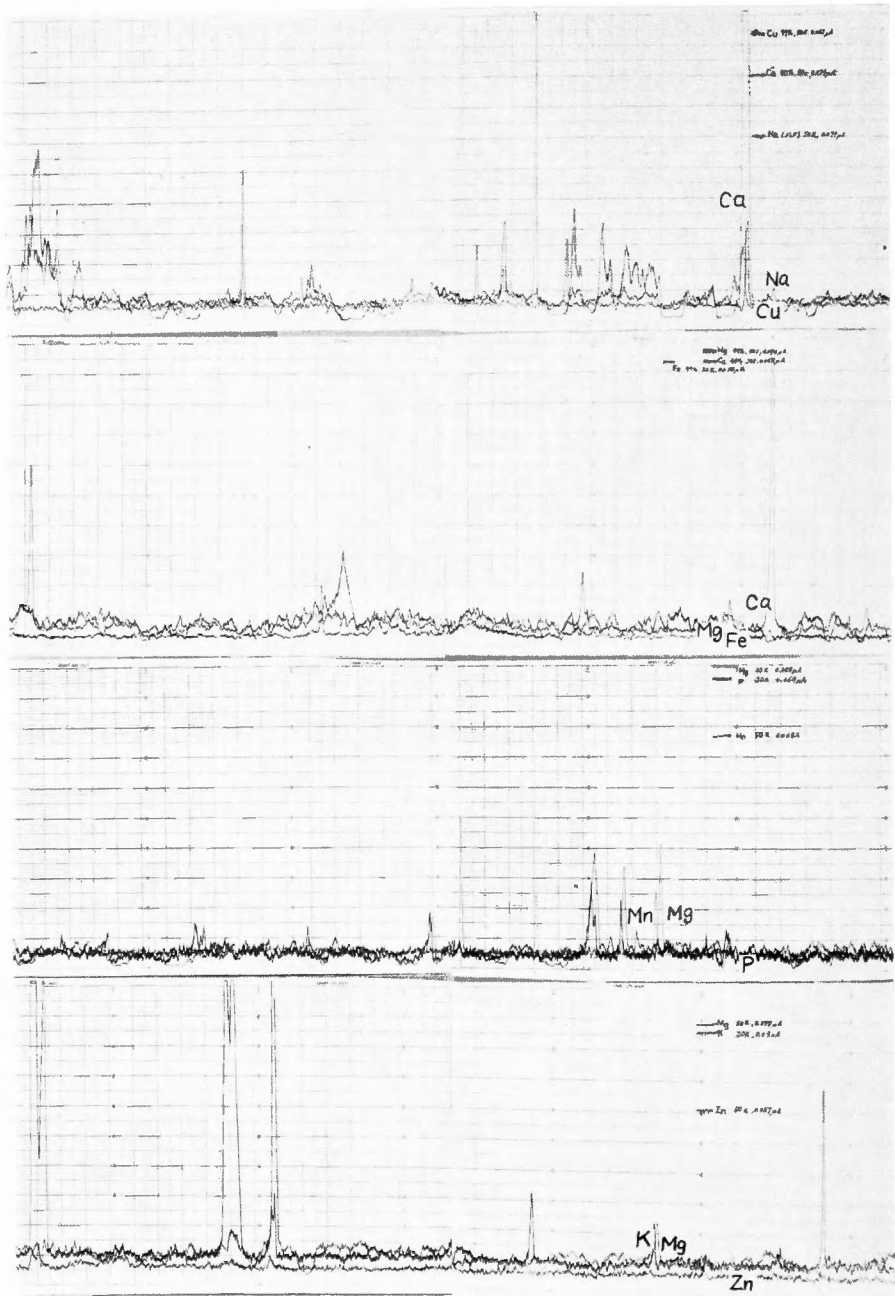
⑤左上 ( $\times 7.80$ ) U. Y. ⑥右上 ( $\times 10.30$ ) F. N. ⑦左下 ( $\times 7.71$ ) S. I. ⑧右下 ( $\times 8.50$ ) T. S.



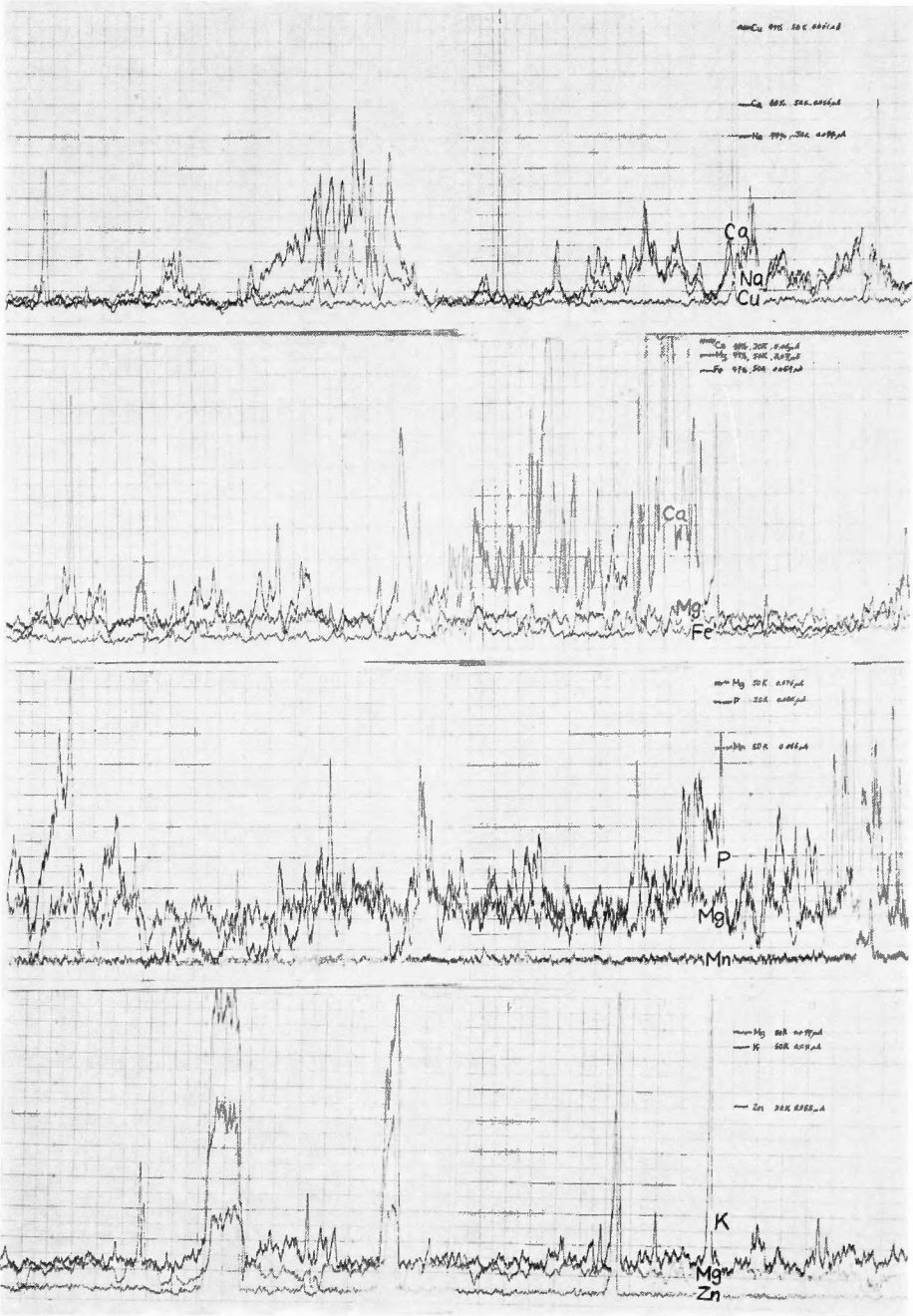
第1図 (3) ⑨左上 (×7.79) T. Y. ⑩右上 (×8.40) S. K. ⑪左下 (×6.80) M. O. ⑫右下 (×7.09) K. I.



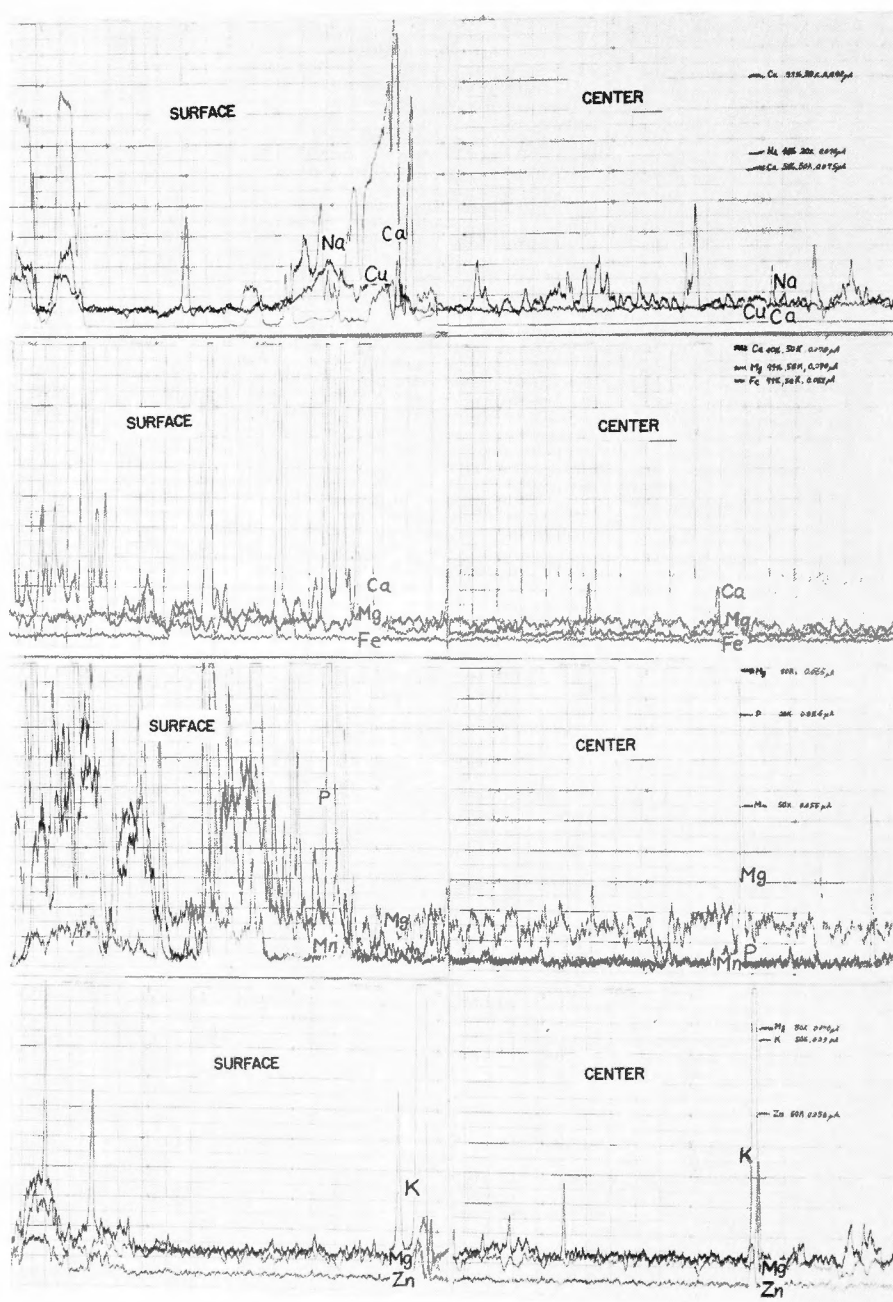
第2図 ① N. O. (中間層)



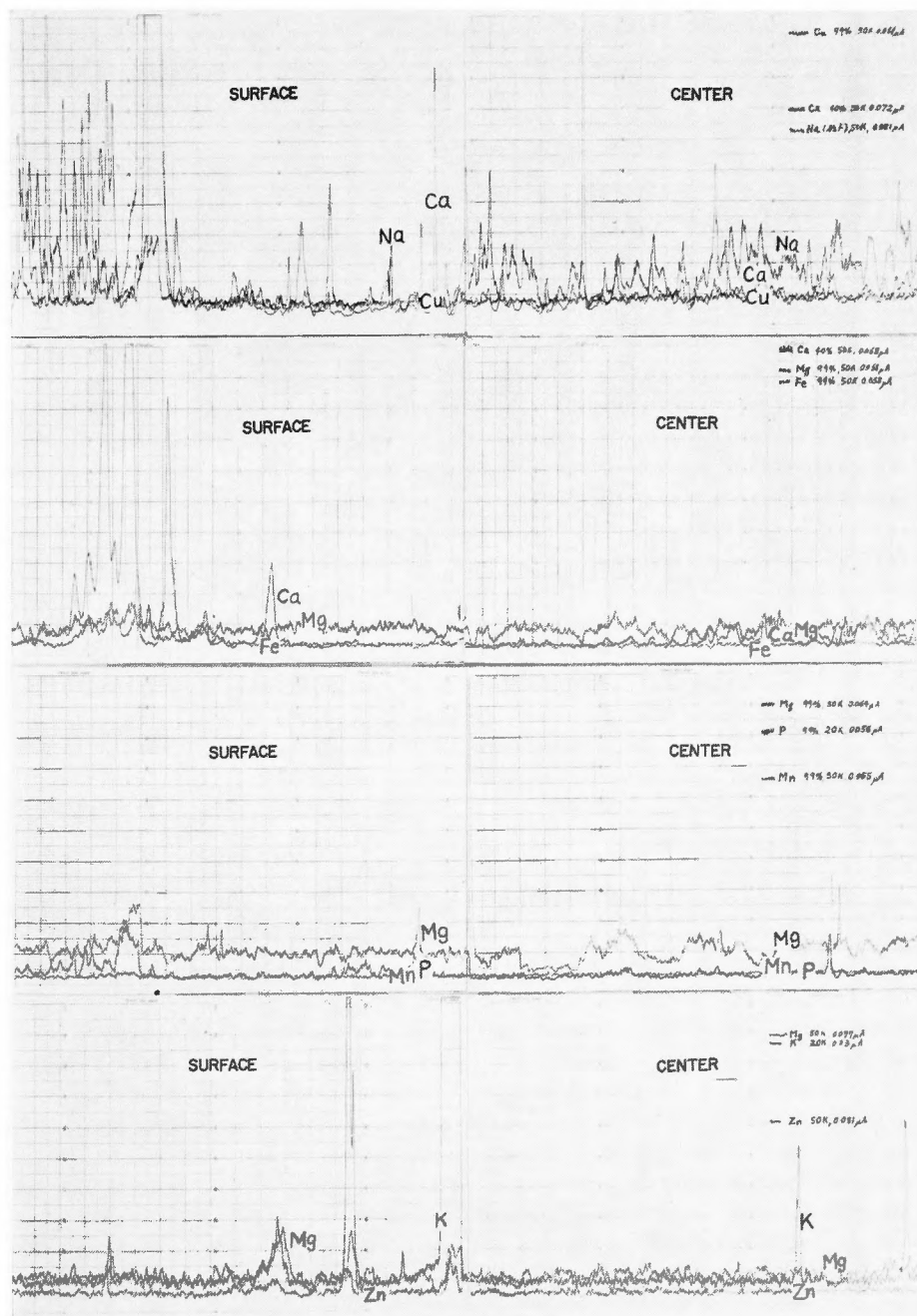
② H. O. (中間層)



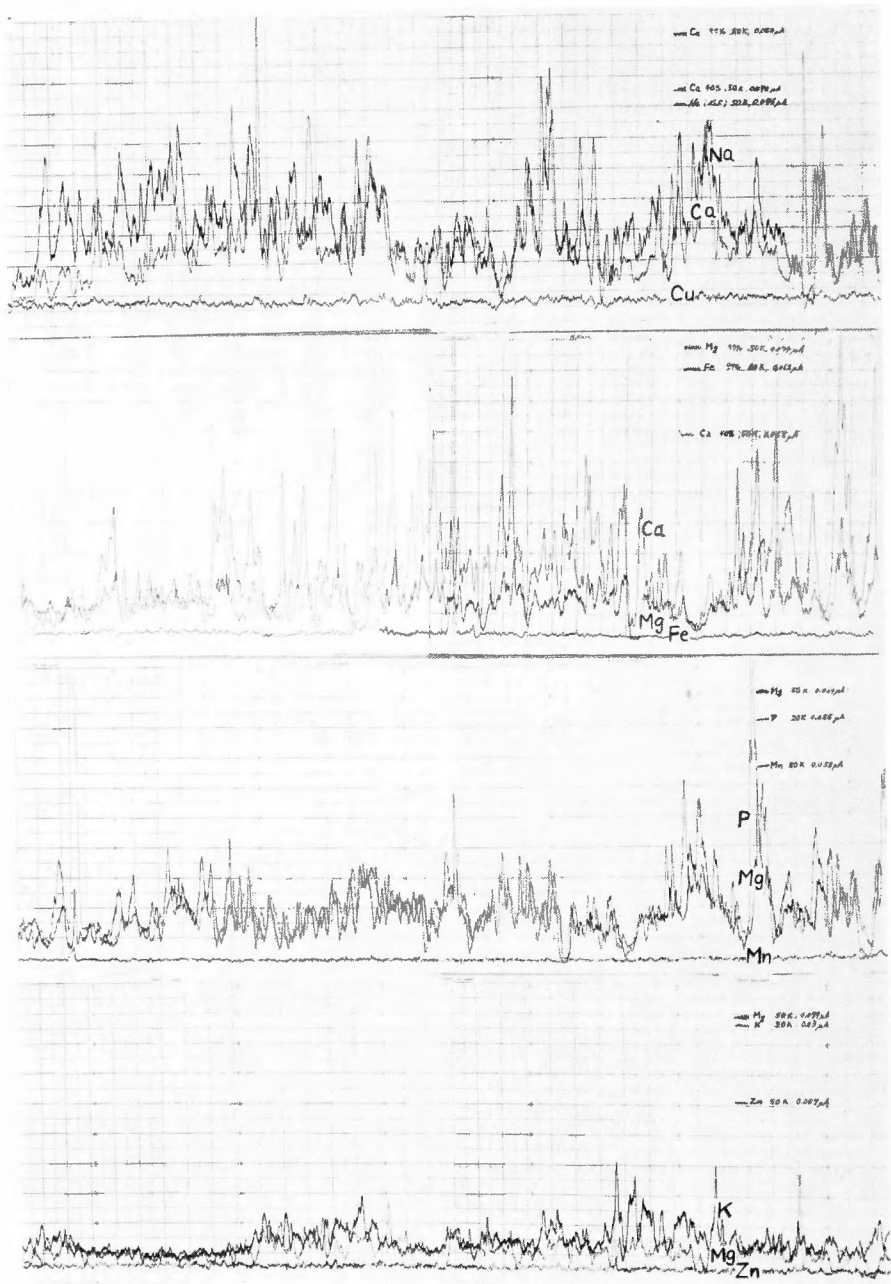
③ K. K. (中心部)



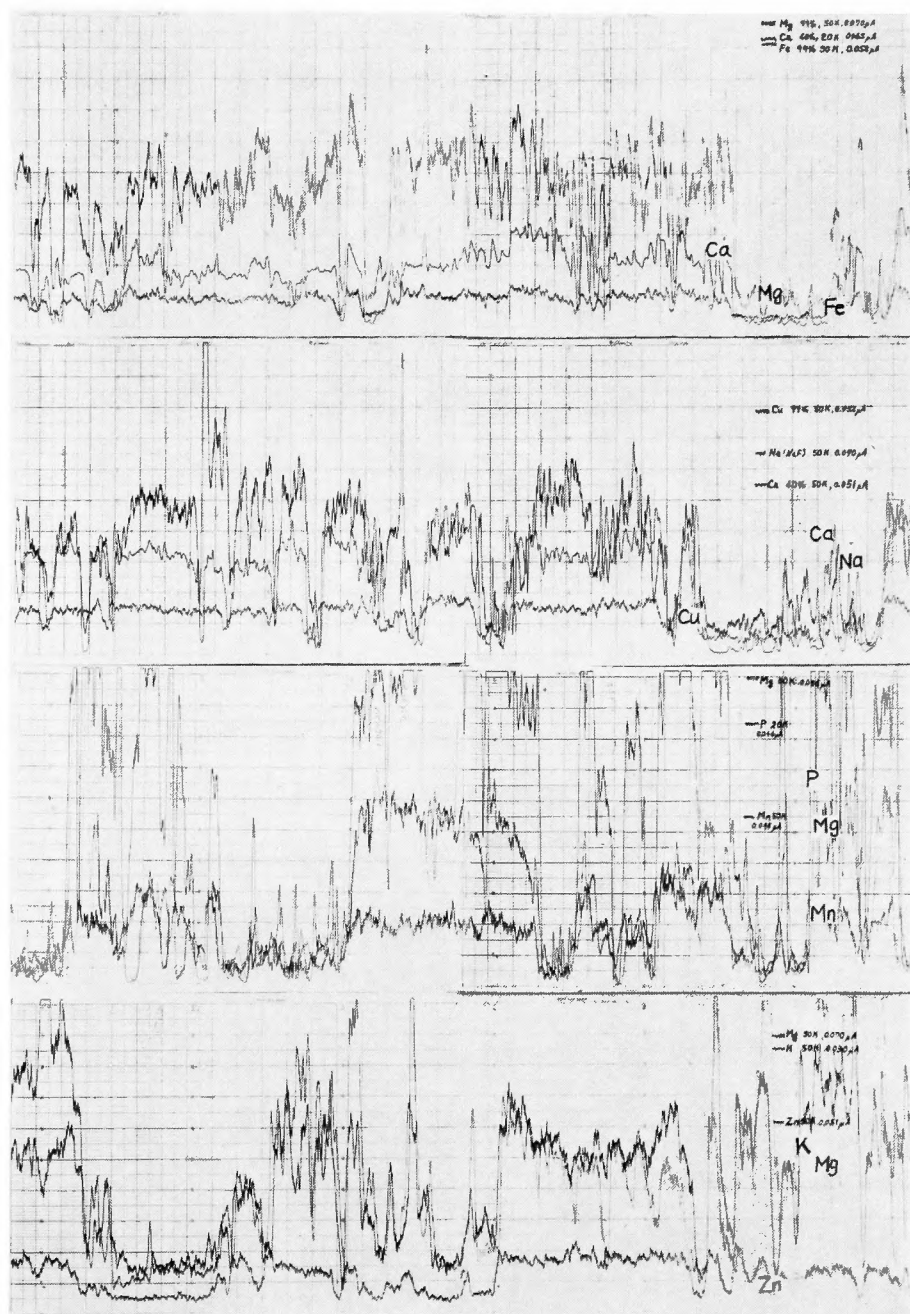
④ Y. N. (表層, 中心部)



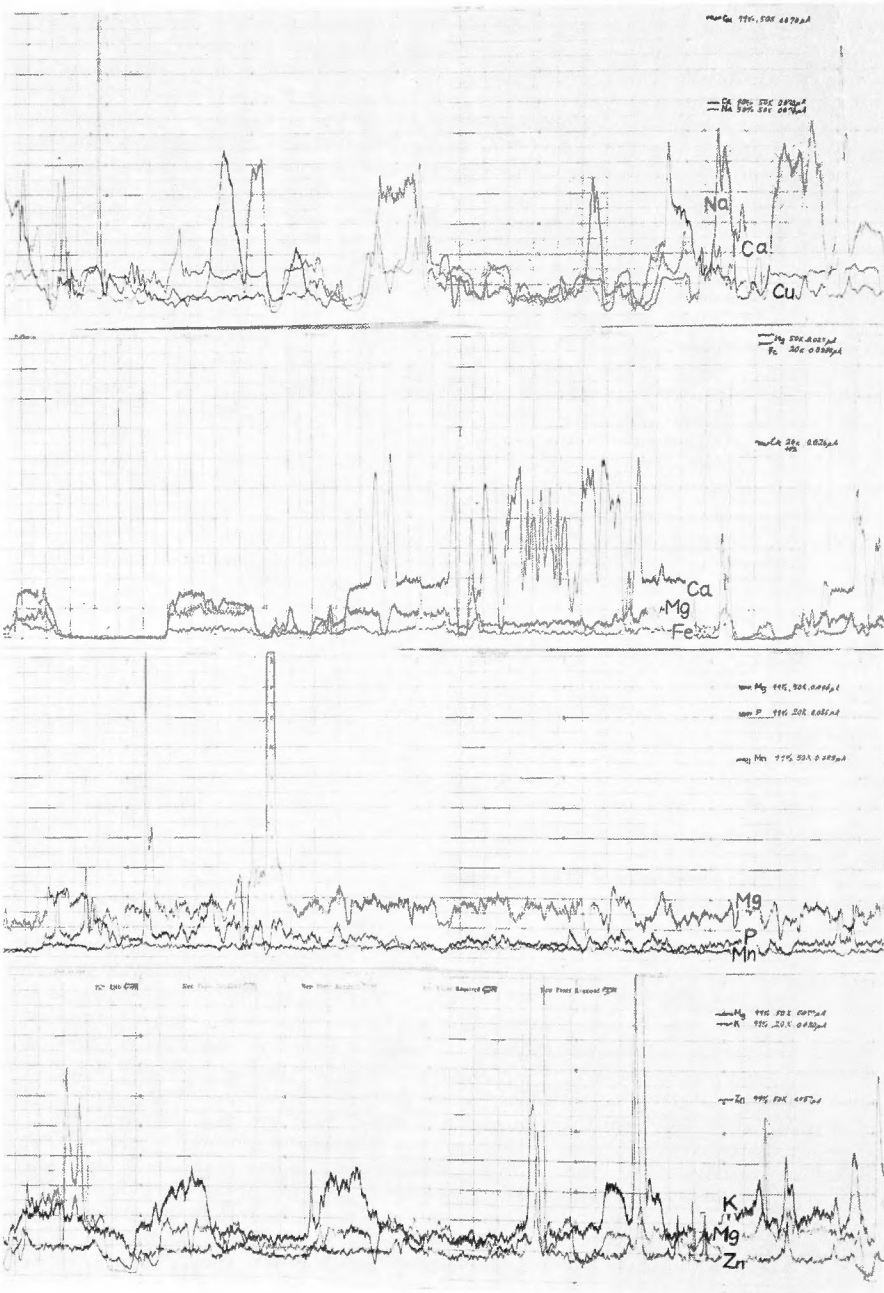
⑤ U. Y. (表層, 中心部)



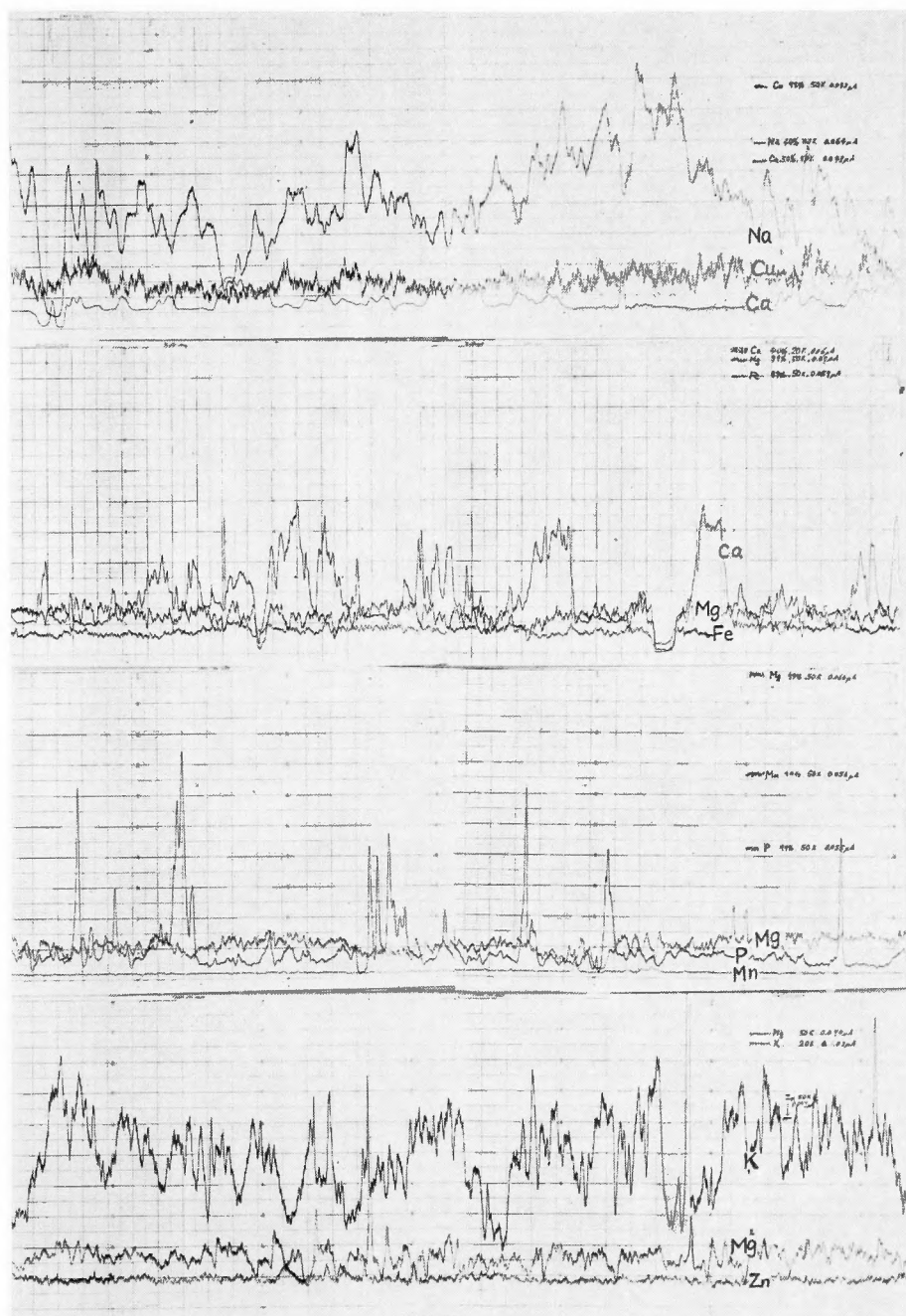
⑥ F. N. (中間層)



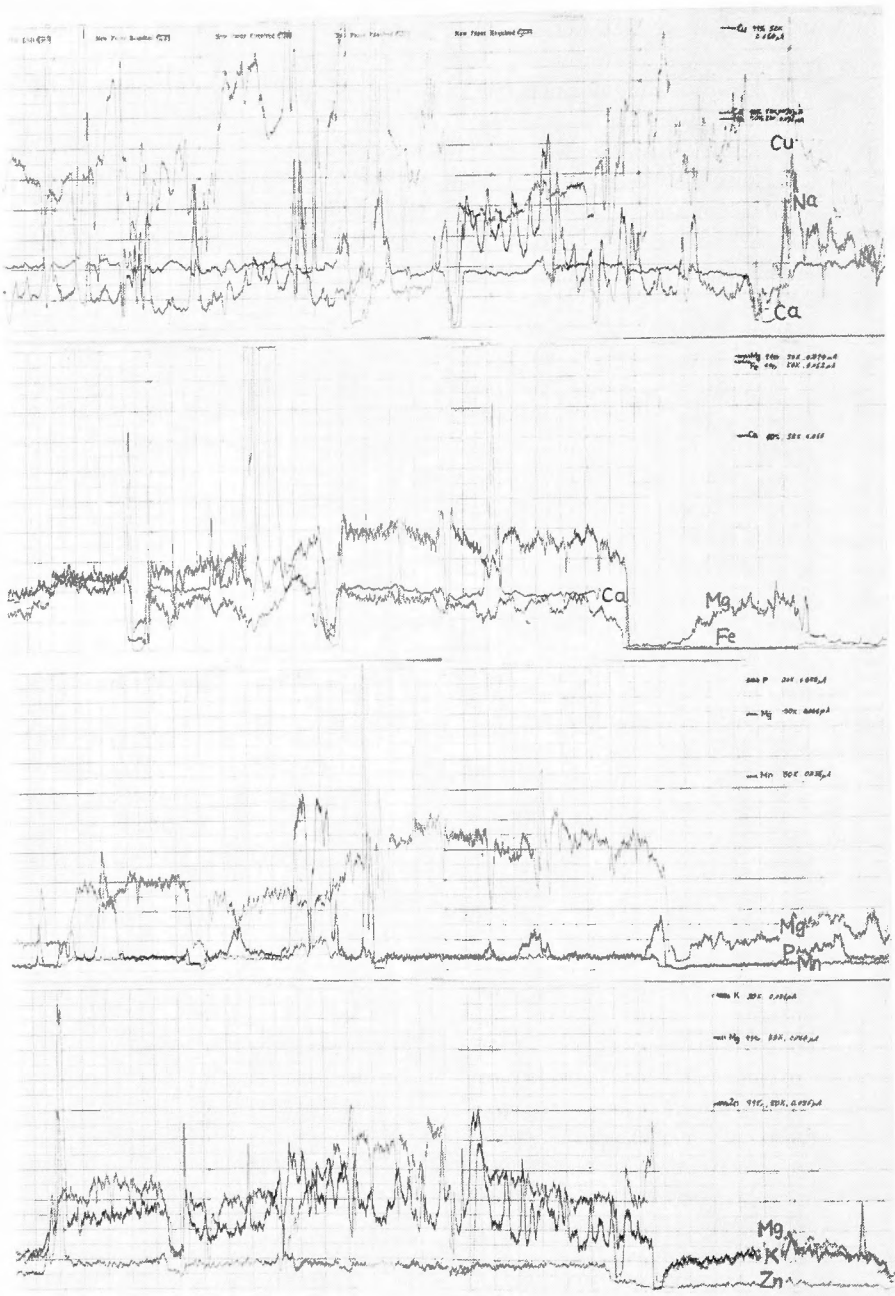
⑦ S. I (中間層)



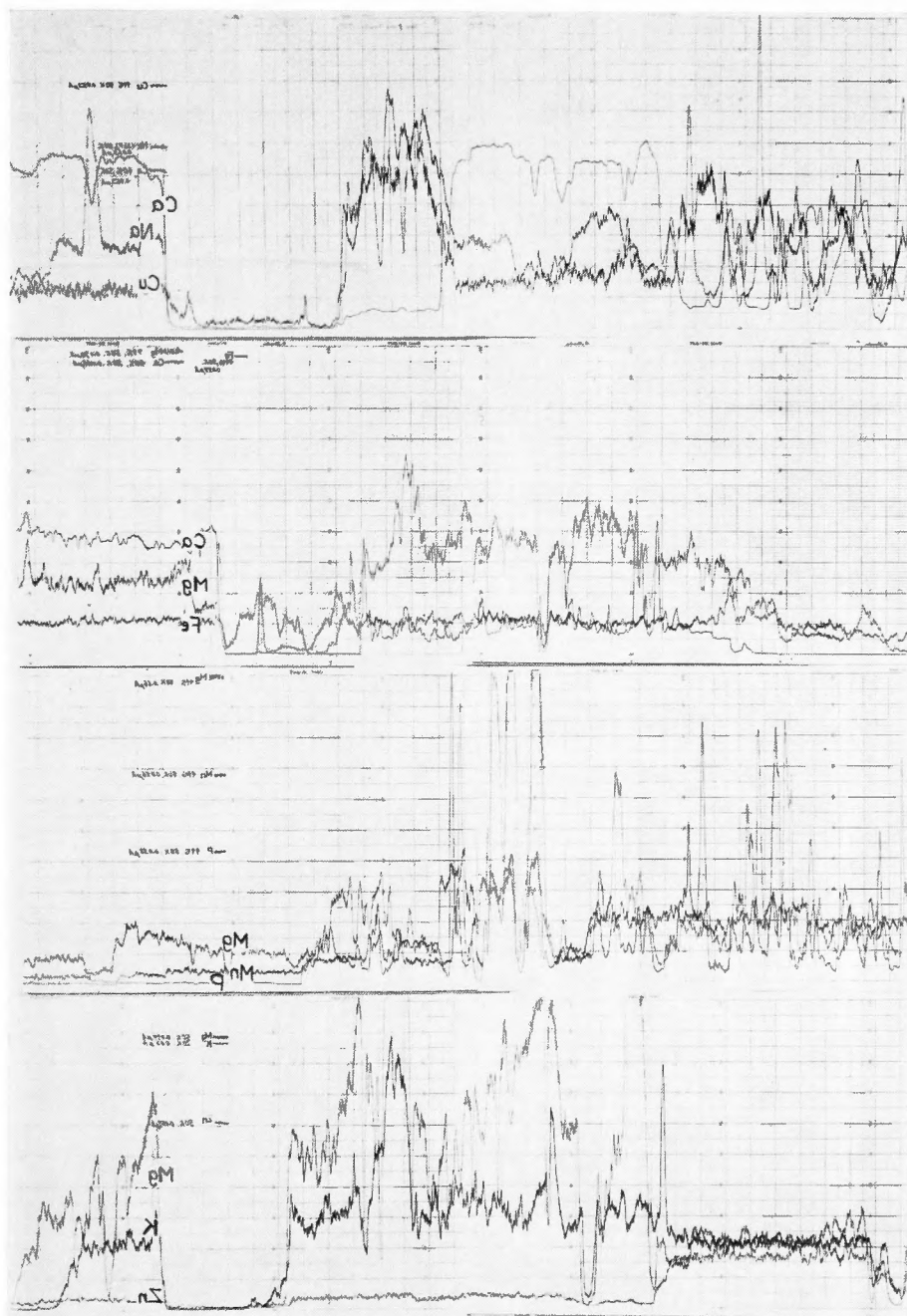
⑨ T. S (中間層)



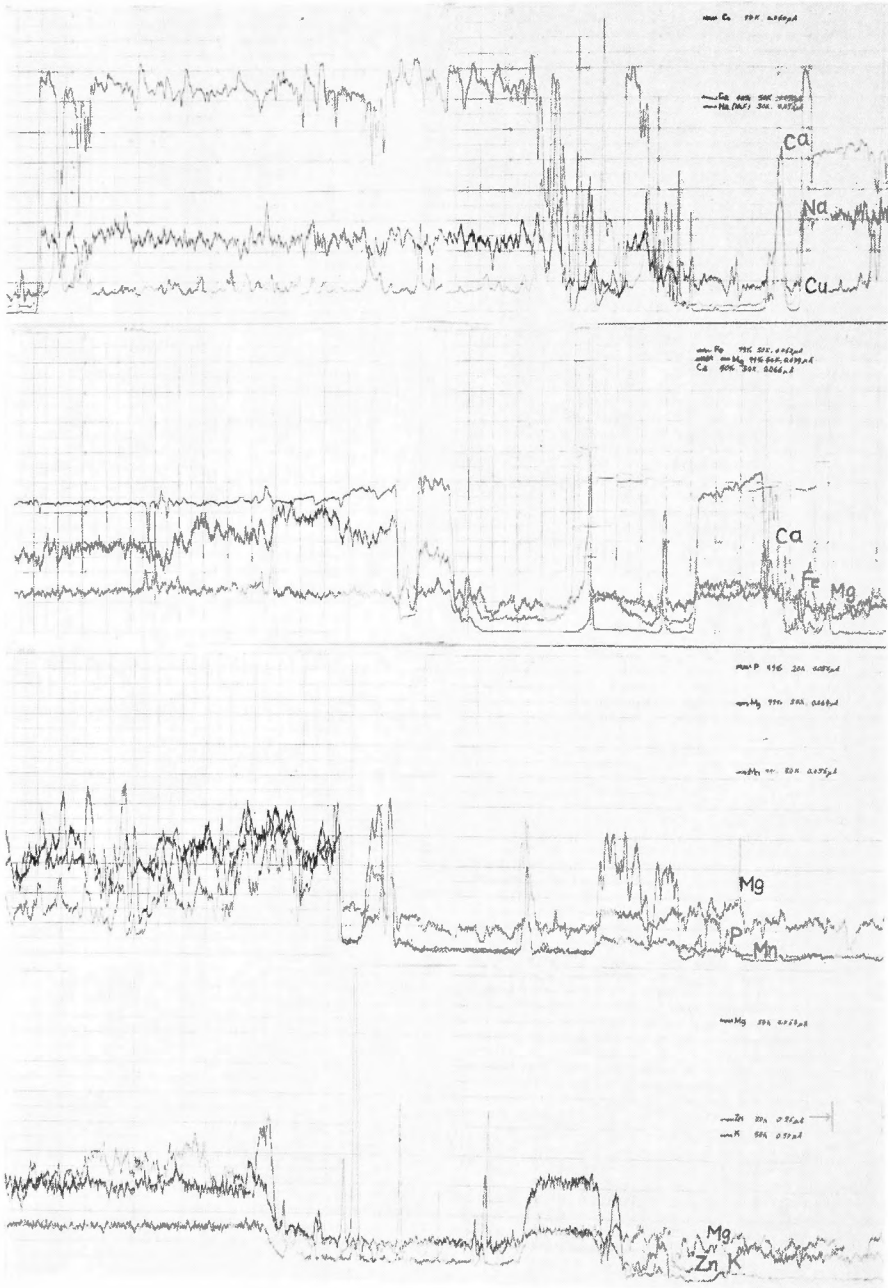
⑨ T. Y. (中間層)



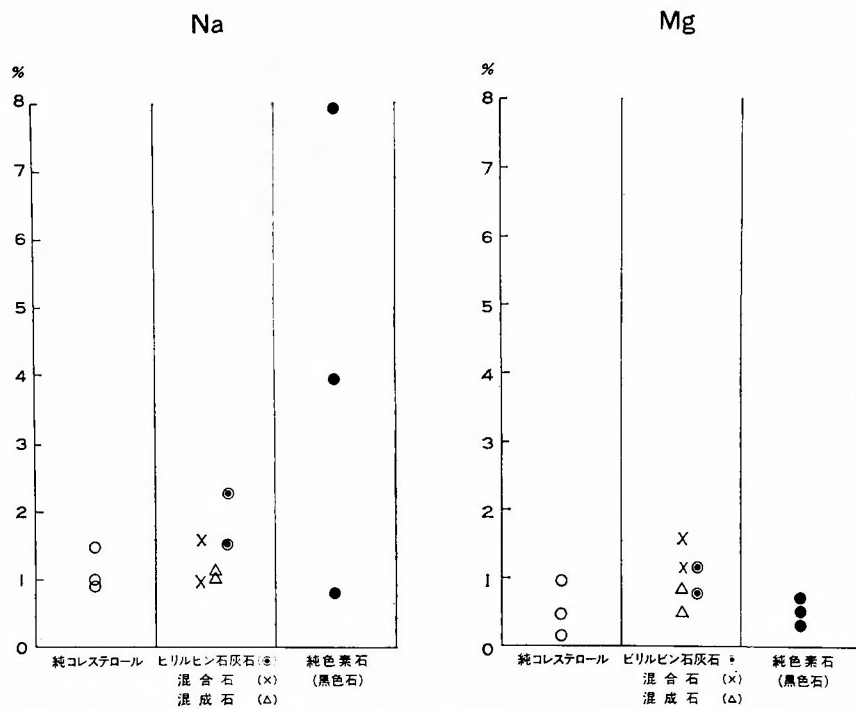
⑩ S. K. (中間層)



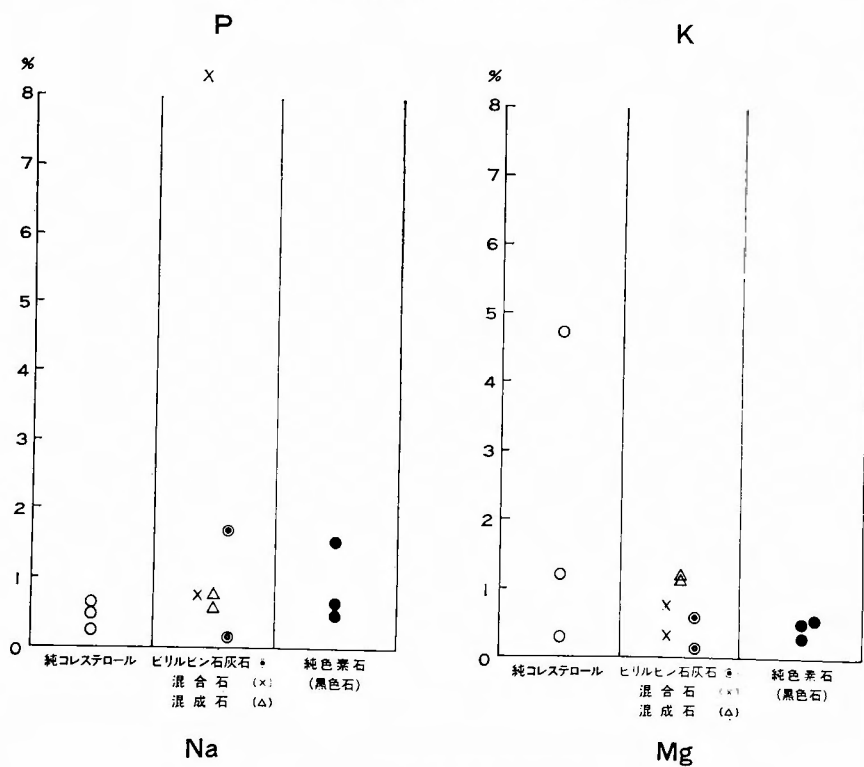
⑪ M. O. (中間層)



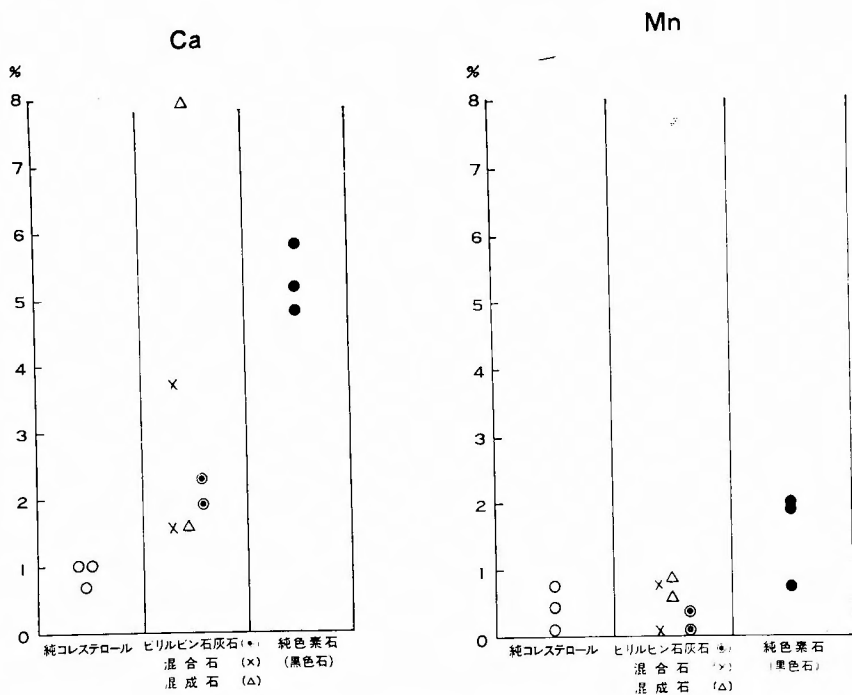
⑫ K. I. (中間層)



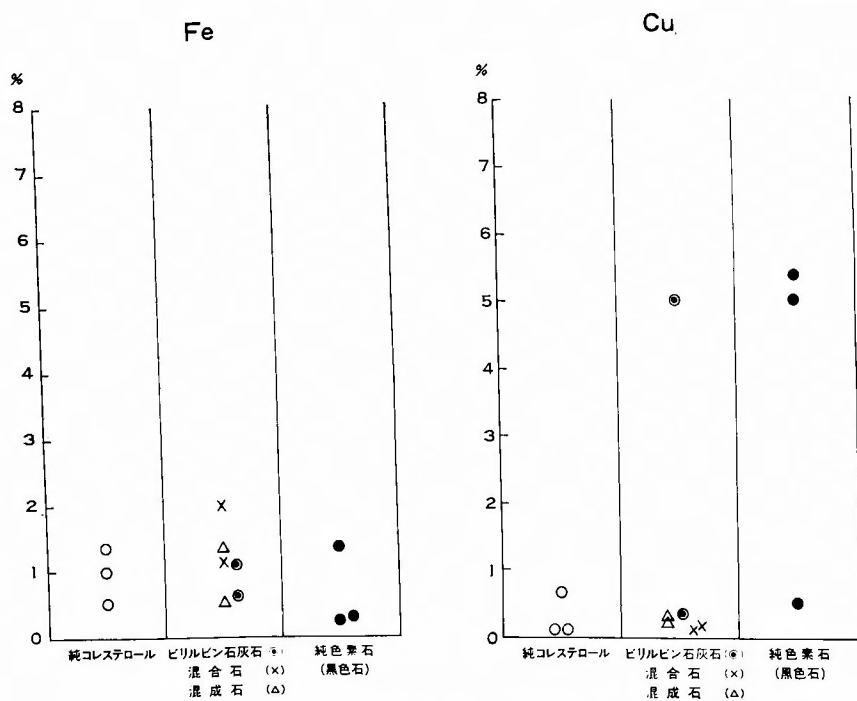
第3図 (1) X線アナライザー分析における最高濃度



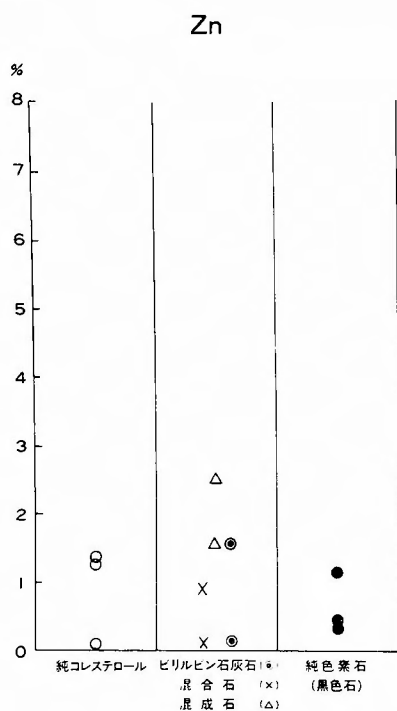
第3図 (2) X線アナライザー分析における最高濃度



第3図 (3) X線アナライザー分析における最高濃度



第3図 (4) X線アナライザー分析における最高濃度



第3図 (5)

X線アナライザー分析における最高濃度

## ③ X線マイクロアナライザーによる測定成績

## 胆石番号 1 (N. O. 例)

直径 18mm の球状を呈する硬い純コレステロール石で、肉眼的にも中心から周辺に向かって放射状に走るコレステロールの結晶をみる。中心部では結晶間に間隙を認める。

本胆石の表層には Mg-K-Zn が微量ながら均等に分布共存している。

中間層では Mg-K のピークが散在してみられた。

中心層では Ca が少々多い傾向 (最高1%, 平均0.2%) がみられ、そのようなところでは Na (平均0.01%) との共存が認められた。又 Mg-K, Mg-P の共存も認められた。

Cu, Fe, Mn は全層を通じて全く微量である。

従って全体的には何れの元素も微量で、而も中心部から表層に至るまで殆んど均等に分布、存在するために線分析の曲線は何れの元素についても平坦で、その変動が少ない。

## 胆石番号 2 (H. O. 例)

直径12mm、楕円形の、コレステロール結晶からなる充実した、硬い純コレステロール石である。

本胆石の表層には Ca と微量の Mg (最高 0.132%, 平均0.02%) が共存して認められた。

中心部から表層に至る間に Na-Ca の共存している個所が散在性にみられるが、何れも微量で1%以下である。又 Na のみが単独に存在する部分が散在性に認められ、更に Ca-Mg, Mg-Mn, Mg-P 及び Mg-K-Zn の共存する部分もみられた。併し Cu は全層を通じ0といってもよく、最高でも中間層の0.1%であった。Fe は表層で1カ所 (1.08%), 中心部では2カ所 (0.84%, 0.69%) でピークを示す部分があったが、全体的にみれば殆んど0とみなしてよい。

従って本胆石は全般的にみると何れの元素も微量であって、中心部から表層に至るまで殆んど均等であるといつてよい。ために線分析曲線も平坦で、変動が少ない。

## 胆石番号 3 (K. K. 例)

直径16mmの球状で、硬い、中心部から周辺に向かって放射状に走るコレステロールの結晶がみられる結石で、中心部に少々黒色を帯びた部分がみられる。

表層及び中心部で、Na-Ca, Mg-K, Mg-P-Mn が夫々散在性に共存して認められた。

Fe は中間層で1カ所ピーク (1.36%) を示す部分があったが、その他の部分では0といつてもよい。

Cu は表層に0.67%のピークを示す部分があったが、その他の部分ではやはり0に近い。

本胆石も全体的にみると、何れの元素も微量で、その線分析曲線は平坦であるが、唯中心部の黒色を呈する部分に限り Na, Ca, Mg, P, K が前2者の純コレステロール石に比べると少々多いようである。併し量的にみればやはり微量で、問題とするに足りない程度である。

## 胆石番号 4 (Y. N. 例)

直径23mmの球状で硬い混成石である。従ってその剖面は肉眼的にも明らかに二層からなり、中心部は中心から放射状に走る灰白色のコレステロール結晶からなり、この周囲を厚さ2mmの暗緑色を呈する表層が被っている。

表層の暗緑色の色調を呈する部分では Ca-Na-Cu-Mg-P-K-Zn (最高 2.46%, 平均 0.164%), 更には微量の Mn (最高0.546%, 平均0.072%) が共存してみられ、特に Ca は最高78.5%, 平均55.0%にも及んだ。

中心部の灰白色のコレステロール結晶からなる部分では Mg-P, Mg-Mn が夫々共存して存在し、更に Na, Ca も夫々単独に数ヶ所でピークを示した。併し

その他の元素は何れも平坦な線分析曲線を示すにとどまった。

核の中心部に少々黒色を帯びた部分が肉眼的に認められたが、その部では Ca-Cu-Mg-K が共存してみられた。併し表層の暗緑色を呈する部分に比べると問題にならぬ程微量である。

#### 胆石番号 5 (U. N. 例)

直径11mmの不整な球状を呈する。肉眼的に三層からなる硬い混成石である。即ち中心部は厚さ9mmで、コレステロールの針状結晶からなる少々黄色を帯びた灰白色の部分からなり、亀裂が認められる。そしてその周囲を厚さ2mmの層状構造を示す灰白色の部分が被い、更に最外層は厚さ1mmの暗緑色の部分からなっている。

最外層の暗緑色を呈する部分には Ca—Na—微量の Cu (最高0.3%)—微量の Fe—K (最高1.558%, 平均0.06%)—Zn (最高1.558%, 平均0.164%)—Mg—P (最高0.770%, 平均0.056%) が共存している。

中間の灰白色の色調を呈し、且つ層状構造を示す部分では Ca, Na, Mg-K, Mg のピークが夫々散在性に認められるが、全般的にみるとその変動は少なく、又肉眼で観察された層状構造と金属元素の分布量との間には何等相関性は見出し難い。

中心部の黄褐色を呈する部分では Ca-Na, 特に Ca が少々多い傾向が認められたが (最高1.6%、平均0.53%)、全般的にはその部分の Ca-Fe-Mg, Mg-K は微量でやはり問題とするに足らない。

#### 胆石番号 6 (F. N. 例)

直径12mm、切子面を有している。表層の厚さ1mmの灰白色の部分を除けば、ビリルビン色素とコレステロールの針状結晶が混在した混合石の型をとっており、その中心は一部は空洞化している。

表層の灰白色の部分には1%前後の濃度で Na-Ca が共存してみられ、その他の金属元素についての線分析曲線は何れも全く平坦である。

このような最表層以外の部分で、而も外側の表層に近い部分では Mg (最高1.120%)—Mn, Mg—K が夫々共存してみられ、P 及び K のピークが夫々別個に散在性にみられる。そして中心に近づくに伴ない、Ca (最高1.6%、平均0.4%)—Na-Mg-K-P が漸次多量に而も互に共存してみられるようになる。

Fe は全層を通じて殆んど0といってもよいが、中心部では少々増加し、最高2%のピークが認められた。

Mn, Zn は全層を通じてその変動は少なく、且つ微

量である。

#### 胆石番号 7 (S. I. 例)

直径4mmの小さな胆石であるために割面の全長に亘り線分析を行なった。表層の硬い黄白色の部分を除けば、その大部分が暗緑色の柔い混合石である。肉眼的にその割面の所々に灰白色の小顆粒状を呈する部分が散見された。

黄白色の表層の部分では Ca-Na-Mg-K が共存してみられた。

暗緑色を呈する部分では Na-Ca (中心部で最高37.0%)—Cu-P (最高8.6%、平均7.85%)—K-Mg-Mn (微量)—Fe (微量)—Zn (微量) が共存してみられ、何れの元素も表層に比べて、はるかに多量に含まれ、特に灰白色の小顆粒状を呈する部分では Ca-P が高濃度に共存してみられたことが特徴である。これは赤外線吸収スペクトル分析法を行なった結果 calcium phosphate の小顆粒と判明した。

#### 胆石番号 8 (T. S. 例)

直径17mmの、楕円形、黒茶褐色の柔い、ビリルビン石灰石である。表層は層状構造を示すが、中心部ではそれが不明瞭である。

全層を通じて Mg-K-Zn, Mg-P, Ca-Na-Cu が夫々共存して散在性にみられ、又それとは別個に Ca-Na の共存部も認められた。Ca は表層で多く、最高23.2%であった。全層を通じて Ca のピークが散在性にみられるが、胆石番号9におけるほど層状構造は明らかでない。又 Mg-Ca-K の共存部がみられる他に、微量の P が全層を通じて散在性に検出された。

中心部では Ca-Mg-P (微量) の共存が認められる。Ca は中心部で最高5.0%と高濃度に含まれ、中間層でも平均2.1%と高濃度であった。

Fe, Mg は全層を通じて変動が少なく、且つ微量である。

#### 胆石番号 9 (T. Y. 例)

直径11mmの楕円形、茶褐色を呈する割面では明らかな年輪状の層状構造を示すビリルビン石灰石である。

全層を通じて Na-Ca-Cu の共存部が検出された。部分的には Na-Ca の共存部も検出された。これは肉眼的に観察された層状構造とよく一致している。

Ca はとりわけ表層と中心部に多いが、特に表層においてそれは更に著しく、最高19%、平均16%であった。

K は中心部から表層に至るまで一様に検出された。併し強いというならば中心部の方が少ない。

Fe, Mg は中心部に若干見出されたが, (最高夫々 0.784%, 1.10%) その他の部分では変動が少なく, 且つ微量である。

Mn, Zn は全層を通じて微量で, 殆んどピークは検出されず, 平坦な線分析曲線を示した。

胆石番号 10 (S. K. 例)

直径 5.2mm の金平糖状の, 黒色, コークス状の断面を有する純色素石で, 小孔が散在してみられる。小さな胆石であるため断面の全長に亘たり, 線分析を行なった。

表層より中間層にかけて広い範囲に亘たり Ca-Na-Cu-Mg-K-Fe が共存し, 部分的には Mn-P, K-Zn の共存も認められる。

Ca は表層で最高 51.5% (平均 11.6%) を示した。

Zn は中間層で最高のピーク (1.0175%) を示したが, 平均では中間層においても 0.0925% であった。

Mn は中間層において最高のピーク (1.824%) を示し, 平均でも 0.273% と高濃度に保有されていた。

Fe は中間層で最高ピーク (1.29%) を示し, 平均でも 0.4% と少々高濃度に保有されている。

中心部に小孔が多く散在し, Fe-Mg-Cu の共存が認められた。

胆石番号 11 (M. O. 例)

直径 4mm の, 黒色, 金平糖状の硬い, コークス状の純色素石で, 断面に灰白色の小顆粒状を呈する部分が散在して認められる。又多数の小孔がみられる。この際も断面の全長に亘たり線分析を行なった。

表層は均一な Ca-Mg-K (微量) — Zn (微量) の共存層で, Mn-P も共存してみられる。Ca は最高 51.5% (平均 46.2%) と高濃度に保有されている。Cu は胆石番号 12 に比べると少々少ないが, 最高 0.52% 平均 0.38% を示した。

中間層には部分的に Mn (最高 19.16%, 平均 1.062%) — P (最高 1.52%, 平均 0.575%) が高濃度に検出される部分がみられた。肉眼的に散在してみられた灰白色の小顆粒状の部分に高濃度の Na-Ca が共存して認められた。

中心部では Mg-K が表層及び中間層に比べて多くなっているのに対して, Ca は表層及び中間層に比べて中心部では少なくなっている。

胆石番号 12 (K. I. 例)

直径 4mm の黒色の金平糖状の硬い, 純色素石で, やはり小孔に富んでいる。断面の全長に亘たり線分析を行なった。

表層より中間層にかけて, 均等に Ca-Na-Cu-Mg-Mn-P-K-Fe (微量) — Zn (微量) が共存してみられ, Ca は表層で最高 48.0%, 平均 43.4% と高濃度に認められた。

Cu は表層で最高 5.0%, 平均 2.08%, Mn は表層では最高 0.729%, 平均 0.425% と何れも高濃度に保有されている。

Na は表層で最高ピーク (7.84%) を示したが, 平均では 0.28% と余り高くない。

中心部は小孔が多く, 充分な所見が得られなかった。

### ③ 総括

以上の実験成績を一括したのが第 2 図及び第 3 表である。なお第 2 図は X 線マイクロアナライザーによる線分析の記録紙の代表的な部分である。

純コレステロール石では表層及び中心部において Ca, Mg, K, P, Zn 等の変動がみられ, 中心部ではそれらの濃度が少々高い傾向がみられても, 何れの金属元素も極めて微量で, 全体的にみると平坦な線分析曲線を示すに過ぎない。ただ胆石番号 3 の結石の中心部のように黒色の色調を呈する部分を有するものでは, その部分に Na, Ca, Mg, P, K の変動が少々著明に認められた。併し 0.1% 以下の濃度で問題とするに足らない。とはいうものの胆石番号 5 の混成石の核となっているコレステロールの結晶が配列した中心部に認められた黒色の色調を呈する部分においても同様の所見が認められたことを併せ考えると, そのような部分ではビリルビンが金属錯体<sup>(5)(18)(19)(20)</sup>を作って存在していることも当然考えられる。

純色素石では Ca-Na-Cu-Mg-Mn-P-K-Fe-Zn が均等に, 広範囲に亘り, 而も高濃度に存在している。Ca も全層を通じて高濃度に検出され, 特に表層では最高 50~60% といった高濃度に存在する部分がみられる。

Mn, Cu も他の種類の胆石に比べて高濃度に含まれており, 且つ広範囲に亘り検出されることがこの種の胆石に極めて特徴的な所見であった。

ビリルビン石灰石では全体的にみると, Ca-Na-Cu の共存が認められ, Ca は高濃度で, 最高 20% 前後で, 平均量でみてもコレステロール系胆石よりも高濃度である。併し純色素石に比べると少ない。又 Ca の特に高濃度に含まれている部分と肉眼的に観察される年輪構造とはよく一致する。なお Ca は中心部より表層にゆくにつれて多い傾向が認められる。Mn は微量である。一般に純色素石に比べると各元素の分布及び共存

部位は散在性である。

混成石ではその核を形成する灰白色のコレステロールの結晶が配列した中心部では全く純コレステロール石の示す所見と同じであるが、表層の暗緑色の色調を呈する部分はビリルビン石灰石の所見を示した。

混合石では各金属元素が複雑に入り乱れ、混在し、一定の傾向を認め難い。

要するにコレステロール系胆石に比べて、ビリルビン系胆石は多くの種類の金属元素を含んでおり、且つその含有量も多くなっている。この点は従来の諸家の成績<sup>31)46)</sup>ともよく一致した。

各種の胆石についてX線マイクロアナライザーで線分析した金属元素の最高濃度を表示したのが第3図である。これらの濃度は何れも標準試料との相対比から求めたもので、絶対値とはいえない。併し胆石に含まれた金属元素の動的分布を知る上では極めて有意義であろう。

Na, Mg, P, K, Fe, Zn については胆石の種類による差異を認め難い。

Ca の最高濃度を比較してみるとコレステロール系胆石においては低濃度であるのに対して、ビリルビン系胆石特に純色素石では高濃度である。混成石(胆石番号4)では表層のビリルビン石灰石の部分では高濃度であるが、中心部のコレステロールの結晶が配列する部分では低濃度である。混合石(胆石番号7)ではCa は主として calcium phosphate として存在しているものと考えられる。ビリルビン系胆石ではCa は主として calcium bilirubinate の形で沈着しているようである<sup>7)</sup>。

Cu の最高濃度はコレステロール系胆石では全て0.6%以下であるのに対して、ビリルビン系胆石では5例中3例が5%前後の高値を示していた。

又Mnの最高濃度をみるとコレステロール系胆石では低値を示す。ビリルビン系胆石ではビリルビン石灰石はやはり低値を示すが、純色素石では1.8%前後の高値を示していることが特徴的であった。

## Ⅱ 考 按

1970年頃から無機化学と生物化学との境界領域ともいべき生物無機化学 bioinorganic chemistry<sup>21)22)</sup>が注目されるようになってきた。生体はH, C, N, O, P, S, Cl, K, Na, Ca, Mg 等の bulk element (bulk metal) を主成分とし、Cu, Fe, Mn, Zn, Cr, Mo 等を微量に含有するので、従って後者のようなものは前

者に対して trace element (trace metal) と呼称される。trace metal の存在が生体にとり有利に作用し、その生理的機能の遂行に欠くべからざるものである場合には、特にそれを essential metal と呼ぶ。そしてそうでない場合には contaminated metal と呼んでいる。これらの元素の排泄経路としては消化管、腎、乳汁、皮膚等をあげることができる。それらが能動的ないし受動的に消化液中に分泌されたり、消化管上皮の脱落に伴って排泄されるが、特に胆汁中への排泄が最も重視される<sup>21)</sup>。

一般に分子量が400以上の金属化合物は主として胆汁中に蛋白質と結合して排泄されるが、そのような各種の金属元素の胆汁中への排泄量は、胆汁酸と同様に動物の種族による差異が顕著である。従って動物実験のデーターを人体に適用するに当たっては、その点大いに配慮する必要があるとされている。

Na, K, Cl については腎臓が強い調節力を保有しているから、個体の胆汁中のNa濃度は134~156mEq/l, K濃度は3.9~6.3mEq/l, Cl濃度は83~110mEq/lと夫々血清のそれと大体同じ程度に保たれている<sup>23)</sup>。胆汁中の金属塩としてはNaClが主で、その他にNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Mg<sub>3</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, Cu<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, CaCO<sub>3</sub>, NaCO<sub>3</sub>等もみられる<sup>24)</sup>。

Caは胆汁中に可成り大量に(4~8mg/100ml)含まれており<sup>25)26)</sup>、ために成人では一日当たり300~700mg排泄されることになる。なお胆汁中での脂肪酸カルシウム、炭酸カルシウム、燐酸カルシウム等の溶解には胆汁酸の存在が大いに与っている。

Pは大部分尿中に排泄されるが、一部は消化液中にも排泄される。Mgを多く含んだ本邦人の食餌はCaの排泄を促進するという。

一般にCaやMgの燐酸塩は難溶性であるが、それにも拘らずそれらが胆汁中でその溶解度以上に溶けて存在しているのは、保護コロイドとして存在するムチン類によるとの説もある。

従って胆石中に保有される金属成分としてもCaが<sup>31)7)8)27)</sup>一番多く、Sutor<sup>28)</sup>等が世界11ヶ国から集めた481個の胆石についての検索成績でも、その193個(40.1%)においてCa塩(炭酸カルシウム、パルミン酸カルシウム、燐酸カルシウム、ビリルビンカルシウム等)が含有されていたという。

従来からCaは胆石の生成や成長に重要な意義を有するものとされ、Lichtwitz<sup>25)29)</sup>やPeel<sup>30)</sup>を初めとして、その点に関しては多くの先人の研究業績が発表さ

れている。それには肝胆汁に由来するものと胆嚢壁に由来するものとの二つが理論的に考えられる。正常の胆嚢では水分等が吸収され、ために Ca 濃度が上昇することもある。特に Ca 含有量の大きな胆石は、その大部分が胆嚢で生成されたものと考えてよいとする人すらある<sup>31)</sup>。一般に胆嚢炎や胆嚢管の閉塞に際しては胆汁中の Ca 濃度は増大するものとされ<sup>31)32)33)</sup>、細菌性の炎症と関係の深いビリルビン石灰石では、事実 Ca 含有量が大きい。又パルミチン酸カルシウムを主体とした脂肪酸石灰石<sup>34)</sup>の生成に際しては強烈的な細菌性炎症<sup>35)36)</sup>や腓リパーゼの逆流<sup>37)</sup>が関与しているともいわれている。併し細菌性炎症との関係があまりないと考えられる純色素石で Ca 含有量がより一層大であり<sup>5)31)</sup>、胆石中の Ca 含有量の大きなことを細菌性の炎症にのみ求めることはできないように思われる。われわれの今回の研究で検索対象とした3例の純色素石のみられた胆嚢内の胆汁には細菌の存在を全く認めていないのである。

胆汁酸のうち deoxycholic acid と lithocholic acid は遊離型では起炎性が強く<sup>31)</sup>、特に lithocholic acid は胆石生成に関して注目されている<sup>38)</sup>。即ちこのような遊離型の胆汁酸が増加すると化学的刺戟によって炎症を招来し、胆汁中の Ca 濃度を増大せしめる可能も否定し得ない。

Beckmann<sup>39)</sup>は個体に  $\text{CaCl}_2$  を静注すると肝実質障害のある症例では正常例に比べて胆汁中の Ca, Cl 濃度が夫々異常に増大するといっているが、又1961年 Tera<sup>40)</sup>は  $^{45}\text{Ca}$  を用いた動物実験において血中の Ca イオンが胆嚢床の胆嚢壁から直接胆嚢内へ自由に拡散することを明らかにし、必ずしも細菌性の炎症がなくても、Ca の増量する可能性があることを示唆している。

Sutor<sup>28)</sup>は純コレステロール石においてもその多くのものにおいて、少量の Ca が主としてパルミチン酸カルシウムの型で含有されているといっているが、確かに純コレステロール石でも微量の Ca が保有されており、それも中間層に比べて表層や中心部に少々多い傾向が認められる。併し Ca の化合物が胆石形成の核ないしは層状構造を呈せしめる分布状態を示しているようなことはなかった。

純色素石が生成されるためには Cu の存在のもとに胆汁の代謝性変化の惹起されることが必要であるとの説もある<sup>30)</sup>。Schönheimer<sup>2)</sup>は Cu, Zn, Mn, Fe が人体の他臓器よりも胆石中に多く含有されているとし、本

邦でも故松尾巖教授一門の研究によると、Cu 塩を投与すると実験的に色素石を作成し得たという。<sup>41)~45)</sup>更に瀬木<sup>46)47)</sup>は Fe も胆石生成に関与している可能性のあることを指摘している。これに対して Christensen<sup>48)49)</sup>はハムスターにおけるコレステロール系胆石生成実験で Cu 投与は寧ろ胆石生成に抑制的に作用すると報告したが、後に自ら訂正している。

湯田<sup>4)</sup>は胆汁粘度の上昇は Cu, Mn, Fe 殊に Cu, Mn が促進的に作用するとしており、ひいては Ca による胆汁粒子の成長、凝集を促進する結果にもなるとしている。小笹<sup>50)</sup>の実験によると Welch 菌の菌体外毒素の存在にもとずく遊離胆汁酸産生作用は Mn, Co, Mg, Sn, Ba イオンにより促進され、Cu, Zn イオンにより阻害されるという。併し K, Na, Ca, Al, Pb, Ni 等のイオンは何等の影響も及ぼさないという。更にいわゆる lecithin-bile salt-system のコレステロール溶存能は Na イオンでは殆んど影響されないが、Ca, Mg, Mn, Cu, Fe は可成りその低下を招来せしめるものとされている。又 Cu は calcium bilirubinate の析出に主要な役割を演ずる要因の一つとされている細菌性  $\beta$ -glucuronidase 活性に対して阻害的に作用するという<sup>31)</sup>。井上<sup>51)</sup>の研究によると、胆石特にビリルビン系胆石中には Cu が 200~3000 ppm と Fe よりも多く保有されており、その分布及び量的関係は蛋白含量と正の関係を、脂肪酸含量とは負の関係を示しているという<sup>10)51)</sup>。われわれのビリルビン系胆石特に純色素石においては Cu, Mn の含量が多く、X線マイクロアナライザーで分析した最高濃度では、他の種類の胆石とその点で明らかな差異を示した。最近 Markkanen<sup>27)</sup>は避妊薬を長期間服用した者にみられる胆石には Cu 含量が特に多く、ホルモンあるいは全身の代謝性因子にその原因を求め得るものとしている。

Mn は植物中の緑色部に約 0.5mg % の割合に含まれており、葉緑素の生成に関与しているといわれる。動物に与えられた Mn は蛋白合成の補酵素として肝臓に最も多くとり込まれ、利用され<sup>21)31)</sup>、尿中へ排泄されないで、その多くは屎中へ排泄される。即ち屎中に排泄される Mn の 50~60% までは胆汁に由来する。なお Cu, Mn は腸管壁より屎中に排泄されることは殆んどない<sup>21)54)</sup>。

太田<sup>52)</sup>は胆石、尿石、腓石更には各臓器を分析し、その間に Fe 含量で差がないが、Mn 含量では胆石が最も多く、Fe/Mn 比をとると血液、胆汁、胆石の順にそれは小さくなることを指摘している。われわれの

分光分析, 原子吸光分析の成績でもビリルビン系胆石, 特に純色素石では Mn 含量が他の種類の胆石に比べて大で, 特に X線マイクロアナライザーで分析した最高濃度ではその差が更に著明に認められた。

人体の Zn 保有量は, 1.4~2.3g といわれ<sup>21)</sup>, 微量元素の中では Fe に次いでその保有量の大きな元素である。併しその生理学的機能については未だ充分に解明されていない。それは主として尿中に排泄され, 尿中に1.0~4.7%しか排泄されない。肝臓, 脾臓にとり込まれ, 肝臓では数種の酸素中に含まれている。従って, Zn は脾液中に平素から排泄されている。殊に肝硬変症に際してはその排泄が高まり, ためにその血中濃度は低下する。

胆汁の遊離型胆汁酸, それも deoxycholic acid が増加し, 抱合型胆汁酸が減少することは胆石の生成を促すとされているが<sup>7)</sup>, その際に Fe, Al, Ca, Mg イオンが共存すると遊離型胆汁酸水溶液は最も構造粘性を示し易くなるという。それに反して抱合型胆汁酸は構造粘性を示し難い<sup>53)</sup>。

Na, Ca, K, Mg, P などの金属元素の体内保有量を可及的に一定に保つために, 個体はその排泄量を調節することによって専ら対処しているが, Fe のみはむしろ腸管よりのその吸収を調節することによって対処し, 排泄機転の調節に依存しない。即ちそれは尿中には排泄されず, 又胆汁中にも1日約1mg宛と恒常的に排泄されている。従って各種の結石中の Fe 含量には殆んど差異を認めず, 而もそれは微量に保有されるに過ぎない。

Gerlach<sup>55)</sup>は分析し得た胆石27個中26個に Pb を検出したとしたが, 更に Cikrt<sup>56)</sup>は <sup>203</sup>Hg, <sup>210</sup>Pb, <sup>52</sup>Mn, <sup>60</sup>Cu を投与し, その胆汁について電気泳動を行なった結果, Cu, Mn は胆汁色素あるいは蛋白と共に泳動されることを見出した。併し Hg, Pb は斯る蛋白等と結合することなく, 主として腎臓から排泄されることを明かにしている。

又遊離型のビリルビンは胆汁中の Fe, Cu, Mn などと結合して, 黒色の金属錯体を形成することが知られている<sup>5)(18)(19)(20)</sup>。

他方純コレステロール石では金属保有量は何れも少量で, 而もそれらは中心部から表層に至るまで均等に分布している。従って明確な核の存在も認められない。その形成に際してはコレステロール溶存系の可成り急激な変動が推定される。

## V 結 語

1) われわれは手術で剔出し得た各種の胆石中12個を選び, それをまず予備的に分光分析, 原子吸光分析を施行した後, 更に X線マイクロアナライザーを用いて Na, Mg, P, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, についての線分析を行なった。

2) 純コレステロール石では何れの金属元素もその保有量は少なく, 而も中心部から表層に至るまで均等に分布していた。

3) 純色素石では金属元素の保有量が一般に大で, Ca-Na-Cu-Mg-Mn-P-K-Fe-Zn が広範囲に亘り, 共存して認められた。

4) ビリルビン石灰石では Ca-Na-Cu の共存する部分が多く認められ, Ca の分布と肉眼的に観察された年輪状の層状構造との間に密接な相関性がみられた。併し純色素石に比べて, 各金属元素の分布及び共存部位は散在性である。

5) 混合石では各金属元素が複雑に入り乱れており, 一定の傾向を見出し難い。

6) 混成石では中心部は純コレステロール石の, 表層ではビリルビン石灰石の特徴を夫々示した。

7) 線分析によって各種の胆石中に保有される金属元素の最高濃度を比較すると, Ca はコレステロール系胆石では低く, ビリルビン系胆石特に純色素石において高い。Cu はコレステロール系胆石では常に0.6%以下であったが, ビリルビン系胆石では5例中3例で5%前後の高値を示した。Mn はコレステロール系胆石及びビリルビン石灰石では低値であるが, 純色素石では1.8%前後の高値を示した。

本論文の要旨は第60回日本消化器病学会総会(昭和49年4月1日)及び第7回日本消化器外科学会総会(昭和49年7月12日)において発表した。

本研究に当り多くの御援助を賜った神戸製鋼所中央研究所鈴木正美氏, 太田法明氏, 松村哲夫氏, 神戸製鋼所衛生課田辺幸雄氏に深謝する。

## 文 献

- 1) Müller, E. : Der Metalgehalt der Gallensteine und der Galle. Biochem. Zshr., **286**; 182-185, 1936.
- 2) Schönheimer, R. & Herkel, W. : Über das Vorkommen von Schwermetallen in menschlichen Gallensteinen. Klin. Wshr. **10**: 345~346, 1931.

- 3) 向井盛信：極東人胆石の分光学的研究。医学と生物学, **10** : 327~330, 1947.
- 4) 湯田 傳：胆石の重金属の意義。医学研究, **23** : 1434~1449, 1953.
- 5) 豊田政幸；高沢節雄，中村尚志，三条忠夫：胆石内黒色素素に関連して，東北医誌, **75** : 247~252, 1967.
- 6) 太田直一：人体内に於ける無機成分の研究（第1報）人体結石の無機成分について。日本化学誌, **74**, 506~510, 1953.
- 7) 三宅 博：胆石症。金原書店，東京，1970.
- 8) Sutor, D. J. & Wooley, S. E. : X-ray diffraction studies of the composition of gallstones from English and Australian patients. Gut, **10**: 681~683, 1969.
- 9) Sutor, D. J. & Wooley, S. E. . A statistical survey of the composition of gallstones in eight countries. Gut, **12** : 55~64, 1971.
- 10) 久本信幸：胆石の組織化学的研究。福岡医誌, **54** : 507~529, 1973.
- 11) 亀田治男，千原呉郎，山本幸子：赤外線吸収スペクトルによる胆石の分析，その臨床的応用。最新医学, **13** : 445~468, 1958.
- 12) 亀田治男：胆嚢，胆道疾患の臨床的研究，とくに赤外線吸収スペクトル分析法による研究成果について。内科, **6** : 543~555, 1960.
- 13) 内山 郁，渡辺 融，紀本静男：X線マイクロアナライザー。日刊工業新聞，東京，1974.
- 14) 須賀 昭：X線マイクロアナライザーによる生物組織，特に硬組織の研究。歯学, **55** : 217~224, 1967.
- 15) 川西 弘，庄内芳春：X線マイクロアナライザーの医学領域への応用。医学のあゆみ, **63** : 154~159, 1967.
- 16) 水平敏和，天川孝則：腎の電子顕微鏡的組織細胞化学と生理機能。日本臨床, **30** : 1307~1321, 1972.
- 17) 水平敏和：電顕像における構造と機能。化学の領域(増刊), **105** : 45~74, 1974.
- 18) Suzuki, N. . On black pigment of gallstones with special reference to comparison with bilirubin derivatives. Tohoku J. Exp. Med., **85** : 396~405, 1965.
- 19) Suzuki, N. : On bilirubin-metal complex compounds in relation to black pigment of gallstones. Tohoku J. Exp. Med., **90**: 195~205, 1966.
- 20) Suzuki, N. : On black pigment of gallstones with special reference to difference from melanin. Tohoku J. Exp. Med., **85**: 238~247, 1965.
- 21) 和田 攻：微量重金属の代謝とその異常。病気の化学, **20** : C, 46~74, 1973.
- 22) Advances in Chemistry 100 "Bioinorganic Chemistry." Amer. Chem. Soc., Washington, D. C., 1971.
- 23) Erlinger, S. and Dhumeaux, D. : Mechanisms and control of secretion of bile water and electrolytes. Gastroenterology, **66** : 281~304, 1974.
- 24) Bochs, H. L. : Gastroenterology, Vol. III, 575, 1965. W. S. Saunders, Co., Philadelphia & London.
- 25) Lichtwitz, L. : Experimentelle Untersuchungen über die Bildung von Niederschlägen in der Galle. Deutsh. Arch. Klin. Med., **92** : 100~108, 1907.
- 26) Tera, H. : Stratification of human gallbladder bile in vivo. Acta Chir. Scand., Suppl., 256, 1960.
- 27) Markkanen, T. & Aho, A. J. : Metabolic aspects of trace metal content of gallstones and gallbladders, Acta Chir. Scand., **138** : 301~305, 1972.
- 28) Sutor, D. J. & Wooley, S. : The nature and incidence of gallstones containing calcium. Gut, **14** : 215~220, 1973.
- 29) Lichtwitz, L & Boce, Fr. : Der Kalkgehalt der Galle und Bedeutung der Gellensteine. Deutsh. Med. Wshr. **41**: 1215~1217. 1915.
- 30) Peel, A. A. F. : Chemische Untersuchungen über Gallensteine für der Frage der Cholelithiasis. Hoppe. Z. Physiol. Chem., **167**: 250~284 1927.
- 31) 榎 哲夫：肝，胆道疾患の外科。金原書店，東京，1974.
- 32) 橋本武夫：胆汁の水素イオン濃度およびカルシウム量の消長に関する研究。弘前医学, **7** : 323~330, 1956.
- 33) Mc Call, M. : Calcium bile. A chemical and pathological study. Amer. J. Med. Sci., **203** ; 413~419, 1942.
- 34) Nishimura, M. : Über die chemische Zusammensetzung der Gallensteine. J. Biochem., **28** 265~292, 1938.
- 35) 三宅 博，他：胆石生成機序に関して，特にWelch 菌を中心として，最新医学 **14** ; 3088~3102, 1959.
- 36) Nakamura, Y. : The influence of bacteria in the formation of gallstones. An experimental study on the changes of bile constituents and the role of Clostridium Welchii in the stone formation. Kyushu J. Med. Sci., **10** : 157~172. 1958.
- 37) 吉牟田直：胆汁内におけるコレステロール溶存に及ぼす諸因子について。福岡医誌, **51** : 510~528, 1960.
- 38) Palmer, R. H. & Hrubon, Z. : Production of bile duct hyperplasia and gallstones by litho-

- cholic acid; J. Clin. Invest., **45**: 1255~1267, 1966.
- 39) Beckmann; Med. Welt, 1485, 1931. (広瀬隆之: 医学研究; **27** 1046~1057, 1957より引用)
- 40) Tera H. :, The passage of calcium into the gallbladder through its wall., Acta Chir. Scand., **120**: 358~365, 1961.
- 41) 藤田映四, 福田 正: 胆石の形成に対する重金属の態度に関する実験的研究. 実験消病, **10**: 709~711, 1935.
- 42) 釜本四郎: 胆色素石の形成と銅の關係. 病理紀要, **7**: 749~755, 1930.
- 43) 横山 保: 胆色素石形成に対する銅の意義, 第一編, 実験的胆色素石形成と胆嚢胆汁所見並びに全身症状の觀察. 日外会誌, **36**: 1983~2118, 1935.
- 44) 横山 保: 胆色素石形成に対する銅の意義; 実験消病, **10**: 708~709, 1935.
- 45) 横山 保: 胆色素石形成に対する銅の意義; 日外会誌, **38**: 96~139, 1937.
- 46) 釜本研一: 胆石の成因に関する知見補遺; 実験消病, **13**: 1733~1743, 1938.
- 47) 瀬木研一: 同上, **14**, 415~422, 1939.
- 48) Christensen, F & Dam, H: Alimentary production of gallstones in hamster, III. Acta Physiol. Scand., **31**, 75~82, 1954.
- 49) Christensen, F. & Dam, H.: Alimentary production of gallstones in hamster, IV. Acta Physiol. Scand., **36**: 329~336, 1954.
- 50) 小笠剛一: 胆道系感染諸細菌に依る胆汁酸代謝並びに胆汁内金属イオンの胆石生成に及ぼす影響; 福岡医誌, **53**: 274~303, 1972~1973.
- 51) 井上朝生: 胆石内胆汁色素及び金属成分に関する研究; 福岡医誌, **58**: 741~762, 1967.
- 52) 太田直一: 生体内における無機成分の研究 (第4報), 人体結石, 人血および臓器中の鉄およびマンガン含量について; 日本化学誌, **76**: 590~593, 1955.
- 53) 久次武晴: 人胆石の崩壊に関する研究. 医学研究, **29**: 1773~1787, 1959.
- 54) Cikrt, M. . Biliary excretion of  $^{203}\text{Hg}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{52}\text{Mn}$  and  $^{210}\text{Pb}$  in the rat; Brit. J. Indust. Med., **29**: 74~80, 1972.
- 55) Gerlach, W. : Zur Chemie der Konkreme, Verhandlungen der Deutschen Pathologischen Gesellschaft. **27**: 277~282, 1934.
- 56) Cikrt, M. & Tichy, M. . Polyacrylamide gel disc electrophoresis of rat bile after intravenous administration of  $^{52}\text{MnCl}_2$ ,  $^{64}\text{CuCl}_2$ ,  $^{203}\text{HgCl}_2$  and  $^{210}\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ . Experientia, **28**, 383~384, 1972.