

機関番号： 32620
 研究種目： 基盤研究 (B)
 研究期間： 2008～2010
 課題番号： 20390352
 研究課題名 (和文) 減黄過程中的の δ ビリルビン濃度の推移とアルブミン半減期および機能肝細胞総量との関連
 研究課題名 (英文) Alteration of delta-bilirubin concentration during biliary drainage and its relationships with plasma half-life of albumin and functional hepatocyte mass in patients with obstructive jaundice
 研究代表者
 今村 宏 (IMAMURA HIROSHI)
 順天堂大学・医学(系)研究科・准教授
 研究者番号： 00283268

研究成果の概要 (和文)：閉塞性黄疸症例に対する減黄処置中の δ および非 δ ビリルビン分画の消失の半減期はそれぞれ 13.6 および 2.4 日であった。肝ミクロソーム機能の指標であるアンチピリン、アミノピリンクリアランスは、閉黄により低下しているが減黄処置後速やかに回復した。他の肝機能の指標は穏やかな回復を示すものから、閉黄による影響を受けないものまで様々であった。減黄前のアンチピリンおよびアミノピリンクリアランス値と減黄効率には強い相関が認められ、同様の傾向が減黄後のクリアランス値との間にも認められた。また減黄中の胆管炎の合併や胆汁の腸肝循環の有無などが減黄効率に影響を与えていた。

研究成果の概要 (英文)：Plasma half-lives of delta and non-delta bilirubin fractions in patients with obstructive jaundice undergoing biliary drainages were 13.6 day and 2.4 day, respectively. Antipyrine and aminopyrine plasma clearances, which are indicators of liver microsomal function, were deteriorated by the obstructive jaundice but recovered rapidly after the biliary drainage. Other parameters of liver function showed wide range of alterations, i.e., from unaffected to moderate degree of deterioration, by the jaundice and also showed wide ranges of chronological changes during drainage. The half-lives of delta and non-delta bilirubin fractions showed close correlations with antipyrine and aminopyrine plasma clearances before the drainage and similar relationships were found with values of these clearances after the drainage. The episode of cholangitis during the drainage period and the absence of entero-hepatic circulation of the bile prolonged the half-lives of bilirubin fractions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
年度			
年度			
2008 年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2009 年度	2,800,000	810,000	3,610,000
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
総計	7,200,000	2,130,000	9,330,000

研究分野：肝胆膵外科、臨床薬理学、肝再生、肝阻血再灌流傷害

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 消化器外科学

キーワード：閉塞性黄疸、減黄、デルタビリルビン、アンチピリンテスト、アミノピリンテスト、プレアルブミン、ヘパプラスチンテスト、胆管炎

1. 研究開始当初の背景

閉塞性黄疸は肝臓・腎臓をはじめとする臓

器障害を惹起し、手術の危険度を上昇させる。下部胆管癌症例などに対しては術前減黄処

置を行わず一期的に手術を行うことが欧米では一般的であるが、肝門部胆管癌（高頻度に閉塞性黄疸を伴う）では、広範囲の肝切除が根治術に必要であり術後不全の危険が高く、減黄施行後手術を行うことが推奨されている。

減黄処置後の減黄過程は一般に血清のビリルビンの低下により観察され、また半減期により計測される減黄効率は閉黄による肝障害の程度を反映するとされている。しかし減黄期間中の肝機能の回復過程について、さらに減黄効率がどの程度閉黄による肝障害や減黄中の肝機能の回復を反映した指標となっているかについての詳細な検討はされていない。

一方閉黄症例の血清ビリルビン分画の多くは、抱合型ビリルビンが血中でアルブミンと不可逆的に共有結合した δ ビリルビンとして存在することが知られている。 δ ビリルビンは蛋白結合しているため理論上細胞毒性を持たない。また尿中、胆汁中に排泄されず、アルブミンの代謝に伴い代謝されるため半減期は長く、これは減黄中の肝機能とは無関係な指標であると考えられる。すなわち減黄の実際は非 δ ビリルビンにより追跡されるのが妥当でその場合の減黄過程は現行の指標による場合よりも速やかであると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 実際の閉塞性黄疸症例を対象として減黄期間中の δ ビリルビンと非 δ ビリルビンの推移を検討した。同時に尿中のビリルビン排泄を測定しこれらの分画の推移が尿中ビリルビンによって推定できるかを検討した。

(2) 減黄期間中の肝機能の推移をアンチピリンクリアランス (Cl_{AN})、アミノピリンクリアランス (Cl_{AM})、アシアロ (^{99m}Tc -DTPA-galactosyl human serum albumin, GSA) シンチグラフィ、一般肝機能検査により追跡した。

(3) 症例の背景因子や減黄前の肝機能が減黄効率に及ぼす影響、また減黄効率と減黄後の肝機能との関係について検討した。

3. 研究の方法

(1) 減黄期間中の血清ビリルビン濃度、 δ ビリルビンおよび非 δ ビリルビンの分画、および尿中ビリルビン排泄の有無：減黄直前および減黄後 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 14, 17, 21 日に採血をして、血清のビリルビン濃度を通常の方法で測定した。さらに HPLC を用い

て δ ビリルビンおよび非 δ ビリルビンの分画を計測し総ビリルビン値と乗じて、それらの濃度を別個に算出した。これらの分画の血清中消失曲線から、それぞれの半減期を求めた。尿中ビリルビンの排泄は通常の方法で連日測定し、尿中にビリルビンの排泄が認められなくなる時点での非 δ ビリルビン濃度との関係を求めた。

(2) 減黄期間中の肝機能の推移：減黄直前、減黄処置後 7 日、減黄処置後 14 日または総ビリルビンが 2mg/dL 以下の計 3 点で下記の方法で評価した。

① Cl_{AN} および Cl_{AM} ：アンチピリンおよびアミノピリン各 400mg を経口投与し、2, 4, 6, 8, 12, 24, 48 時間後に各 2mL 採血をして、HPLC にて血漿中濃度を計測した。血漿中のアンチピリン濃度は以下の消失曲線をたどる。アンチピリン摂取後 t 時間後の血漿アンチピリン濃度) = $C_0 \times e^{-kt}$ 、 C_0 : t=0 の時の血漿アンチピリン濃度。

従って、 $Cl_{AN} = (k \times \text{投与量}) / C_0$ 。 Cl_{AM} も同様に算出する。

②血清胆汁酸濃度、プレアルブミン、ヘパプラスチンテスト：胆汁酸は Fas death 受容体を介して細胞融解や apoptosis を起こす細胞毒性の mediator である。プレアルブミン、ヘパプラスチンテストは short turn over のタンパクで肝機能の短期的な変化を反映する。これらは減黄前、減黄後 7 日、14 日目に計測した。

③アシアロシンチグラフィ：減黄前と減黄後 7 日に行なった(14 日は行わない)。核種を 0900 に静脈投与し、1400 に計測した。

(3) 減黄効率に影響を与える因子、及び減黄効率と減黄後の肝機能との関連：症例の背景因子および減黄関連の指標と、減黄効率の関連、また減黄前の肝機能の指標と減黄効率の関連を調べた。さらに減黄効率と減黄後 7 日目の肝機能の指標との関連を調べた。

4. 研究成果

(1) 減黄中の δ ビリルビンおよび非 δ ビリルビンの減少は一次指数関数的な減少曲線によってよく近似された。28 例中の δ ビリルビンの半減期は 13.6(7.7-63.0) 日であり、報告されているアルブミンの半減期(10-18 日)とはほぼ一致する。一方非 δ ビリルビンのそれは 2.4(0.7-18.7) 日であった。これらの半減期の差により減黄期間中の後半でのビリルビンの大半は δ ビリルビン分画によるものとなっていた(図 1)。

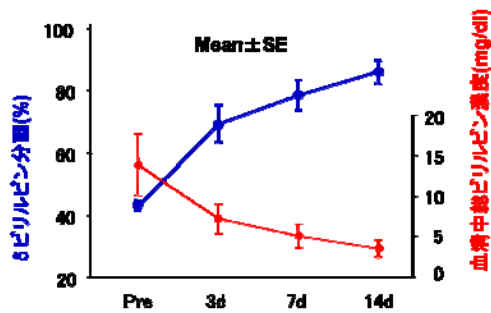


図1:減黄中の総ビリルビン濃度と δ ビリルビン分画の推移

理論上 δ ビリルビンは蛋白結合しているため尿中には排出されない。尿中のビリルビンが陰転化した時点での総ビリルビン濃度は 3.35 (0.9-8.3) mg/dL であり、非 δ ビリルビン濃度は 1.85 (0.5-3.9) mg/dL であった。尿中ビリルビンが陰転化した時点でも血中のビリルビンの相当量は非 δ ビリルビンであり、 δ ビリルビン分画の推移を尿中ビリルビン排泄から推定することは困難であると考えられた。

(2) ①図 2 および 3 に減黄中の Cl_{AN} および Cl_{AM} の推移を示した。

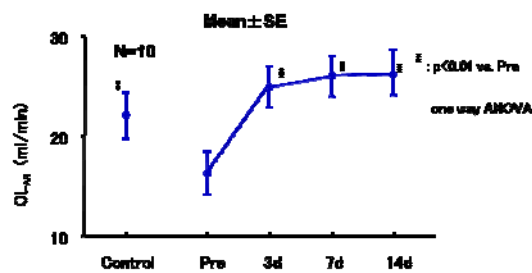


図2:減黄中の Cl_{AN} の推移

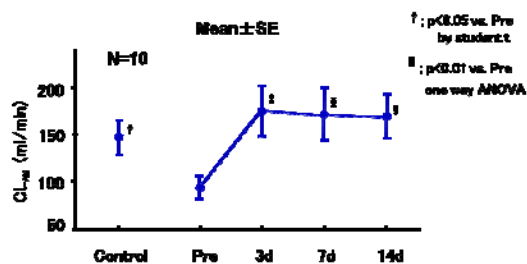


図3:減黄中の Cl_{AM} の推移

正常肝でのこれらの値の参照として年齢をマッチさせた転移性肝癌症例のこれらの値を control として並記した。減黄前は Cl_{AN} および Cl_{AM} は正常例に比べて 50-60%程度の値にまで低下していたが減黄術施行後急速に回復を示し 3 日後にはほぼ正常例と同様の値に復していた。その後はほぼ定常状態を示した。

(2)、③他の肝機能の指標の推移を表 1 に示

した。

表1:減黄期間中の種々の肝機能の指標の推移(Cl_{AN} および Cl_{AM} 以外)

	減黄前	減黄後7日	P*	減黄後14日	P*
血清中胆汁酸濃度(μ mol/L)	79.8 (1.7-342)	7.3 (0.1-35.1)	< 0.001	5.3 (0.6-36.3)	< 0.001
血清中プレアルブミン濃度(g/dL)	16.3 (7.4-24.9)	19.6 (4.9-32.8)	0.024	17.0 (4.2-33.9)	0.43
ヘパラスチンテスト値(%)	106.1 (38.6-150)	115.5 (78.2-150)	0.63	122.0 (76.6-150)	0.13
HH15(アジアロシンチグラム指標)	0.63 (0.52-0.72)	0.63 (0.51-0.70)	0.21	-	-
LHL15(アジアロシンチグラム指標)	0.91 (0.88-0.94)	0.90 (0.88-0.96)	0.51	-	-

中央値(範囲) *減黄前と比較

血清中胆汁酸は Cl_{AN} および Cl_{AM} と同様に減黄処置後速やかに低下し 7 日後にはほぼ正常値に到達する。プレアルブミンも緩徐ではあるが減黄後 7 日後まで増加していたが、その後は同様の値で推移した。これに対してヘパラスチンテスト、アジアロシンチグラムの指標 (HH15 および LHL15) は減黄期間中有意な変化を示さなかった。これらより以下のように結論される。肝機能は多岐の側面から構成されるが、閉塞性黄疸により傷害を受ける機能と比較的影響を受けない機能が存在する。また障害を受ける機能は、少なくとも今回の研究で検討された指標に関しては、減黄処置後急速に回復を示し、総ビリルビン値が完全に正常化する以前に(減黄後 3-7 日)でほぼ正常値にまで回復する。これらの機能の回復過程は半減期の短い非 δ ビリルビンの血中からの消失過程にほぼ一致する。これは蛋白結合をする δ ビリルビンは臓器障害をおこさず、臓器障害に寄与する toxic なビリルビンは非 δ ビリルビンであるとする理論的背景を支持する結果であった。

(3)表 2 に症例の背景因子および減黄の種々の指標と、減黄効率 (δ および δ ビリルビンの半減期) との関連を示した。関連の有意性は P 値によって判定したが、本研究は探索的な検討であることを考慮して $P>0.2$ の場合に明らかに関連がないと解釈して NS と記載した ($P\leq 0.2$ の際はそのまま P 値を記載した)。

表2: δ bil, non- δ Bilの半減期と種々の臨床的指標の関連

	δ Bil	non- δ Bil
年齢	NS	NS
性	NS	NS
担癌患者か	0.12	0.13
黄疸発症から減黄までの期間	NS	NS
片葉ドレナージか	0.13	0.20
胆汁腸肝循環ありか	0.82	0.01
減黄中の胆管炎の有無	0.09	0.02

注: $p<0.05$ の場合に赤字にした。

減黄の効率はドレナージが内(外)瘻法の場合、あるいは外瘻法でも回収胆汁を飲用して胆汁の腸肝循環が保たれていた場合の方が良好であり、また減黄中に胆管炎を経験する

と低下した。片葉ドレナージか否かは少なくとも強い影響を与えるものではなかった。減黄過程が遷延する(減黄不良)症例では周術期のリスクが高くなることは経験的に知られているが、一方で減黄中に胆管炎を繰り返すと術後胆管炎のリスクが上昇することが知られており、上記の経験的な事実は少なくとも部分的には減黄中の胆管炎の合併を反映した結果であるのかもしれない。

表3に減黄効率と減黄前の各種肝機能の指標との相関を示した。

表3: δ Bil, non- δ Bilの半減期と減黄前の各種肝機能の指標との相関

	δ Bil	non- δ Bil
Cl _{AN}	-0.82	-0.84
Cl _{AM}	-0.45	-0.37
血清中胆汁酸濃度	0.28	-0.19
血清中プレアルブミン濃度	-0.38	-0.12
ヘパラスチンテスト値	-0.34	-0.53
HH15(アジアロシンチグラム指標)	0.38	0.30
LHL15(アジアロシンチグラム指標)	-0.29	-0.07

注: Pearsonの相関係数で示し、絶対値>0.8(強い相関)を赤の太字、0.5-0.8(かなりな相関を認める)を赤字、0.2-0.5(やや相関がある)を橙字で示した。

閉黄により強い傷害を受け、一方減黄により急速に回復する肝ミクロソーム機能の指標であるCl_{AN}およびCl_{AM}の術前値とこれらの半減期は強い相関を示した。他の肝機能の指標との相関はばらつきがあり、Cl_{AN}およびCl_{AM}のそれよりは弱いものの同様の傾向を示した。総合的には閉黄により肝機能が低下していた症例ほど減黄が遅延すると解釈できる結果である。ただしこれらの相関については δ および非 δ ビリルビンの半減期のいずれかに特異的な関係を認めるものではなかった。

表4に減黄効率と減黄後7日目の各種肝機能の指標との相関を示した。

表4: δ Bil, non- δ Bilの半減期と減黄後7日目の各種肝機能の指標との相関

	δ Bil	non- δ Bil
Cl _{AN}	-0.48	-0.32
Cl _{AM}	-0.56	-0.45
血清中胆汁酸濃度	0.25	-0.09
血清中プレアルブミン濃度	-0.14	-0.09
ヘパラスチンテスト値	-0.27	-0.33
HH15(アジアロシンチグラム指標)	0.35	0.10
LHL15(アジアロシンチグラム指標)	-0.19	0.08

注: Pearsonの相関係数で示し、絶対値>0.8(強い相関)を赤の太字、0.5-0.8(かなりな相関を認める)を赤字、0.2-0.5(やや相関がある)を橙字で示した。

表3での検討と同様に減黄効率のよい症例では減黄後の肝機能も良好である傾向が伺われたが、 δ 非 δ ビリルビンのいずれかに特異的な関係ではなかった。これらの相関は術前

値のそれよりも弱く、表2での検討の結果(胆管炎の合併との関連等)も踏まえて解釈すると、減黄自体が行われていれば、減黄過程の長短によらず、低下した肝機能は回復する傾向にあることが伺われた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

1 Yamamoto K, Imamura H, Matsuyama Y, Kume Y, Ikeda H, Norman GL, Shums Z, Aoki T, Hasegawa K, Beck Y, Sugawara Y, Kokudo N. AFP, AFP-L3, DCP, and GP73 as markers for monitoring treatment response and recurrence and as surrogate markers of clinicopathological variables of HCC. J Gastroenterol 45:1272-82;2010.

2 Shindoh J, Imamura H, Kokudo N. Isolated sling suspension during resection of the Spiegel lobe of the liver: a safe alternative technique for difficult cases. J Hepatobiliary Pancreat Sci 17:359-364, 2010.

3 Mise Y, Imamura H, Hashimoto T, Seyama Y, Aoki T, Hasegawa K, Beck Y, Sugawara Y, Makuuchi M, Nakajima J, Kokudo N. Cohort study of the survival benefit of resection for recurrent hepatic and/or pulmonary metastases after primary hepatectomy for colorectal metastases. Ann Surg 251:902-909, 2010.

4 Kishi Y, Imamura H, Sugawara Y, Sano K, Kaneko J, Kokudo N, Makuuchi M. Evaluation of donor vasculobiliary anatomic variations in liver graft procurements. Surgery 147:30-39, 2010.

5 Kyoden Y, Imamura H, Sano K, Beck Y, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Value of prophylactic abdominal drainage in 1269 consecutive cases of elective liver resection. J Hepatobiliary Pancreat Sci 17:186-192, 2010.

6 Yamamoto K, Imamura H, Matsuyama Y, Hasegawa K, Beck Y, Sugawara Y, Makuuchi M, Kokudo N. Significance of alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin in patients with hepatocellular carcinoma undergoing hepatectomy. Ann Surg Oncol 16:2795-2804, 2009.

7 Hasegawa K, Imamura H, Ijichi M, Matsuyama Y, Sano K, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Inclusion of tumor markers improves the correlation of the Milan criteria with vascular invasion and tumor cell differentiation in patients with hepatocellular carcinoma undergoing liver resection. J Gastrointest Surg 12: 858-866, 2008.

〔学会発表〕（計 8 件）

- 1 Yamamoto K, Imamura H, Aoki T, Beck Y, Hasegawa K, Sugawara Y, Makuuchi M, Kokudo N. Significance of serum alpha-fetoprotein (AFP) and des-gamma-carboxy prothrombin (DCP) levels to identify treatment failure and contraindication for hepatectomy in patients with hepatocellular carcinoma (HCC). The 61th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, USA. 2010.11.2
- 2 Imamura H, Seyama Y, Inagaki Y, Tang W, Kokudo N, Makuuchi M. Intermittent clamping is more effective than ischemic preconditioning and its effect is more marked with shorter cycle of intermittent clamping in a rat model of ischemia/reperfusion injury. The 61th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, USA. 2010.10.31
- 3 Yamamoto K, Imamura H, Matsuyama Y, Tanaka M, Takahashi M, Ishizawa T, Hasegawa K, Aoki T, Beck Y, Sugawara Y, Makuuchi M, Kokudo N. Prognostic significance of alpha-fetoprotein (AFP) and des-gamma-carboxy prothrombin in patients with hepatocellular carcinoma (HCC) undergoing hepatectomy. The 60th Annual meeting of the American Association for the study of liver diseases. Boston, USA. 2009.11.3
- 4 Yamamoto K, Imamura H, Matsuyama Y, Ikeda H, Norman L.G, Shums Z, Aoki T, Hasegawa K, Beck Y, Sugawara Y, Kokudo N. A prospective study of measurements of four tumor markers in patients with hepatocellular carcinoma (HCC). The 60th Annual meeting of the American Association for the study of liver diseases. Boston, USA. 2009.11.3
- 5 Yamamoto K, Imamura H, Aoki T, Hasegawa K, Beck Y, Sugawara Y, Makuuchi M, Kokudo N. Clinical significance of production quantity of alpha-fetoprotein (AFP) and des-gamma-carboxy prothrombin (DCP) in patients with hepatocellular carcinoma (HCC). The 44th Annual meeting of the European Association for the study of liver. Copenhagen, Denmark. 2009.4.25
- 6 今村宏, 青木琢, 橋本拓哉, 菅原寧彦, 長谷川潔, 石崎陽一, 別宮好文, 國土典宏, 川崎誠治. 肝切除および肝移植症例における標準肝容積の再検討. 第 109 回日本外科学会. 福岡 2009.4.3
- 7 Imamura H, Aoki T, Hashimoto T, Sugawara Y, Hasegawa K, Beck Y, Kokudo N, Makuuchi M. Re-evaluation of standard liver volume (SLV) in patients undergoing living donor liver transplantation (LDLT) and liver resection.

American Hepato Pancreato Biliary Association
2009 Annual meeting. Miami Beach, USA
2009.3.14

- 8 Mise Y, Imamura H, Hashimoto T, Seyama Y, Aoki T, Hasegawa K, Beck Y, Sugawara Y, Makuuchi M, Nakajima J, Kokudo N. Comparison of result of hepatic and lung resection to recurrences after first hepatectomy to liver metastases of colorectal origin. American Hepato Pancreato Biliary Association 2009 Annual meeting. Miami Beach, USA. 2009.3.13

〔図書〕（計 2 件）

- 1 Imamura H, Hashimoto T, Kokudo N, Makuuchi M. Recurrent colorectal cancer: Repeated liver resections. In: Lipska L, Visokai editors. Recurrent colorectal cancer-the complex treatment from the surgical point of view, GRADA Publishing, Prague: 289-301, 2009 (In Czech).
- 2 Imamura H, Seyama Y, Kokudo N, Makuuchi M. Sequential TACE and PVE for HCC Venous Embolization of the Liver: Radiological and Surgical Practice. In: Madoff DC, Makuuchi M, Nagino M, Vauthey JN editors, Springer. in press.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今村 宏 (IMAMURA HIROSHI)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号：00283268

(2) 研究分担者

青木 琢 (AOKI TAKU)
東京大学・医学部・講師
研究者番号：30302722

(3) 研究分担者

百瀬 敏光 (MOMOSE TOSHIMITU)
東京大学・医学部・准教授
研究者番号：20219992