

## コレステロール系遺残結石に対する直接溶解剤 としてのテルペン系製剤に関する研究

九州大学医学部第1外科学教室

五十君 裕 玄 久 次 武 晴

### STUDIES ON THE DIRECT SOLUBILIZER OF TERPENE PREPARATION FOR CHOLESTEROL RETAINED GALLSTONES

Hirotsune IGIMI and Takeharu HISATSUGU

First Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japan

術後コレステロール系遺残結石に対する直接溶解剤として d-limonene を主成分とする薬剤を開発し、基礎実験においてコレステロールの溶解力と安全性を確認したのち臨床応用において著効を認めたので報告する。d-limonene に少量の界面活性剤を添加することで胆汁と均一なエマルジョンを作りやすくし、術後総胆管ドレインより注入して用いるが、術中取り出し得た胆石を *in vitro* で本剤中に浸漬して遺残結石に対する溶解力を推定し得た症例に対しては確実な効果をあげることができ、注入期間中臨床生化学検査において特に問題点はなかつた。なお本剤は既存の医用カテーテルを変質させるため全く新しいカテーテルを同時に開発した。

#### 序 論

胆石症の手術適応に関する意見は、内科と外科の立場に応じて分れているが、大別すると、外科学そのものの進歩により術後成績が著しく向上したことから、術前に何らかの胆道系合併症を伴う胆石症の手術は成績が極めて悪くなることから、積極的に手術をすすめる意見<sup>1)</sup>と、一方、胆石症は局所疾患ではなく全身性疾患の結果であるとして外科的根治療法はあり得ないとする意見<sup>2)</sup>や、無症状胆石のまま経過する症例の多いことから胆嚢切除後症候群の可能性を考えればむやみに手術をすべきでないという意見<sup>3)</sup>がある。しかしながら胆石症手術適応のうち急性重症胆嚢炎や胆嚢穿孔、または閉塞性黄疸を伴う症例などの絶対的手術適応以外は、医師各人の判断にまかされているのが現状である。

ここで胆道系疾患の治療を細かく考えてみると、つぎの6項目に分類することができる。

- 1) 結石そのものに対する治療
- 2) 閉塞性黄疸に対する治療
- 3) 急性、慢性の炎症に対する治療
- 4) 疼痛に対する治療
- 5) ジスキネジーに対する治療

#### 6) 肝臓機能庇護

これらのうち3)から6)までは内科的治療の対象となりうるけれども、1)と2)については多くの研究者の努力にもかかわらずいまだ手術以外の治療法が確立されていない。最近、Danzinger, Hofmann<sup>4)5)</sup>らがケノデオキシコール酸の内服により胆嚢内結石の消失ないしは縮小を報告しているが、著者らの動物による毒性実験<sup>6)</sup>からは無視できない問題点が多く、今後の研究に待たねばならない。そこで依然として外科的治療にたよらねばならないのであるが、手術自体の成績が向上してもなお諸家により術後障害が報告されている<sup>7)8)</sup>。この胆嚢切除後症候群のうち再手術を必要とする症例の約3分の2は肝内または総胆管結石であつて、いわゆる術後障害の主役をなすものは術後遺残結石であるといえる。

三宅ら<sup>9)</sup>は遺残結石を防ぐために表1のような基準をもうけて、積極的に総胆管切開を行い胆管内の精査をした後に胆管ドレナージを施行しているが、術後全身状態の回復もなり、退院への確実な一歩を踏みだすために胆管ドレインから造影剤を注入して、いわゆる術後胆管造影をしてはじめて遺残結石を認めたときの医師と患者の心中は決しておだやかではない。そこで誰もが考えるこ

表1 総胆管切開の適応(三宅)

1. 総胆管の拡張肥厚(直径1 cm以上)
2. 黄疸の現存もしくは疼痛を伴った黄疸の既往歴
3. 拡張胆嚢管または胆管に胆嚢管が短縮し直角に開口しているとき
4. 胆管炎
5. 頻回の発作
6. 肝の硬変
7. 脾の硬変または炎症
8. 胆嚢内の小結石の存在(特に多発性)
9. 胆嚢管切断端に結石, 胆泥の存在
10. 総胆管に結石を証明するとき
11. 総胆管結石の疑いがあるとき
12. 胆嚢の瘢痕萎縮または奇型
13. 胆管内回虫迷入

とは胆管ドレーンを経由して薬剤を注入するか, 機械的な方法で結石を小さくして十二指腸乳頭部か胆管ドレーンからの排出を可能にする方法である。

機械的方法に関する報告のおもなものは, 薬剤でオジジ筋を弛緩せしめたうえで胆管ドレーンから生理的食塩水などを注入しその圧力により排出せんとするものか<sup>7)</sup>, 胆管ドレーン内腔を通過しうるバスケットカテーテルやバルーンカテーテルを開発してこれにより結石を除去する方法などが考えられている<sup>8)9)</sup>。しかしながらこのような機械的胆石除去法では胆管内圧上昇, 胆管そのものの損傷および乳頭部裂傷などの根本的な未解決問題を残すものと考えられる。つまり純粋に物理的な方法のみでは遺残結石自体にほとんど変化を与えないが故に, 結石の大きさおよび硬さによつて決定的な限界を招き来してくることは明らかである。

そこで遺残結石に対する直接溶解剤の研究開発の重要性が改めて認識される。

教室ではすでに, ビルビン系石に対してのみ胆道系でいわゆるヘキサメタリン酸ナトリウム溶液の局所応用を行い, キレート効果による溶解につづく崩壊という久次の研究<sup>10)</sup>に基づいた臨床応用が確立されているが, 結石の金属含有率などにより効果が異なる点と薬剤の安定性の上で, 未だいくつかの問題を残している<sup>11)</sup>。

一方コレステロール系遺残結石に対しての従来の研究には, 1930年代に Pribram<sup>12)</sup> や Best<sup>13)</sup> らが胆管ドレーンからエーテルやクロロホルムまたはそれらの混合有機溶剤を注入して結石の溶解を試みたものが有名で, 最近でも苦肉の策として本法を用いた報告があるが, これらの非水溶性有機溶剤は生体異物反応が激烈であり, その副作用に関する報告<sup>14)</sup>も多く無視できない問題がある。さらにまた, このような非水溶剤は胆汁と決して混合す

ることなく分離してしまう性質を有する結果, 胆石表面に確実に接触し, 浸透してゆきたいという決定的な欠点も併せもつている。そこで胆汁中のコレステロールがレンチン・胆汁酸ミセルに溶存されているという理論に着目し, 胆汁酸塩水溶液や胆汁酸塩およびレンチン混合ミセル溶液を胆道系に注入した例もみられる。しかし, これらの試みはいずれもかなりの長時間にわたつてはじめて成績が得られるものであり, 最近の Admirand らの報告<sup>15)</sup>でも機械的除去法に対する補足的な使用にとどまつている。また遊離の胆汁酸は刺激作用が強く, 副作用を無視しうる濃度での可溶化力の有効性には疑問が残る。

その他に全く考え方の異なるものとして, B. Gardner の報告<sup>16)</sup>がある。彼はヘパリンの物理化学的性質としてコロイド溶液である胆汁の界面動電位を増加させることによつて遺残結石の崩壊を企てているが, 胆汁の界面動電位を上昇させることが胆石崩壊にどのような結果をもたらすかについては, 単に臨床例についての報告があるのみで *in vitro* で証明されていず, 著者らが人工コレステロール石で試みた限りではヘパリンを加えない胆汁との間に有意の差はみられなかつた。

そこで著者らは, 新しい胆道系コレステロール系石に対する直接溶解剤の系統的な研究開発に着手して, コレステロールのような極性の低い物質を溶解し, かつ胆汁のような水溶液とも自由に混合しうる薬剤として双極性非プロトン溶剤について検討した<sup>17)</sup>が, この種の化合物では脱水作用が強く, 刺激性の点で問題が多かつた。

そこで, 水と不溶の化合物であつても粘性が低く, 界面活性剤の添加により容易に油中水のエマルジョンを作ることができ, さらに毒性, 刺激性の点で問題を生じないような化合物について検討していくうちに, 精油成分であるテルペンに目をつけ, Monoterpene と Sesquiterpene が目的にかなうことを発見した<sup>18)</sup>。

このうち物理化学的性質において, 一応臨床応用可能と考えられる29種のテルペンについてコレステロール溶解力と急性毒性実験とを検討していくうちに, d-p-mentha-1,8-diene 一般名 d-limonene が特にすぐれていることを見出した。そこで製剤化にあたり胆汁と均一なエマルジョンを作るために, 界面活性剤の添加についても種々検討を加えた結果, 非イオン性界面活性剤で, 局方品の Tween 80と食品添加物の Span 80を7:3の割合で総量を, d-limonene に対し3 w/v %とすることより粘度を上げることなしに胆汁と安定なエマルジョンを作ること成功した<sup>19)</sup>。なお d-limonene は, G L C 上単一ピークで99.0%以上のものを使用し, 上記製剤を仮称G

A—100とした。

さらに溶解動態における類似化合物との比較、急性、1カ月間の亜急性、6カ月間の慢性毒性実験、さらにd-limoneneの9位の炭素をラベルして代謝、吸収、分布、排泄を検討した。またG A—100を使用する際に必要な医用カテーテルとして商品名リフトンカテーテル(Epichlorohydrine Rubber)を開発して、臨床応用を指向し、充分なる効果を証明し得たので報告する。

#### 溶解実験

溶解という現象を検討していく上で、溶解過程を不均一系反応における固体表面からの分子の離脱の結果として考え、実験モデルを設定するために固体表面からの真の溶解と溶液中への拡散との2つの過程を考えた。

そこで一般に医薬品の溶解現象が拡散律速過程であることから、溶解パラメータの1つである溶解速度定数を求めるために、回転円盤法を採用し<sup>20)</sup>、d-limonene中で直径30mmの人工コレステロール石を用いて、攪拌速度を1200rpmまで上げ系の温度を10°Cまで下げて行つたが、どうしても拡散層を無視しようような結果を得ることはできなかつた。

このことよりd-limoneneの驚くべきコレステロール溶解力を知ることができたけれども、溶解実験としては速度論的に取り扱うことが困難なため、以後は飽和濃度だけを測定して現象としてとらえることに終つた。

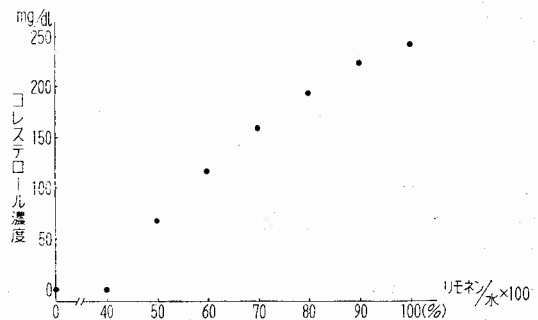
表2は、コレステロールの可溶性および溶解についていまままでに報告されているものと、d-limoneneとの飽和濃度における比較を示したもので、このことからd-limoneneが直接溶解剤としてエーテルやクロロホルムに比較しても充分な溶解力を持つていることがわかつた。なおd-limoneneの溶解機構については特別な反応などは考えられず、錬金術の時代からいわれている『似たものは似たものに溶ける』という言葉でしか説明することができない。

表2 種々の遺残結石溶解剤中のコレステロール飽和濃度(文献上臨床応用の報告があるものから)

溶解剤	飽和濃度(10mg/ml)
コール酸-Na	13.9 (37°C)
デオキシコール酸-Na	28.1 ( " )
ケノデオキシコール酸-Na (0.15M磷酸緩衝液, pH 8)	17.8 ( " )
犬の胆嚢胆汁	62.7 ( " )
d-リモネン	1670.0 ( " )
d-リモネン	1090.0 (25°C)
クロロホルム	2222.0 ( " )
エチルエーテル	3571.0 ( " )

実際に製剤化したG A—100を用いる場合には生体内の胆汁とエマルジョンを作るのであるから、油中水(w/o)の型であるときのみしか効果がないことは明らかで、理論的にはG A—100の水に対する割合が約40%になつてはじめて転相に移行するためのエマルジョンの破壊が考えられるけれども、実験によつて150rpmで攪拌しながら10分間たつたときのコレステロール濃度を調べると、図1のように水の濃度が増加するにしたがつて溶解効果の減少がみられた。このことは人間が注射器内で作りうる程度のエマルジョンでは、できるだけ高濃度のG A—100が直接コレステロール系石と接触する方が望ましいことを示している。

図1 円盤回転法による人工コレステロール石溶解実験 150rpm 10分間溶解時の濃度



つぎに *in situ* の実験<sup>21)</sup>として胆嚢内に人工コレステロール系石を挿入しても短期間ではほとんど変化をきたさない動物として、体重約30kgの正常成豚(Mini Japan)を選び手術時に胆嚢内にコレステロール系石を入れたうえで、コントロール以外にはG A—100を注入するために規定の如く胆嚢外瘻を作つて手術侵襲からの完全な回復を待たせた。G A—100を1回60ml, 7回注入した例では約2gのコレステロール系石が完全に溶解して、剖検時には胆嚢、胆管内に石のかけらさえ見つけなかつた。

1回40ml, 2回注入した例では胆嚢内にこまかく割れた結石が残つていて、人胆石のコレステロール溶解に伴う崩壊が認められた。なお同じ時間相経過したコントロールではコレステロール系石が形態的にも重量においても全く変化がなかつた。この実験に使用した動物の胆嚢、総胆管、肝臓、十二指腸、小腸、大腸、腎臓、副腎および胸骨髄に何らの病理学的異常所見がないことも確認し、実験前後の肝機能検査でも全く異常を認めなかつた。

とくにG A—100が直接接触した胆嚢、胆管については組織学的に詳しく検討したが、粘膜の変性や壊死などはみられず、粘膜下層の充血や抗炎症細胞の浸潤等もみられなかつた(写真1, 2)。

写真1 GA-100 1日1回40ml 2日間胆嚢内に注入後8日目の胆嚢粘膜組織で著変を認めない

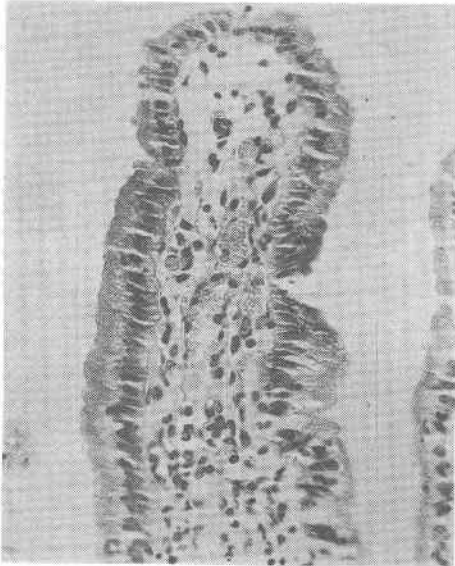
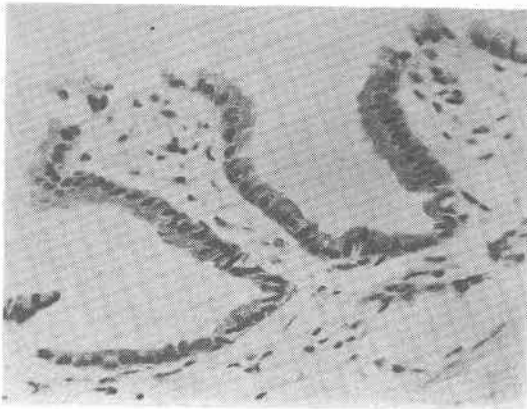


写真2 写真1と同じ条件における総胆管組織



毒性実験

急性毒性および一般薬理実験<sup>22)23)</sup>

マウス (ddN 系), ラット (Wistar 系) を用い, 経口 (p.o), 腹腔内 (i.p), 皮下 (s.c) および静脈内 (i.v) の各投与経路により d-limonene を投与し, 7日間の死亡率につき Litchfield-Wilcoxon 法により LD<sub>50</sub> および95%信頼限界を算出した (表3).

経口投与では投与直後は頻繁に rearing を示し, 次第に自発運動の抑制がみられ, 死亡例では筋弛緩を示していた. これはラット, マウスとも共通している. なお自発運動の抑制は3ml/kg投与からみられ中枢抑制作用を思わせるが, マウス雄の LD<sub>50</sub> が経口で5.6g/kgであることからほとんど問題にならないと考える.

腹腔内投与においてはマウス, ラットとも投与直後より stretching を示し, その後呼吸が緩やかになり, よろめくような歩行になつてチアノーゼを呈して死亡した.

皮下投与ではマウスは投与部位を後肢で掻く動作を繰り返す, ラットでは投与直後から啼鳴して, 時間の経過とともに歩行がよろめき呼吸が緩やかになつて立毛を呈した.

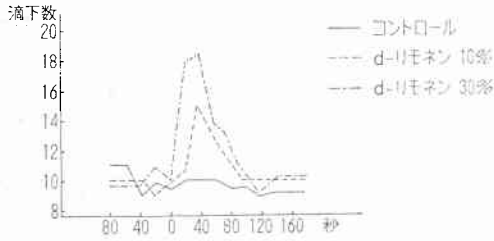
静脈内投与で LD<sub>50</sub> 値が極端に低いのは, d-limonene が油性であるために血中に浮遊して網様内皮系の臓器などに閉塞をおこすことも充分考えられるが, オリーブ油と比較するとその毒性は高く, 一般薬理実験でイヌ, ウサギとも0.015ml/kg以上の投与で極めて持続的な血圧下降と反射性と思われる呼吸抑制が観察された. しかし他の投与経路においては著明な血圧降下をおこすことが難しく, 毛細血管拡張実験でも軽度の拡張を示しただけにとどまつたことは興味ある問題と考え, 代謝実験において放射性物質を用いて検討を加えることにした.

一般薬理実験として, 平滑筋に対する反応については経口投与ともなる腸管輸送能は軽度に亢進したのみであつたが, 摘出回腸に関しては d-limonene の濃度に比例して収縮がみられた. しかしながらまことに興味深いことには, 図2の如くオッジ氏筋に対する作用は d-lim-

表3 d-リモネンの LD<sub>50</sub> 値

種	性	d-リモネンの LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)			
		経口	腹腔内	皮下	経静脈
マウス	雄	5600 (4800—6500)	1300 (1200—1500)	> 41500	
	雌	6600 (5500—7900)	1300 (1200—1500)	> 41500	
ラット	雄	4400 (3400—5900)	3600 (2700—4900)	> 20200	125 (93—168)
	雌	5200 (3900—7000)	4500 (3400—6600)	> 20200	110 (104—117)

図2 オッジ氏括約筋に対するd-リモネンの弛緩効果



onene 10%液 0.5ml および30%液 0.5ml 濃度に依存して弛緩を生ぜしめた。

つぎに刺激作用に関して実験をおこなったが、2.7~3.0kg雄性ウサギの眼瞼に点眼して漏れないように保持しながら観察したところ、しばらくの間、目を細めようとする動作を示したことと流涙が認められたのみで粘膜炎の充血すらもなかつた。また人間が口中に含んでもわずかにしびれ感があるのみで、健康な皮膚にいくら塗布しても何等刺激を感じることはないが、乱切を加えた上に塗布すると灼熱感を伴う刺激がありしばらく持続したのち、あとに炎症所見などを残さずことなく消退する。そのためもともと炎症などのある皮膚に対しては刺激があるものと考えられるし、粘膜に対しては軽度とはいえ刺激作用があることは確実に臨床応用に対して充分注意せねばなるまい。その他試行した一般薬理実験で骨格筋収縮作用、利尿作用、唾液分泌作用、局所麻酔作用などは認められなかつた。

亜急性および慢性毒性実験<sup>23)</sup>

Sprague Dawley 系ラット (S P F) を用いて、気温 22±2℃、湿度50±5%の無菌室で飼育し、固型飼料 (CE-2、日本クレア)、水道水を加熱滅菌して自由に摂取させた。

d-limonene を亜急性実験としては1日1回30日間、慢性実験としては6カ月間経口投与した。コントロールは水に界面活性剤を添加したただけのものである。一般症状としては拘攣、流涎、Grooming が観察された以外は著しい毒性症状は認められなかつた。

体重の推移に関しては、図3~6に示すように最大投与量で中等度の成長抑制が認められたのみで、摂水量が最大投与量で増加の傾向を示したが、摂餌量では差が認められなかつた。また性差についても特別の変化はなかつた。

尿検査所見(表4、5)ではコントロールとのあいだに有意の差を認め難く、一般血液検査(表6、7)では雌雄および投与期間の区別なしに赤血球数、白血球数、

図3 雄ラット亜急性毒性実験(30日間)における体重変化

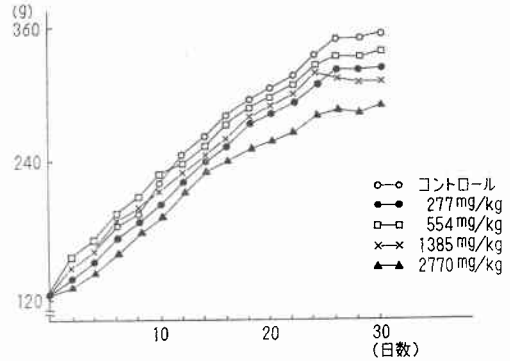


図4 雌ラット亜急性毒性実験(30日間)における体重変化

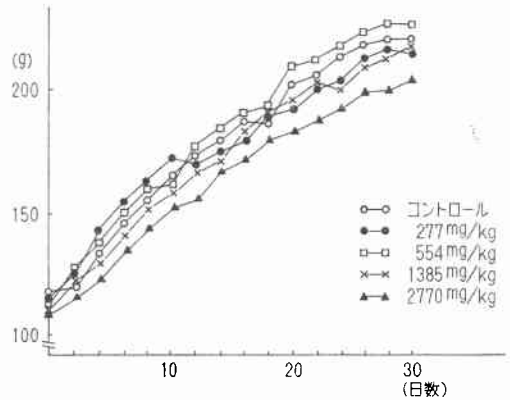
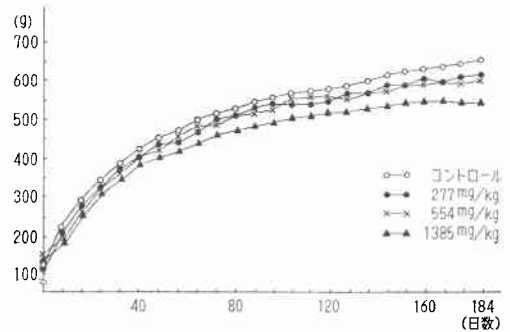


図5 雄ラット慢性毒性実験(6カ月)における体重変化



Hb, Ht, 白血球分画はコントロールとの間に有意差が認められず、d-limonene が血中に移行して赤血球被膜溶解による溶血現象がocこりうる可能性はないものと考え

る。血液の生化学検査(表8、9)においてもコントロールとの間に亜急性および慢性実験で有意の差を認めてい

表4 尿検 (ラットに d-リモネン30日間投与後)

性	グループ (mg/kg)	動物数	pH			蛋白				潜血	ケトン体	糖	ビリルビン	ウロビリノーゲン		
			6.0	7.0	8.0	—	±	+	±					+	+	
雄	コントロール	5	1	4	0	0	3	2	—	—	—	—	2	3	0	
	277	5	3	2	0	4	1	—	—	—	—	2	2	1		
	554	5	4	1	0	3	2	—	—	—	—	5	0	0		
	1385	5	5	0	0	0	1	4	—	—	—	3	2	0		
	2770	5	5	0	0	0	3	2	—	—	—	4	1	0		
雌	コントロール	5	2	3	0	1	3	1	—	—	—	—	3	2	0	
	277	5	3	2	0	1	3	1	—	—	—	—	2	1	2	
	554	5	3	2	0	0	5	0	—	—	—	—	0	3	2	
	1385	5	3	1	1	2	3	0	—	—	—	—	1	2	2	
	2770	5	5	0	0	0	5	0	—	—	—	—	0	3	2	

表5 尿検 (ラットに d-リモネン6カ月間投与後)

性	グループ (mg/kg)	動物数	pH			蛋白				潜血	ケトン体	糖	ビリルビン	ウロビリノーゲン		
			6	7	8	—	±	+	+					±	+	+
雄	コントロール	5	0	3	2	0	1	3	1	—	—	—	—	5	0	0
	277	5	3	1	1	0	0	2	3	—	—	—	—	5	0	0
	554	5	3	2	0	0	0	2	3	—	—	—	—	5	0	0
	1385	5	5	0	0	0	0	2	3	—	—	—	—	5	0	0
雌	コントロール	5	0	3	2	1	1	3	0	—	—	—	—	5	0	0
	277	5	0	3	2	1	3	1	0	—	—	—	—	5	0	0
	554	5	4	1	0	0	2	3	0	—	—	—	—	4	1	0
	1385	5	4	0	1	0	5	0	0	—	—	—	—	4	0	1

表6 血液一般検査 (ラットに d-リモネン30日間投与後)

性	グループ (mg/kg)	赤血球 (10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	白血球 (10 <sup>2</sup> /mm <sup>3</sup> )	Ht (%)	Hb (g/dl)	白血球分画 (%)				
						Lymph.	Neut.	Mono.	Eo.	Ba.
雄	コントロール	811±46	112.0±21.3	46.5± 1.8	15.7± 0.5	87.2± 2.9	8.3± 2.4	3.7± 1.2	0.8± 0.7	0.1
	277	819±64	113.4±26.2	45.0± 1.4	15.2± 0.5	86.8± 5.2	9.1± 4.3	3.3± 1.4	0.7± 0.6	0
	554	820±75	122.5±31.5	46.3± 1.8	15.7± 0.6	86.5± 4.1	9.6± 3.6	4.0± 1.6	0.8± 0.8	0.1
	1385	904±38	103.8±25.3	48.6± 1.0	16.3± 0.5	84.3± 7.0	10.4± 6.8	4.6± 1.6	0.8± 0.6	0.2
	2770	863±73	85.3±28.5	47.3± 1.0	16.4± 0.6	75.6± 6.7	17.7± 6.4	5.9± 1.3	0.8± 0.7	0
雌	コントロール	778±52	71.2±19.7	42.2± 1.1	15.0± 0.7	86.3± 4.6	10.5± 3.9	2.2± 0.5	0.9± 0.9	0.1
	277	772±43	80.0±24.1	43.6± 1.3	15.5± 0.4	85.4± 3.9	11.4± 4.4	2.3± 1.2	0.9± 0.8	0
	554	844±85	77.8±14.0	44.8± 1.8	15.6± 0.6	83.8± 4.5	7.8± 5.0	2.3± 1.5	0.6± 0.8	0
	1385	765±66	64.5±17.7	43.6± 2.4	15.1± 0.8	90.2± 3.8	6.9± 2.5	1.8± 1.2	0.6± 0.7	0
	2770	795±66	67.6±14.9	43.0± 1.1	14.9± 0.5	90.0± 5.6	7.2± 5.7	2.3± 1.3	0.6± 0.7	0

±: 標準誤差

表7 血液一般検査(ラットに d-リモネン6カ月間投与後)

性	グループ (mg/kg)	赤血球 (10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	白血球 (10 <sup>2</sup> /mm <sup>3</sup> )	Ht (%)	Hb (g/dl)	白血球分画(%)				
						Lymph.	Neut.	Mono.	Eo.	Ba.
雄	コントロール	590±133	62.1±13.0	46.0±0.7	16.0±0.5	79.3±10.3	14.2±9.3	4.4±1.4	1.5±0.9	0.5
	277	680±158	70.9±12.7	43.9±1.6	15.6±0.5	90.3±3.9	6.3±2.8	2.2±1.5	1.6±0.7	0
	554	786±109	75.0±22.8	44.8±1.4	15.9±0.5	85.6±3.7	9.0±3.7	4.4±0.7	1.0±0.6	0.2
	1385	877±154	75.6±14.2	44.0±1.2	15.3±0.3	86.3±2.3	8.4±2.7	3.9±1.7	1.3±0.7	0.1
雌	コントロール	767±123	53.8±7.8	44.1±2.6	15.8±0.9	82.7±5.0	10.3±3.5	5.3±2.3	1.8±0.7	0
	277	701±148	54.9±11.4	43.2±1.3	15.6±0.6	82.6±6.1	11.6±5.8	4.6±1.8	0.9±0.6	0.3
	554	701±82	64.4±26.0	42.0±1.0	15.8±2.2	84.2±5.3	11.6±4.7	3.2±1.4	1.3±0.6	0
	1385	704±182	70.0±12.0	42.4±1.1	15.1±0.3	89.4±2.9	6.4±2.4	3.6±0.7	1.0±0.5	0.1

±: 標準誤差

表8 血清生化学的検査(ラットに d-リモネン30日間投与後)

性	グループ (mg/kg)	総蛋白 (g/dl)	A/G	GOT (K-unit)	GPT (K-unit)	アルカリ フォスフ ァターゼ (K-A unit)	ビリルビン (mg/dl)	総コレステ ロール (mg/dl)	糖 (mg/dl)	BUN (mg/dl)
雄	コントロール	6.0±0.3	1.01±0.17	128.0±5.8	42.8±6.9	40.0±6.8	0.68±0.12	79.3±9.2	198±23	27.4±1.3
	277	6.1±0.3	0.89±0.16	116.7±23.8	38.3±2.5	38.2±6.0	0.50±0.09	75.3±13.0	191±18	26.7±2.3
	554	5.8±0.3	0.93±0.14	118.9±12.7	35.5±3.5	38.4±10.0	0.46±0.07	65.6±11.1	177±18	28.3±4.3
	1385	6.3±0.4	0.83±0.20	117.4±17.5	33.6±4.1	36.7±11.0	0.45±0.05	64.7±12.3	165±22	25.4±3.8
	2770	6.3±0.3	1.05±0.17	121.4±17.7	35.1±5.1	37.9±12.9	0.51±0.07	61.0±9.9	153±17	22.8±3.6
雌	コントロール	5.5±0.4	1.23±0.28	97.7±15.4	34.0±5.1	31.4±9.5	0.37±0.10	83.0±10.3	181±16	23.6±3.1
	277	6.0±0.5	0.91±0.21	101.3±15.4	36.4±8.8	27.1±10.3	0.31±0.11	39.0±12.9	172±18	24.3±3.0
	554	6.3±0.5	0.73±0.11	89.7±18.1	37.2±6.8	28.7±8.0	0.38±0.09	84.4±13.2	161±12	23.1±1.7
	1385	6.2±0.4	0.60±0.12	84.1±7.2	36.4±6.9	26.6±9.3	0.34±0.10	75.1±12.3	179±50	24.5±7.7
	2770	6.2±0.4	0.66±0.07	83.0±5.5	41.2±9.5	30.7±14.9	0.43±0.11	73.1±8.2	161±12	20.2±3.7

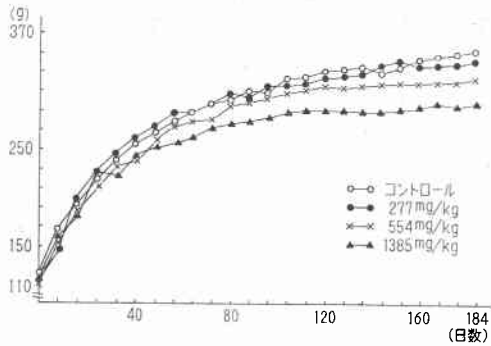
±: 標準誤差

表9 血清生化学的検査(ラットに d-リモネン6カ月間投与後)

性	グループ (mg/kg)	総蛋白 (g/dl)	A/G	GOT (K-unit)	GPT (K-unit)	アルカリ フォスフ ァターゼ (K-A unit)	ビリルビン (mg/dl)	総コレステ ロール (mg/dl)	糖 (mg/dl)	BUN (mg/dl)
雄	コントロール	6.0±0.2	0.95±0.24	138.8±33.6	69.8±17.9	29.1±9.0	0.42±0.12	76.3±14.5	211±54	23.0±3.6
	277	6.8±0.9	0.83±0.12	134.9±27.8	43.8±9.1	23.2±3.8	0.45±0.19	86.0±15.1	189±36	24.9±3.1
	554	6.3±0.2	0.61±0.12	122.2±12.5	46.8±9.0	20.6±5.3	0.44±0.12	77.5±10.2	196±8	24.4±5.1
	1385	6.5±0.4	0.66±0.08	116.1±31.7	37.9±3.9	20.2±7.4	0.46±0.08	76.0±13.5	210±26	26.1±3.7
雌	コントロール	6.8±0.5	0.74±0.16	110.7±22.1	41.7±8.48	13.7±3.4	0.58±0.14	86.2±13.5	154±36	21.9±1.9
	277	6.9±0.3	0.72±0.26	101.9±16.4	34.1±2.6	9.1±5.4	0.46±0.08	80.4±14.1	180±28	23.6±3.0
	554	6.7±0.6	0.68±0.11	90.3±18.0	21.3±2.4	11.0±4.4	0.40±0.08	86.6±17.6	181±46	21.1±3.9
	1385	6.8±0.4	0.80±0.18	120.5±51.4	26.5±4.8	16.7±8.6	0.41±0.11	76.4±16.9	204±35	17.9±3.1

±: 標準誤差

図6 雌ラット慢性毒性実験(6ヵ月)における体重変化

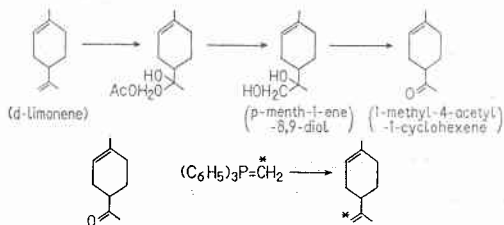
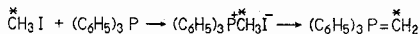


ないが、人間における正常値と比較するとGOT, GPT, 血糖の値が、やや高値を示した。また各臓器の組織所見でも毒性を示す積極的な所見は認められていない。

代謝実験<sup>24)25)</sup>

代謝に関する実験を行うにあたり d-limonene の放射性標識化合物を図7に示す方法を用いて合成した。つまり<sup>14</sup>C-Methyl iodide と Triphenyl-Phosphine から Methyl-<sup>14</sup>C-Triphenyl Phosphonium iodide をへて、<sup>14</sup>C-Methylene Phosphoran を合成し、一方 d-limonene を四酢酸鉛でグリコール開裂を行い、1-Methyl-4-Acetyl-1-cyclohexeneを合成して、この両者より目的の<sup>14</sup>C-d-limonene を合成した<sup>26)</sup>。

図7 放射性d-リモネンの合成法



はじめに本物質の生体内代謝を検討するために雄兔(albino, 3~4kg)を用いて上記の<sup>14</sup>C-d-limoneneを800mg/kg経口投与を行い、図8に示す方法を用いて尿中の代謝産物を抽出し、薄層クロマトグラフィーにかけてラジオ薄層スキャンerおよびアニスアルデヒド試薬を噴霧することなどにより、代謝産物と思われるスポットを検出した。さらにこの代謝産物をカラムクロマトグラフィーにより、分離、精製し、元素分析、Mass, NMR, IR などにより、つぎに示す6種の代謝産物の構造を決定して図9の代謝経路を考えた。

図8 尿中代謝物の分画法

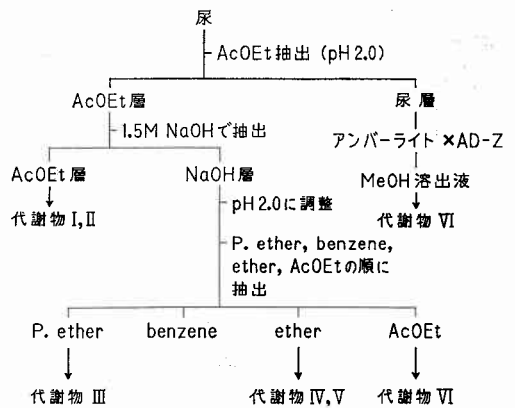
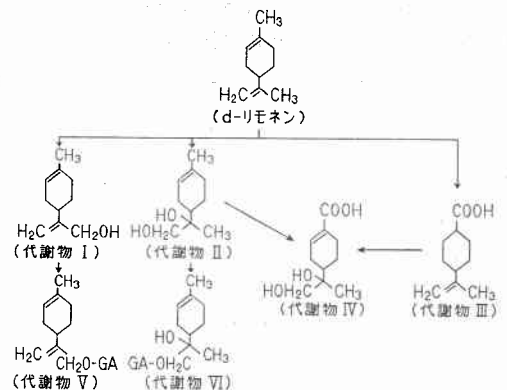


図9 d-リモネン代謝経路



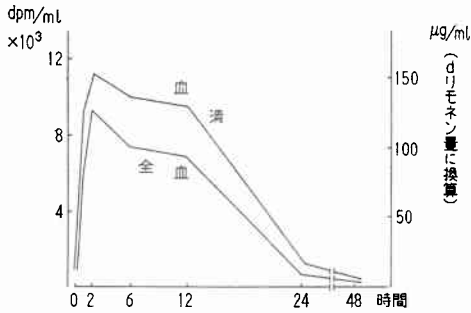
- (1) p-mentha-1,8-dien-10-ol
- (2) p-menth-1-ene-8,9-diol
- (3) Perillic acid
- (4) Perillic acid-8,9-diol
- (5) p-mentha-1,8-dien-10-yl  $\beta$ -D-glucopyranosid uronic acid
- (6) 8-hydroxy-p-mentha-1-en-9-yl  $\beta$ -D-glucopyranosid uronic acid

また吸収、分布、排泄については<sup>14</sup>C-d-limoneneを1群3匹のWistar系雄ラットに800mg/kg(4.15 $\mu$ Ci/rat)を経口投与して0.5, 1, 2, 6, 12, 24, 48時間後に単径部の動静脈を切断して放血致死せしめ、血液、各種臓器および実験時間内に排泄された尿や糞などについて検討を加えた。血中濃度については投与後2時間で最高となり、以後約10時間高値を維持し、その後徐々に減少する。また血液中の放射能は大部分が血清中に存在していた(図10)。

放血致死せしめたラットの各種臓器を摘出して放射能



図10 放射性 d-リモネン投与後の血中放射能の経時的変化



雄ウイスター系ラットに放射性 d-リモネン 800 mg/kg 投与

を測定した結果、各時間ともに肝臓、腎臓および血液中に分布量が多く、他の臓器ではいずれの時間でも 0.2% 以下の分布量であり、どの臓器についてみても 1~2 時間で最高となり、48時間後には肝、腎、血液にごく少量の放射能を認めるだけで他の臓器ではほとんど痕跡程度になっていた (表10)。また、各臓器の放射能濃度は、肝、副腎、腎で比較的高く、他の臓器では血液の値と同等か、やや高い程度であつた (表11)。なお血液量は体重の 6% として計算し濃度は dpm/μl で示した。ついで尿、糞、呼気および胃腸管内容物からの回収率を経時的に測定したところ、48時間で約60%が尿に、約5%が糞中に排泄され、呼気中にも若干の排泄がみられた (表12)。

なお総胆管にカニューレを挿入してラットにおける胆汁からの放射能の排泄をみたところ <sup>14</sup>C-d-limonene 経口投与後24時間で投与量の25%が排泄されており、糞中に5%しか排泄されていないことを考えると腸管内で再

表10 放射性 d-リモネン投与後における臓器への分布

時間	0.5	1	2	6	12	24	48
組織	(投与放射能に対する%, ウイスターラット3匹の平均値)						
脳	0.07	0.18	0.12	0.11	0.04	0.01	0.00
心臓	0.03	0.06	0.05	0.06	0.03	0.00	0.00
肺臓	0.03	0.09	0.06	0.08	0.03	0.00	0.00
胸腺	0.01	0.04	0.03	0.03	0.02	0.00	0.00
肝臓	1.16	2.47	1.46	1.28	0.91	0.18	0.03
脾臓	0.00	0.03	0.03	0.05	0.02	0.04	0.00
副腎	0.01	0.02	0.04	0.02	0.00	0.00	0.00
腎臓	0.12	0.24	0.32	0.29	0.15	0.04	0.11
辜丸	0.03	0.19	0.09	0.01	0.01	0.00	0.00
血液*	0.33	0.73	1.78	0.96	0.89	0.09	0.04

\* 血液量は体重の 6% として計算した

表11 放射性 d-リモネン投与後における各臓器中濃度

時間	0.5	1	2	6	12	24	48
組織	(dpm/mg ウイスターラット3匹の平均値)						
脳	4.0	12.4	7.6	7.7	6.5	0.4	0.0
心臓	4.0	10.5	7.5	7.6	3.9	0.3	0.0
肺臓	3.1	12.5	5.7	8.1	4.3	0.2	0.0
胸腺	2.9	10.7	4.5	8.4	2.9	0.2	0.0
肝臓	17.0	45.1	22.2	20.0	15.1	3.1	0.4
脾臓	2.7	7.3	4.8	5.5	3.1	0.4	0.0
副腎	16.3	42.4	77.3	49.8	18.0	2.3	0.7
腎臓	8.4	21.6	21.8	21.3	17.4	2.8	0.4
辜丸	1.8	12.0	5.4	9.0	3.8	0.4	0.0
血液*	2.5	5.6	9.0	7.3	6.9	0.7	0.2
血清*	4.1	9.3	11.4	9.9	9.5	0.9	0.3

\* dpm/μl

表12 放射性 d-リモネン投与後の排泄物及び胃腸管内容物放射能の経時的変化

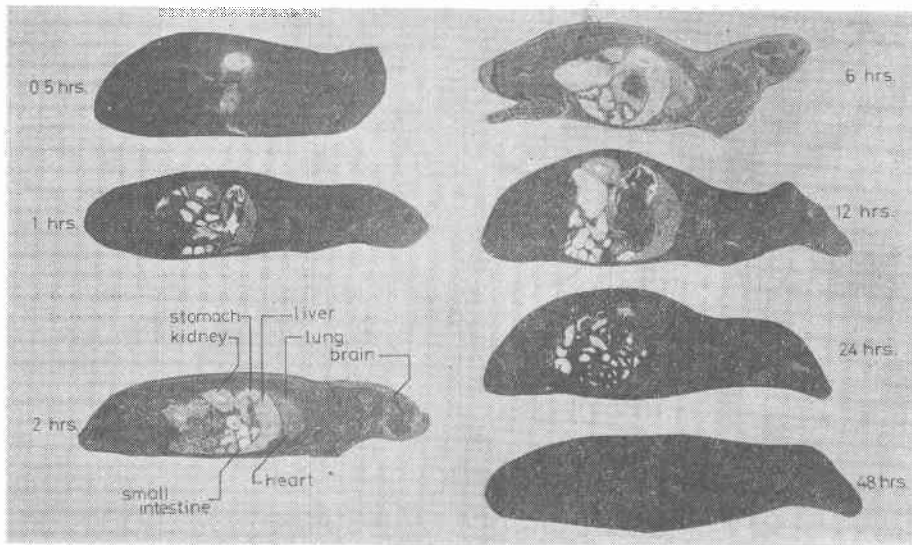
時間	0.5	1	2	6	12	24	48
排泄物	(投与放射能に対する%, ウイスターラット3匹の平均値)						
尿	0.5	1.5	5.4	14.4	45.5	50.3	58.5
糞	0.0	0.0	0.0	3.9	6.1	5.4	5.1
炭酸ガス	0.1	0.2	0.3	0.8	1.1	1.4	1.8
胃及其内容物	73.5	60.7	47.7	38.8	1.9	2.6	0.0
小腸	15.6	26.8	16.4	7.3	7.7	3.4	0.1
盲腸	0.6	1.7	1.3	8.8	15.7	4.1	0.2
大腸	0.1	0.2	0.7	1.9	0.3	0.5	0.0
合計	90.4	91.1	71.8	75.9	78.3	67.7	65.7

吸収されて、いわゆる腸肝循環がおこっていると推定される。

7匹のラットを用いて <sup>14</sup>C-d-limonene を 800mg/kg (40.1μCi/rat) 経口投与し、0.5, 1, 2, 6, 12, 24, 48時間毎に1匹ずつエーテル麻酔した上で、アセトン・ドライアイス中で凍結して松岡の方法<sup>27)28)</sup>に準じて全身ラジオオートグラフィーを作製したが、写真3に示すように、0.5時間では放射能は大部分胃に存在し、1時間経過して肝、腎に認められるようになり2時間たつと放射能は全身に分布する。その後次第に放射能は減少し、24時間後では腸管以外では腎に若干の放射能が認められる程度となり、48時間後には腸内にごく少量の放射能が検出されるだけで他の部分には認められない。

なお、最近有吉ら<sup>29)</sup>がd-limoneneの薬物代謝酵素活性に対する影響について報告しているが、d-limonene 400 mg/kg、15日間雄ラットに経口投与しても、マイクロゾー

写真3 放射性リモネン経口投与によるラジオオートグラフィー



(雄ウィスターラット 800mg/kg 40.1 $\mu$ Ci/rat)

ムの aminopyrine demethylase, aniline hydroxylase, ナクローム P<sub>450</sub>, b<sub>5</sub> 含量などに対する誘導効果は認められなかつた。

#### GA-100使用時の医用カテーテルの開発<sup>30)31)</sup>

GA-100のコレステロールに対する溶解力が大きいことを知るとき、つぎに問題となるのは直接溶解剤として用いる時の器具に対する影響であり、とくに総胆管ドレーンとして用いられている医用カテーテルに対する影響である。実際に天然ゴム、シリコン、ポリエチレン、ビニールなどの材質をGA-100に浸漬しておくとき著明な膨潤を見、脆弱となるが、これは当然のことながらそれらの材質そのものを溶解するというだけでなく、可塑性を溶解することによつて変化させるためである。全く変化しない材質はテフロンのみであつたが、テフロンチューブはその物理的性質のために総胆管ドレーンとして用いることは不可能なために、種々の耐油性合成ゴムについてGA-100中の溶出試験、および過酷試験を行った末、CHR (Epichlorohydrin Rubber) に注目し、できるだけ現在用いている天然ゴムのTチューブやネラトンチューブと肌あいが似たチューブとして商品名リフトンカテーテルを試作する一方、Deutsche Normen DIN 58,366および第8改正日本薬局方に基ついて試験を行い、満足すべき結果を得た。

さらにウサギの筋肉内に埋め込み試験を行つたが周囲組織に化学的刺激による炎症反応などを認めなかつたため、臨床例において最高6カ月間胆道ドレーンとして生体内に留置したがとくに問題となるべき症状はなく、む

しろ今までの天然ゴムよりも生体異物反応は少ないような印象をうけた。

ただし、このチューブを使用する時に注意すべきこととして消毒法がある。現在ガス滅菌法の名でエチレンオキシドガスによる消毒法があるが、このチューブはエチレンオキシドと反応して脆弱となるためガス滅菌不可である。また煮沸およびオートクレーブ滅菌でも天然ゴムほどではないが、繰り返して行くと老化現象が早まるために、121 $^{\circ}$ C、30分消毒で約5回までとし、できたらディスポーザブルとして使用した方が望ましい。

#### 臨床応用<sup>32)</sup>

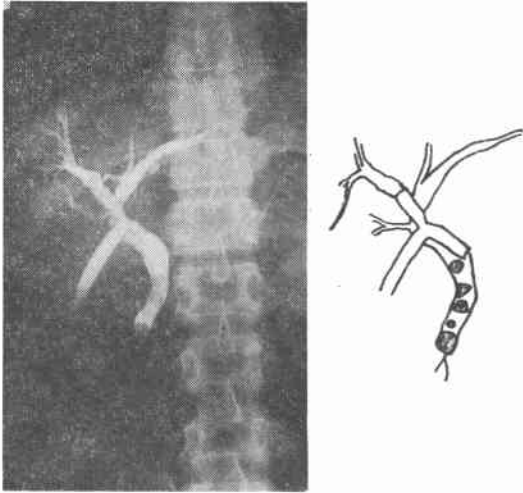
症例1. 36才、身長150cm、体重56kgの主婦

1968年頃より年に2~3回の発作性、痙攣様上腹部痛と嘔気、嘔吐があり、開業医にて胆石症の診断をうけるも発熱や黄疸なく、内科的治療をうけていた。

1972年3月黄疸を伴つた上腹部痛があり、胆嚢および胆管結石の診断のもとに直ちに某病院にて胆嚢摘出術、胆管切開および截石術、胆管ドレナージを受けて、術後10日目に術後胆管造影にて総胆管内の遺残結石を指摘され当院を紹介された。当院入院時右季肋部に総胆管ドレーンが留置され、1日約400~500mlの胆汁が排出されていた以外にとくに圧痛などもなく全身状態に特別な異常所見を認めなかつた。

臨床検査においても、肝臓機能検査においては胆管ドレーンが十分に効果を示し胆道閉塞の検査所見はなく、GOT 207, GPT 112と高値を示した以外は正常であつた。総胆管ドレーンから30%ウログラフィンを注入す

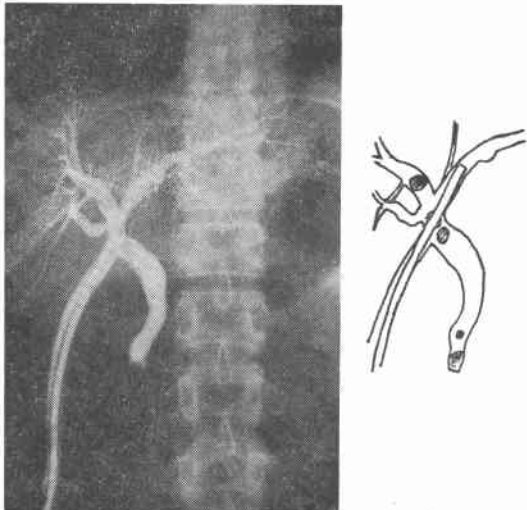
写真4 症例1術後10日目に行つた術後胆管造影で総胆管内に4個の遺残結石を認めた



るとTチューブの先端部に径5~15mmの結石が4個認められた(写真4)。

術後24日目、X線透視下にTチューブを抜去し、リフトンカテーテル(シャリエール9号)に先端から1cm毎に横穴を2個あけていれかえ、先端は左肝管に約0.5cm挿入した(写真5)。新しい胆管ドレーン周囲の肉芽が完全にあがって、ドレーン周囲から胆汁の漏出がなくなるまで6日間待った後にGA-100 5mlをゆつくり注入した。注入後ドレーンを閉鎖したところ心窩部痛と嘔気を訴えたため、15分後にドレーンを開放したが嘔気強く翌日になつても心窩部痛が残り38°Cの発熱があつた

写真5 Tチューブをリフトンチューブと交換し、先端が左肝内胆管に入っている。



め、肝機能および膵機能検査を行つたが尿中アミラーゼの軽度上昇以外にとくに問題とすべき変化はなかつた。患者の訴えが細胆管炎によるものと考え、胆管ドレーンの先端をX線透視下に十二指腸乳頭部の方向に向け(写真6)、一週間後に注入を再開した。GA-100 20mlを胆汁と入れかえるつもりで約30分かけてゆつくりパンピングしながら注入するに、とくに訴えはなく、注入後2時間ドレーンを閉鎖したが全く訴えはなかつた。しかし注入後6時間目に下痢がおこり、その時肛門部にヒリヒリする痛みを訴えたので温水で坐浴させたところしばらくして痛みは消退した。以後隔日に20ml注入するに6回目注入後数時間して急に右季肋部痛を訴え、約2時間で改善されたため、結石が乳頭部を通過した可能性を期待して胆管ドレーンから造影したところ、結石の数が2個になり明らかに結石の大きさも小さくなつていた。その後2回の注入で結石像は全く認められなくなり(写真7)、造影を数回繰り返して胆管内を精査した後胆管ドレーンを抜去して瘻孔が閉じた段階で退院した。入院期間中を通じて臨床検査においては肝機能のGOT、GPTはむしろ正常化し、注入期間中に尿中アミラーゼ値の軽度上昇をみたが、退院時には正常であつた。なお、退院後1年目の定期診察時には普通の家生活を送るに何ら支障となるべき自覚的および他覚的所見はなかつた。臨床検査でも全て正常値をしめし、DICでも胆管の変形や異常陰影は全く認められなかつた(写真8)。

症例2. 38才、身長153cm、体重45kgの主婦。

写真6 図11の方法を用いてリフトンチューブの先端を十二指腸乳頭部の方向にむけた。

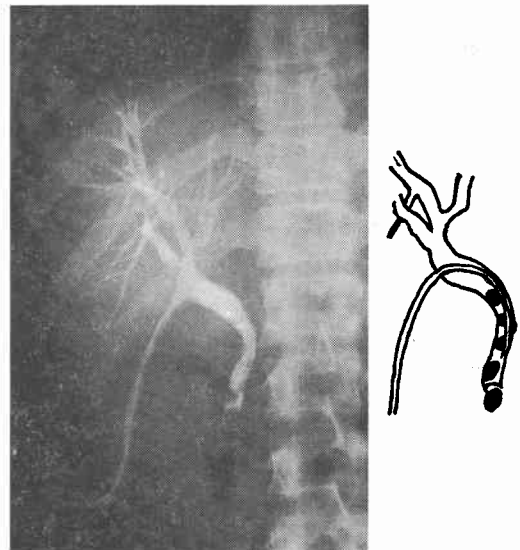
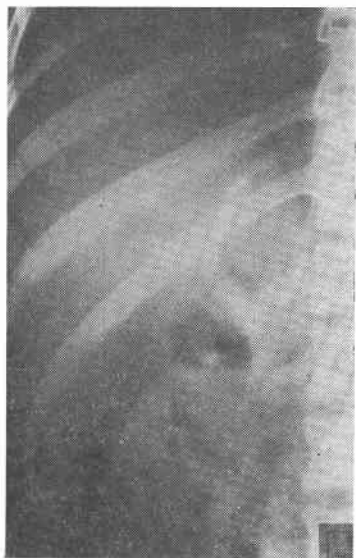


写真7 GA-100の注入により遺残結石は消失した



写真8 退院後6カ月目の点滴静注法による胆管造影であるが異常陰影は認められない。



1969年頃から春と秋に右季肋部疝痛発作を繰り返していたが、黄疸や発熱を伴うことはなかつた。某開業医にて胆道造影の結果胆嚢が造影されず、胆石症の診断のもとに手術をすすめられていたが放置していた。

1973年3月、悪寒、戦慄を伴う右季肋部疝痛発作をきたし、某開業医において右上腹部に圧痛を伴う表面平滑、境界明瞭な鶏卵大の腫瘤を触れ、白血球増多著明なため胆嚢蓄膿症の診断のもとに開腹手術を行つたところ、胆嚢は大人の拳大で漿膜は発赤、浮腫が強く、十

二指腸および肝十二指腸靱帯との癒着があり、同部にも浮腫が強く胆嚢胆管や総胆管を確認することができず、胆嚢摘除は危険と判断し、胆嚢切開の後約300個の胆嚢内結石を取り出し胆嚢外瘻を作つて手術を終つた。術後胆嚢ドレーンから毎日300~500mlの胆汁排泄をみ、術後15日目白血球数を含めて諸検査に異常を認めなかつたので胆管造影を行つたところ、総胆管内に遺残結石2個を認めた(写真9)。著者らに連絡があつたため、当開業医において遺残結石がコレステロール系石であることを確認の後、術後26日目に胆嚢外瘻のチューブをリフトンカテーテルと入れかえ、腰部高位にてその日から隔日毎、GA-100 20mlをゆつくり注入してその後約2時間ドレーンを閉鎖した。注入後嘔気、嘔吐、胆石発作様疝痛、下痢が4回目まであつたが、回を重ねる毎に訴えは少なくなり6回目以後は全く愁訴はなくなつた。注入12回目で結石像は明らかに小さくなり、注入19回目の造影で総胆管の結石は全く消失し(写真10)、造影剤の十二指腸への通過も良好であつた。なお、以上の経過中諸検査に異常を認めず、ドレーン抜去後1年目の現在は以前と变りなく農業に従事している。

症例3. 43才、身長173cm、体重74kgの男性。

1963年頃よりとくに誘因なく、時々右の季肋部痛があつたが、開業医からの投薬で軽減するため診断がつかないまま放置していた。1969年同様の症状があり某大学院で胆石症を指摘され、以後油物を食した後に背部へ放

写真9 緊急手術で胆嚢外瘻を作り術後15日目の胆道造影で総胆管内に2個の遺残結石を認めた。



写真10 GA-100 20ml 19回の注入で総胆管内の結石陰影は全く消失している。

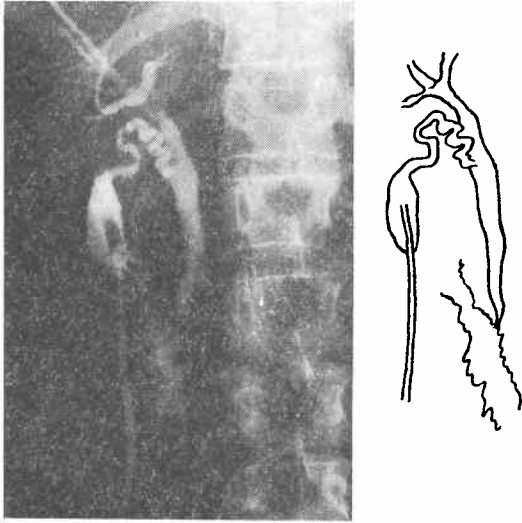
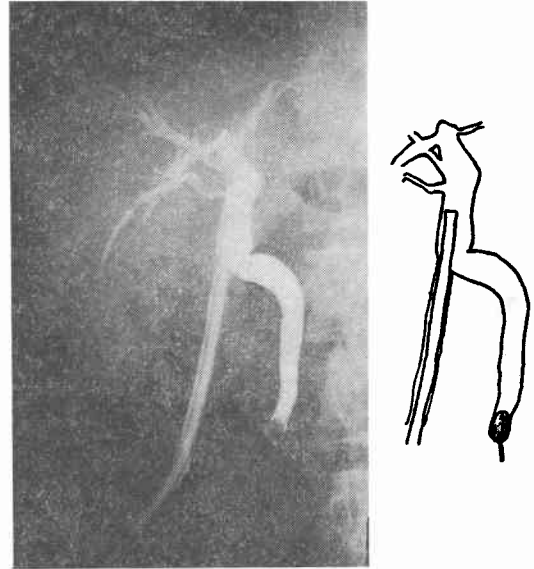


写真11 術後14日目の術後胆管造影で総胆管内に1個の遺残結石を認める。

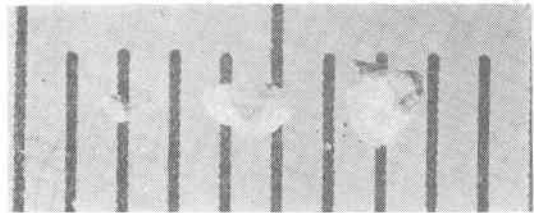


散する右季肋部痛が次第に激しくなり、そのたびに開業医で注射をうけていたが、手術をすすめられて東京の某大学病院で胆管結石の診断のもとに1973年10月手術をうけた。その時まで黄疸を来たしたことはない。

手術は胆嚢摘出術、胆管切開および截石術、胆管ドレーンで胆嚢内に結石はなく総胆管より結石1個を取り出し、胆道鏡、術中胆管造影などの精査後Tチューブを挿入された。

術後の経過は良好で胆汁排泄は300ml前後であつたため、術後2週間に術後胆管造影を行い総胆管末端に結石1個を認めた(写真11)。そのため十二指腸ファイバースコープで十二指腸乳頭切開を試みたが、結石の排出はできなかつた。術後1カ月目、著者らの所に術中取り出した結石の一部とレントゲンフィルムが送られてきたので、*in vitro*で溶解力を確認した後、リフトンカテーテルとGA-100を送附した。透視下で胆管ドレーン相リフトンカテーテルと入れかえ、5日後から腰部高位でGA-100の注入を行つた。15mlをゆつくりとパンピングしながら注入すると、直後から心窩部痛、冷汗、全身倦怠感があつたが、20分間位で自然に訴えがなくなり、同日夕方から胆管ドレーンからの胆汁に混じて結石の残渣が出はじめ、2日間は残渣の流出が続いたが(写真12)、以後は残渣を認めずまた胆汁流出も極端に少なくなつて胆管造影で結石の像は消失していた(写真13)。その後も2回GA-100を注入して、胆管を精査の上胆管ドレーンを閉鎖して約1週間、何の訴えもないことを確認の後、ドレーンを抜去した。

写真12 GA-100 20ml 1回の注入後胆管ドレーンより2日間にわたつて排出された小結石の一部



臨床生化学検査で術後一時上昇したGOT、GPTなどの肝機能検査値もGA-100注入にもかかわらず次第に正常化し、退院時には自覚的および他覚的に何等異常を認めなかつた。退院後、外来を訪れた時にも何等自覚的の症状の訴えはなかつた。

症例4. 50才、身長154cm、体重63kgの主婦。

1963年頃から年に数回、発熱、悪寒、戦慄を伴う右季肋部痛があり、胆道造影の結果、胆嚢および胆管に胆石を証明され手術をすすめられていたが放置していた。

1973年3月になつて右季肋部痛が続いたため、手術を希望して某病院外科に入院。その時まで黄疸の既応はない。

手術術式は胆嚢摘出術、胆管切開および截石術を行い胆道に遺残結石のないことを確かめ、さらに洗滌してTチューブを挿入留置した。術後胆管ドレーンからの胆汁流出が毎日500～600mlと多く、減少する傾向がない。

写真13 小結石排出後の胆管造影で結石陰影は消失している。

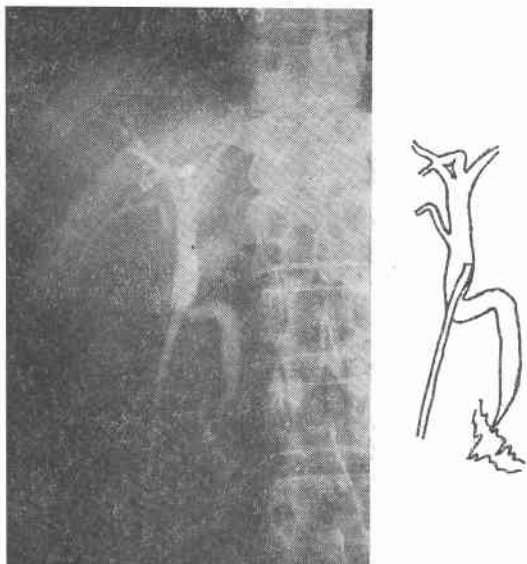
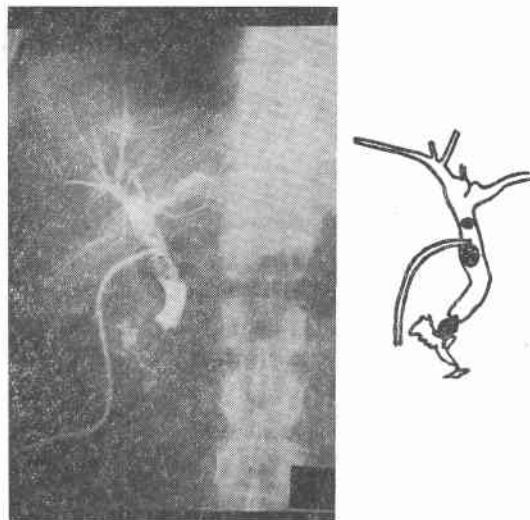


写真15 リフトンチューブとの交換時で遺残結石の像が明瞭に出ている。



ため10日目に術後胆道造影を行つたところ、十二指腸乳頭部に嵌屯した拇指頭大の結石とそれよりやや小さい結石4個が遺残していた(写真14)。

著者らへ連絡をうけ *in vitro* で術中に取り出した結石の溶解効果が確認できたのでTチューブを抜去し、リフトンカテーテルと交換した。リフトンカテーテル先端は十二指腸乳頭部の方向へ向け(写真15, 16)、チューブ入れかえ後5日目から隔日G A— 100 20mlをゆつくりパンピングしながら注入したが、その際吸引した胆汁は注射筒の低い部分にためてG A— 100との間に層を作

写真16 リフトンチューブ先端を嵌屯した結石の方向へ挿入

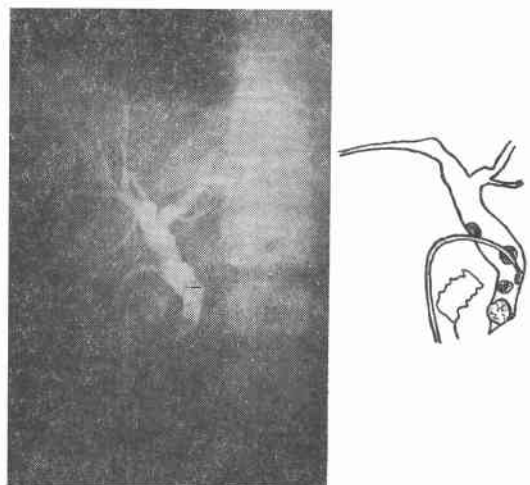
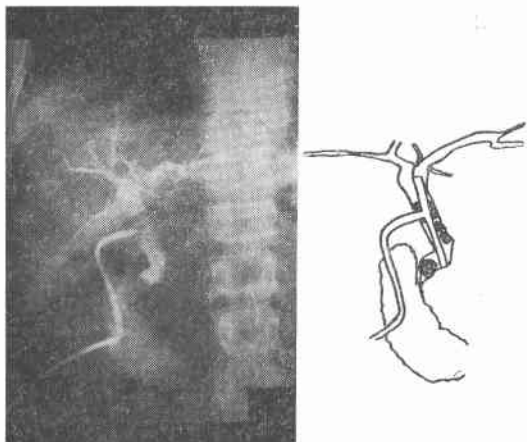


写真14 術後10日目の胆管造影で乳頭部に嵌屯した結石1個を含む、約4個の遺残結石を認めた。



り、特別な震動を加えないで油中水のエマルジョンだけをできるだけ時間をかけて注入した。以後30分~2時間ドレーンを閉鎖した。注入中からG A— 100の特有な臭いを訴えそれに伴う嘔気および心窩部の圧迫感があつた。なお注入後には下痢と共に肛門部の痛みを訴えたが坐浴により消退した。これらの訴えも注入の回を重ねる毎に少なくなり、注入後のドレーン閉鎖時間を延長することができた。14回の注入後も胆管ドレーンからいぜんとして500~600mlの胆汁排泄があるため、効果を疑い胆管ドレーンから造影剤を注入したところ嵌屯していた結石を除いて他の4個の結石像は消失していた(写真

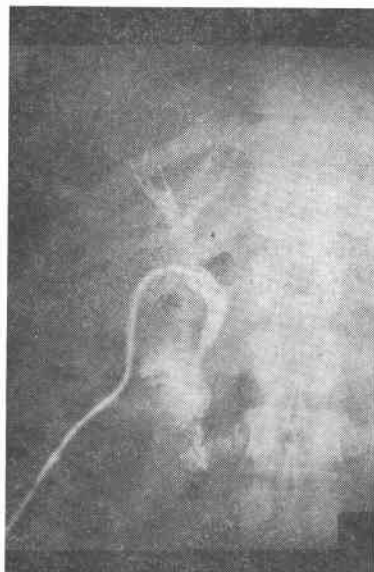


17).その後はGA-100が胆汁より比重が軽いことを利用して右側臥位、腰部高位の体位をとらせてできるだけGA-100が直接嵌屯結石に触れるようにした。21回注入後胆管ドレーンからの胆汁流出が減少したために胆管造影を行つたところ、十二指腸乳頭部に嵌屯していた結石もなくなり造影剤の十二指腸への通過は良好で胆管も細くなつていた(写真18)。

写真17 GA-100 20ml 14回注入後の胆管造影で嵌屯した結石を除いて結石陰影は消失している。



写真18 21回目の注入後嵌屯した結石の陰影も消失し、造影剤の十二指腸への通過も良好であつた。



以上の経過中肝機能、尿中アミラーゼを3日毎にチェックしたがとくに異常所見はなく、退院後1年6カ月の今日、元気に家事を行っている。

### 総括および結論

胆石症に対する治療の究極の目的はその原因を究明し予防することで、もし胆石の発生をみても胆嚢機能がそれほど侵されていない時期に発見し、経口又は経静脈的に胆石を生体内で消失させてしまうことであろう。しかしながら手術以外に根本的な治療法が存在しない現状において、直接手術を行う外科医の立場からのアプローチとしては術後愁訴をできるだけ少なくすることである。そのために著者らは術後愁訴の原因として大きな役割を占める術後遺残結石に対して非手術的な治療法を検討し、胆道局所に応用する直接溶解剤の研究を行い、最近コレステロール系石に著効を認める薬剤を開発することに成功した。

この薬剤GA-100は柑橘類に特有な芳香を与える化合物である *d-limonene* が主成分であり、人類はすでに古来より食用としてきたのであるから当然のことながら毒性は低く、代謝過程も速やかで、生体内蓄積などは全く考えられないものであるが、著者らの種々の基礎実験でもそのことを証明することができた。

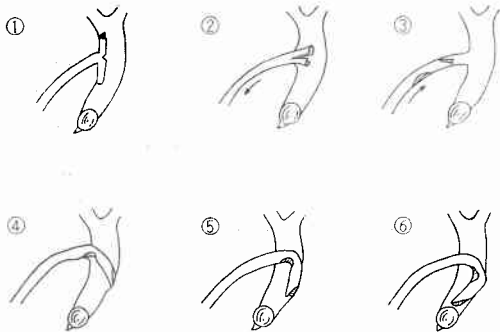
GA-100は *in vitro*, *in situ* の実験でコレステロール系石を容易に溶解し得ることから、実際にコレステロール系遺残結石を有する15症例について臨床応用を試みたところ、全例に対して遺残結石の消失をみる事ができた。ここで消失という言葉をあえて用いるのは、GA-100を注入したときの胆道内圧上昇や、一般薬理実験で認めたようにオッジ氏筋の弛緩などの要素が加わつて胆道系から腸管に排泄されたことも考えられるからである。しかしながら著者らが経験した1例(症例4)は遺残結石5個のうち一番大きいものが乳頭部に嵌屯していて、GA-100の注入により胆管内に浮遊していた石がまず消失し、最後に嵌屯した石が消失したことをレントゲン学的に証明し得た。また症例3においてはGA-100注入後、胆道ドレーンから写真12に示すような結石の微少残渣が流出してきている。これらのことから、少なくとも遺残結石自体に何等かの変化、例えば結石が小さくなつたり、表面が軟化した後に胆道系から排出されたものと考えている。

GA-100を注入するにあたり、必ず前もつて行わなければならないことは、前回の手術で得られた胆石を *in vitro* で溶解してみることである。37°Cに保たれたGA-100に浸漬した結石が経時的にどのような変化を示すかを観察し、生体内での結石とGA-100の接触時間

を推定しながら注入回数計画を立て、また溶解し得なかつた残渣について溶解前との重量比、形状および硬度について充分な検討を加え、時には化学分析や軟X線検査などを行つて緻密に適応を決定せねばならない。

つぎに注意すべきことは、GA-100は総胆管切開の後胆管ドレーンとして用いるTチューブのような天然ゴムや既存の医用カテーテルを変性させることで、必ずリフトンカテーテルと交換せねばならない。術後3週間以上すぎるとそれまで入つていた胆管ドレーンを造影剤を注入しながら抜去し、直ちに同じ径かやや小さめのリフトンカテーテルを挿入するが、この操作はほとんど困難を伴わない。またできるだけ高濃度のGA-100が直接胆石に接した方が効果が大きなることから、チューブの先端を遺残結石の方へ向ける必要があり、図11のような方法やリモートコントロールのできるガイドワイヤー等を用いている。しかしながら結石が遺残しそうな症例や術後GA-100で胆管内洗浄を行いたい症例にはあらかじめリフトンカテーテルを用いて胆管ドレナージを行い、いつでもGA-100を注入できるようにしておけばチューブ交換のわずらわしさがなくなる。なお、胆管ドレーンを入れかえた場合は少なくとも1週間はドレーンを開放して放置し、ドレーン周囲からの漏れがなくなるまで肉芽の形成を待つ必要がある。もし漏れがあるときにGA-100の注入を行うと、逆流によつて皮下組織を浸透し痛みを訴えて皮膚炎を起すことがありうる。

図11 総胆管ドレーン交換時の一工夫 胆管内に遺残結石を認め、①の如くTチューブによつて胆管ドレナージが行つてある場合、抜去して②、あらかじめ一定方向に屈曲しやすくしたリフトンチューブを遺残結石が存在する部位にむけて挿入する(③、④、⑤、⑥)



実際に胆道系へGA-100を注入するときに見られた副作用は、表13に示しているように右季肋部から前胸部にかけての圧迫感、時に熱感または痛みが多く、生理食塩水注入時と比較して単に胆道内圧上昇のためだけとは

表13 GA-100の副作用

右前胸部圧迫感	12	創部痛	3
右前胸部圧迫痛	6	創部皮膚炎	3
食欲不振	6	発熱	1
嘔気	4	全身倦怠感	2
嘔吐	4	嗜眠	1
下痢	3	肝機能低下	1
肛門部痛	2	脾機能低下	1

GA-100使用症例数 22 (コレステロール系遺残結石以外の使用例も含む)

考えがたく、著者らの経験ではチューブの入れかえ後、日があさかつたり、チューブ先端が胆管の一部を圧迫したりして、胆管内に炎症が考えられる症例においては訴えが激しかつたようである。つぎに多いのが十二指腸に排泄されたGA-100が胃に逆流し、特有の臭いを感じて嘔気を訴え、時に嘔吐があり、ひどいときは注入後約半日食欲不振を訴えた。さらに、乳頭部通過良好なる症例において急速に注入するとほとんど全例に下痢をおこし、その時肛門部の疼痛を訴えるが温水による肛門洗浄により容易に軽快する。以上のような注入後の訴えは、はたして真の副作用といえるかどうか疑問であり、注入の回を重ねる毎に訴えが少なくなることも事実である。これらの訴えは、GA-100の主成分が完全な炭化水素であることから当然吸収機構が速やかで、一般薬理実験で確認した軽度の刺激作用が症状として表面にあらわれてくるものと考えられる。そこであらかじめ局所麻酔剤を注入するか、他の無害の油性薬剤と混じて粘度を上げることで解決できる。

真の副作用として問題になるのは、まず血中に直接注入した場合、何らかの機転で心筋障害を惹起し、血管系の収縮にもかかわらず血圧が低下することであるが、消化管内投与においては血圧低下のデータは得られず、消化管からの吸収と血中濃度間に生理的機構が働いているものと考えられ、臨床例においてもGA-100の注入時に血圧の変化があつた症例を経験していない。しかしながら血中にGA-100が入ることは絶対に避けねばならない。

つぎに毒性実験から考えても、GA-100が腹腔内に直接注入された場合には化学的刺激性による腹膜炎を引きおこすので注意を要する。

また、胆管ドレーンから造影剤を注入して胆道系の異常を調べるときに膵管の造影が鮮明な症例にも注意すべきで Waldron<sup>39)</sup> が各種造影剤によつて膵管造影を行った結果、油性の造影剤による副作用を報告しているからであるが、著者らの現在までの経験で特に血中および尿



中アミラーゼ値の異常を認めた症例はなかつた。

GA—100の注入に際して著者らが用いている方法は、20mlを使用、胆道系の胆管ドレーン挿入部より排泄側に結石が嵌屯し、胆汁うづ滞を認める症例には注入前にできるだけ胆汁を吸引し、GA—100を胆汁と入れかえるつもりで注射器を用いてゆつくりパンピングしながら注入するが、GA—100の比重が1より小さいことを利用して注射器の一番低い所に胆汁を蓄え、その上の水中油と思われるクリーム状のエマルジョンも注入することなく、上層にある油中水の半透明なエマルジョンのみを注入する。その後胆道内圧が高まり患者の訴えがひどくない限り、30分から2時間ドレーンを閉鎖してGA—100と結石の接触時間を長くする。

なお、GA—100は d-limonene に Tween 系の非イオン性界面活性剤を加えて結石表面に d-limonene が接触しやすいようにしているので、激しく振動させれば当然のことながら、均一なエマルジョンになつてしまう。

遺残結石が乳頭部などに嵌屯せず、十二指腸への通過が良好な症例においてはパンピングができないので、結石の存在する部位をできるだけ高くして注射器か自動注入器を用いて20mlを30分以上かけて注入している。遺残結石が消失したことを確認するためには、透視下で胆管ドレーンよりできるだけ薄い造影剤を入れて圧迫を加えながら胆管造影を行つているが、嵌屯例では急に胆管ドレーンからの胆汁排泄量が少なくなるので目やすになる。

GA—100の注入により遺残結石の消失後、胆管ドレーンを抜去して退院、その後全く愁訴がなく1年後に定期診察を行い、点滴静注胆道造影(DIC)で総胆管の径が細くなり、変形を認めなかつたことは、GA—100の軽い刺激が胆道系の粘膜や粘膜下層に何ら不可逆的変化を残さなかつたことを証明できたと考えている。またこの症例について、血液一般、尿、便、肝臓、膵臓、腎臓機能検査を行つて何らの異常も認めなかつた。

今後の方向としては、臨床面では胆管ドレナージを行つていない遺残結石の症例に経皮経肝胆道ドレナージ(PTCD)を穿刺によつて行い、GA—100を注入することや、あるいは全く手術せずに始めからPTCDのみで胆道系に存在するコレステロール系石を溶解することである。また研究面ではコレステロール系石といつても純コレステロール石の頻度は低く、いろいろの成分の混合物であることから、GA—100の開発のみで満足することはできず、各成分についての溶解剤を開発し、目的とする遺残結石の組成に対応してそれらの薬剤の組合せの臨床応用を指向していきたい。

本研究に際し、ご指導、ご鞭撻いただいた恩師九州大学医学部西村正也教授、九州大学医学部附属病院薬剤部堀岡正義部長ならびに青山敏信研究室長に感謝の意を捧げる。

併せて、終始ご援助、ご協力賜つた久光製薬研究所の井出博之所長はじめ所員の方々に深甚なる謝意を表す。

また、臨床面で多大のご援助を賜つた九州大学第1外科学教室諸兄および他施設の諸先生方に御礼申し上げます。

最後に、本研究の開始から今日に至るまで、寝食を忘れ、われわれのためにご援助いただいた堀田純代嬢に万感の感謝を捧げる。

## 文 献

- 1) 三宅 博：胆石症，金原出版，東京，1970。
- 2) 松尾 巖：内科医から見た胆石症，外科治療，3，379—382，1960。
- 3) 亀田治男，青柳利雄，渡辺元嗣，野村益世，長谷川直人，右田 徹，鶴沼直雄：胆石症手術適応の検討，日本臨床，21，785—794，1963。
- 4) Rudy G. Danzinger, Alan F. Hofmann, Leslie J. Schoenfield and Johnson L. Thistle: Dissolution of Cholesterol Gallstones by Chenodeoxycholic Acid, The New England Journal of Medicine 286, 1—8, 1972.
- 5) Johnson L. Thistle and Alan F. Hofmann: Efficacy and Specificity of Chenodeoxycholic Acid Therapy for Dissolving Gallstones, The New England Journal of Medicine 289, 655—659, 1973.
- 6) 五十君裕玄，田村亮一，久次武晴：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—，日本消化器病学会第60回総会講演集，81，1974。
- 7) Dardik, H., Beneventano, T., Rosen, R., Gliedman, L. and Schein, C.J.: Experimental Management by Non-operative Adrenergic Stimulation of simulated Common Duct Stones, Digestive Diseases 16, 321—328, 1971.
- 8) John Q. Baker, John N. Wettlaufer, Dan P. Chisholm and Robert T. Schaller: Removal of a Retained Biliary Stone without Reoperation, Archives of Surgery 104, 702—703, 1972.
- 9) H. Joachim Burhenne: Nonoperative Retained Biliary Tract Stone Extraction, American J. Roentgenology 17, 388—3, 1973.
- 10) 久次武晴：人胆石の崩壊に関する研究，医学研究，29，1773—1787，1959。
- 11) 五十君裕玄，久次武晴：術後胆道遺残結石に対する局所胆石溶解剤の基礎と臨床，日本消化器病学会雑誌，71，10，1080—1081，1974。
- 12) B.O.C. Pribram: Ether Treatment of Gall-

- stones impacted in the Common Duct, *The Lancet* 10, 1311—1313, 1939.
- 13) R. Russell Best, John A. Rasmussen and Carylyle E. Wilson: Management of Remaining Common Duct Stones by Various Solvents and Biliary Flush Regimen, *Archives of Surgery* 67, 839—853, 1953.
  - 14) F.C. Torresyap: Chloroform Instillation of Common Bile Duct. It's Problems, with Report of an Immediate Untoward Reaction, *A.M.A. Archives of surgery* 77, 903—907, 1958.
  - 15) Lawsence W. Way, William H. Admirand and J. Englebert Dunphy: Management of Choledocholithiasis, *Annals of Surgery* 176, 347—359, 1972.
  - 16) Bernard Gardner: Experiences with the Use of Intracholedochol Heparinized Saline for the Treatment of Retained Common Duct Stones, *Annals of Surgery* 177, 240—244, 1973.
  - 17) 五十君裕玄: コレステロール石の溶解に関する基礎的研究, *医学研究*, 42, 55—66, 1972.
  - 18) Igimi H. and Ide H.: Improvements in or Relating to Substances for Use in the Treatment of Gallstones, *British Patent No. 1343561*.
  - 19) Igimi H. and Ide H.: Gallstone Solubilizer, *U.S. Patnet No. 437202*.
  - 20) 五十君裕玄: デジタル電子計算機による溶解速度パラメータの解析, *福岡大学薬学研究所報*, 1—25, 1971.
  - 21) Hisatsugu T., Igimi H. and Nishimura M.: Dissolution of Human Gallstone, *Japanese Journal of Surgery* 2, 62—72, 1972.
  - 22) 五十君裕玄, 久次武晴, 西村正也: 人胆石の溶解に関する基礎的研究 (第2報), *日本外科学会雑誌*, 74, 1227—1229, 1973.
  - 23) 辻正義, 藤崎幸雄, 山近啓子, 仲上一成, 藤崎文子, 水戸美樹枝, 青木哲雄, 木下祥一, 大久保淳, 渡辺 勲: 胆石溶解作用を有する d-limonene の研究, 一般薬理作用について, *応用薬理*, 8 (10), 1974.
  - 24) Igimi H., Nishimura M., Kodama R. and Ide H.: Studies on the Metabolism of d-Limonene (p-mentha-1,8-diene) I. The Absorption, Distribution and Excretion of d-Limonene in Rats, *Xenobiotica* 4, 77—84, 1974.
  - 25) Kodama R., Noda K. and Ide H.: Studies on the Metabolism of d-Limonene (p-mentha-1,8-diene) II. The Metabolic Fate of d-Limonene in the Rabbits, *Xenobiotica* 4, 85—95, 1974.
  - 26) Noda K., Matsuda T. and Ishikura Y.: Synthesis of <sup>14</sup>C-labelled d-limonene, *Journal of Labelled Compounds* 10, 2, 309—314, 1974.
  - 27) 松岡 理: マクロオートラジオグラフィ—凍結全身オートラジオグラフィを中心に (2)—, *Radioisotopes* 18, 116—126, 1969.
  - 28) 松岡 理: マクロオートラジオグラフィ—凍結全身オートラジオグラフィを中心に (2)—, *Radioisotopes* 18, 116—126, 1969.
  - 29) Ariyoshi T., Arakaki M., Noda K. and Ide H.: Studies on the Metabolism of d-Limonene (p-mentha-1,8-diene) III. Effects of d-Limonene on the Lipids and Drug-Metabolizing Enzymes in Rat Livers, *Xenobiotica* in press.
  - 30) 井出博之, 五十君裕玄: カテーテルの製造法, 特許出願中, 48—84985.
  - 21) 堀岡正義, 青山敏信, 五十君裕玄, 垣内宏治: 耐油性CHRカテーテル, *日本薬学会第94年会要旨集*, 167, 1974.
  - 32) Igimi H., Hisatsugu T. and Nishimura M.: Dissolution of Retained Gallstones by Direct Instillation of d-Limonene, in press.
  - 33) Robert L. Waldron II: Reflux Pancreatography An Evaluation of Contrast Agents for Studying the Pancreas, *American Journal of Roentgenology* 104, 632—640, 1968.