日消外会誌　11（2）：178～182，1978年

ラットでの肝外閉塞性黄疸の実験モデルに関する研究

東京大学第1外科
岩月　淳　河野　信博　三谷　進
長尾　桓　金高　伸也　菅原　克彦

A STUDY ABOUT EXPERIMENTAL MODELS OF EXTRAHEPATIC OBSTRACTIVE JAUNDICE IN RAT

Atsushi IWATSUKI, Nobuhiro KAWANO, Susumu MITANI, Takeshi NAGAO, Shinya KINTAKA and Katsuhiko SUGAHARA
1st Department of Surgery, Faculty of Medicine, Tokyo University

機械的閉塞性黄疸の実験で閉塞が持続しているか否かは基本的な問題である．著者らは総胆管を単結紮，2重結紮および2重結紮・切離して作製した閉塞性黄疸ラットで血清総ビリルビン値の推移を検討した結果，各群ともに血清総ビリルビン値が高値を持続する場合と正常値また正常値上限に低下する場合があることを認めた．後者では胆道造影所見から総胆管閉塞部の再疎通が生じていることを確認した．この再疎通は総胆管を2重結紮・切離後に肝十二指腸間膜を切離して，上下の総胆管切離端を離間することにより防止し得た．さらに閉塞性黄疸解除前後の病態生理を検討するために，著者らが考案した新しい簡単で確実な実験モデルについて検討を加えた．

索引用語：機械的閉塞性黄疸ラット，再疎通，胆道造影，総胆管閉塞解除術式

1．はじめに

機械的閉塞性黄疸に関する基礎的研究は文献上，種々の動物を用いて行われており，ラットを使用した実験も多い．従来，ラットで機械的閉塞性黄疸を作製する方法として，肝門部において総胆管を二重結紮して切離する方法[1]が行われてきた．しかし，この方法で作製した閉塞性黄疸ラットでも，長期の経過観察中に一旦上昇した血清総ビリルビン値が低下し，閉塞した総胆管が自然に再疎通したと考えられる例外も認められている[2]．また総胆管閉塞後の血清総ビリルビン値の変動に関しても文献上かなりの相違が認められる[3)4)5)]．著者らは，ラットで閉塞性黄疸時および閉塞解除後の病態を研究するための実験モデルを考案する過程で，この総胆管閉塞部の再疎通の問題に関心をもち，またこの現象は機械的閉塞性黄疸の実験において基本的な重要性をもっと考え，この研究を行った．すなわち，種々の方法で機械的総胆管閉塞を作製したラットで，経日的に血清生化学的検査を施行し，その推移と胆道造影所見から総胆管閉塞部の再疎通の有無を調べ，併せて著者らの開発した閉塞性黄疸の作製および解除法がラットを使用する肝外閉塞性黄疸実験モデルとして適しているかについて検討した．

2．実験方法

A．種々な機械的総胆管閉塞の作製法

実験には250g前後の雄性ウイスター系ラットを用い，4群に分けてエーテル麻酔下に開腹し機械的閉塞性黄疸ラットを作製した．第1群は，正中切開で開腹後，肝門部を露出し，6―0ナイロン糸（コルプ社）で総胆管を単結紮した．第2群では，第1群と同様に肝門部を露出後，総胆管を約5mmの間隔で6―0ナイロン糸で2重結紮した．第3群は従来の機械的総胆管閉塞の方法にしたがい，肝門部で総胆管を上記と同様にナイロン糸で2重結紮後，総胆管を切離した．第4群では，第3群の如く肝門部で総胆管を2重結紮・切離後，切離した総胆管周辺の肝十二指腸間膜を切離して，上下の総胆管切離端の間が少なくとも1cm以上離れるようにした．上記の各群について，第1，第3群では総胆管閉塞後5，

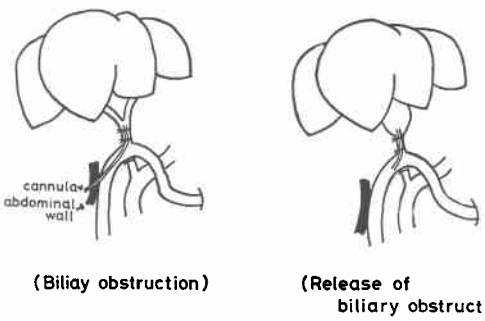
10，15，20日目に，第2群では同様に7，14，21，28日後に採血し，血清総ビリルビン値，GOT，Al-P 活性（アムコのユニテストを使用）を測定した．第4群では，上述の手術を行った15匹のラットをさらに3群に分け，閉塞7，14，21日後に血清生化学的検査を行うとともに，断頭脱血後肝を全摘出して秤量し肝湿重量対体重比を算出した．

また総胆管閉塞部の再疎通の有無は，十二腸直上の総胆管，または閉塞部肝側の拡張した肝管の1つに外径0.5mm のビニール管を挿入し，10%鉛丹浮遊液を注入して，SOFTEX-ESM（Softex 社）を用いて胆道造影を行うことにより検討した．

B．著者らの機械的総胆管閉塞および解除法

上述の第4群の如く総胆管を2重結紮し，総胆管および肝十二指腸間膜を切離して作製した閉塞性黄疸ラットの総胆管閉塞を解除することは手技的に非常な困難さを伴う．したがって，著者らは以下の如き実験モデルを考案した[6]．すなわち図1に示した如く総胆管の肝側約1/3

図1 Diagram of biliary obstruction & release of biliary obstruction



の部位―左主膵管が総胆管に合流する部位より肝側で総胆管前壁を切開し，外径0.5mm のビニール管を総胆管に挿入する．この総胆管内のビニール管を肝管分岐直下およびビニール管挿入部直上の2カ所で結紮固定後，ビニール管の他端は空腸を通して腹腔外へ誘導し，このビニール端を閉塞して皮下に埋没することにより閉塞性黄疸を発症させる．

総胆管閉塞の解除は，皮下に埋没したビニール管閉塞断端を切離して空腸内へ房すことにより容易に達成される．

この実験モデルで総胆管閉塞5日後に解除を行った場合の血清総ビリルビン値の推移からこの実験モデルの有効性を検討した．

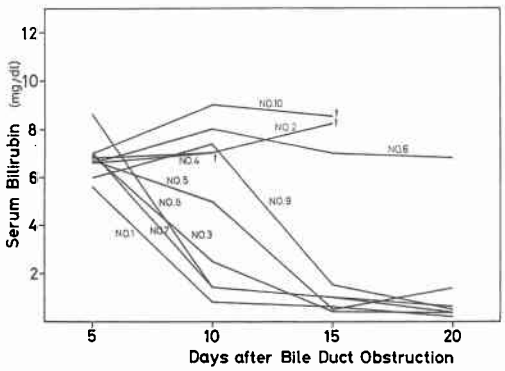
3. 実験結果

A．種々な機械的総胆管閉塞ラットについて

1） 総胆管単結紮群（第1群）

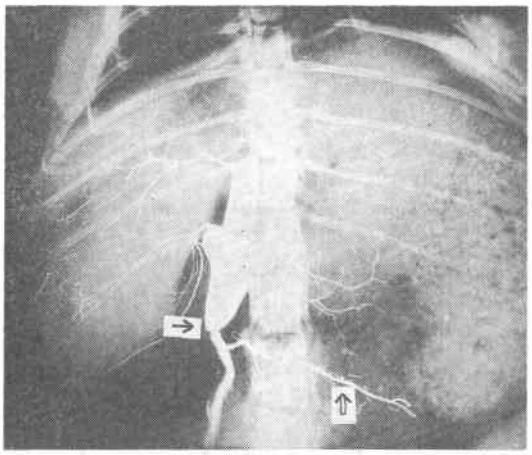
総胆管を肝門部近くで単結紮した閉塞性黄疸ラット（10匹）の血清総ビリルビン値の推移を図2に示した．10匹中3匹（No. 2，4，10）では血清総ビリルビン値が

図2 Time Trend of Bilirubin after Simple Ligation of Bile Duct



上昇したまま死亡した．No. 6 の血清総ビリルビン値は高値を持続した．しかし，他の6匹の血清総ビリルビン値は閉塞後5日（No. 1，3，7，8）または5，10日（No. 5，9）では高値であったが，以後急速に低下し，閉塞後15～20日では No. 5 を除いて正常値また正常値上限の値となった．No. 5 では閉塞後15日で血清総ビリルビン値は正常値に低下したが，閉塞後20日では再び1.4mg/dl と上昇した．図3は No. 1 ラットで閉塞後20日に十二指腸直上の総胆管にビニール管を挿入して造影した胆道造影像である．総胆管単結紮部に一致した部位の狭窄および肝側総胆管の拡張が認められ，総胆管を結紮したにもかかわらず単結紮部上下の総胆管の再疎通が確認された．No. 8 でも総胆管単結紮後20日に単結紮部肝側の拡張した肝管の1つからビニール管を挿入して撮影した胆道造影像で，造影剤が単結紮部下方の総胆管を経て十二指腸に達していることを認めた．しかし，No. 3 では血清総ビリルビン値は閉塞後20日で0.4mg/dl と正常値に低下しているにもかかわらず，No. 1 と同様に総胆管閉塞部より十二指側から注入した10%鉛丹浮遊液は単結紮部を通過しなかった．しかし Cyanogreene を注入すると単結紮部より肝側の拡張した総胆管内に色素による着色が認められた．すなわち，No. 5 の血清総ビリルビン値の推移，No. 3 の胆道造影時の所見は総胆管閉塞部の

図3　総胆管単結紮20日後の胆道造影像



総胆管単結紮部の狭窄および肝側総胆管の拡張を認める．
→は総胆管単結紮部を示す，　⇨は左主膵管である

再疎通部が充分な大きさになっていない時期を示していると考えられる．**図4-a. b** に No. 6～10の GOT, Al-P の変動を示した．GOT, Al-P の変動はともに血清総ビリルビン値と同様の傾向を示した．

2)　総胆管2重結紮群（第2群）

肝門部で総胆管を2重結紮した第2群の血清総ビリルビン値の推移も第1群と同様の傾向であった．7匹中1匹では総胆管閉塞後4週にわたり血清総ビリルビン値は高値を持続した．他の6匹では1群で10%鉛円浮遊液また Cyanogreene を用いた胆道造影所見で総胆管閉塞部の再疎通が確認されたラットの血清総ビリルビン値の推移また No. 5 の血清総ビリルビン値の推移と類似のパターンを示した．

図4-a　Time Trend of GOT after Simple Ligation of Bile Duct

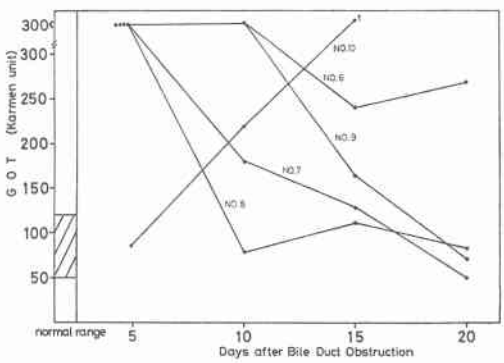


図4-b　Time Trend of Al-P after Simple Ligaton of Bile Duct

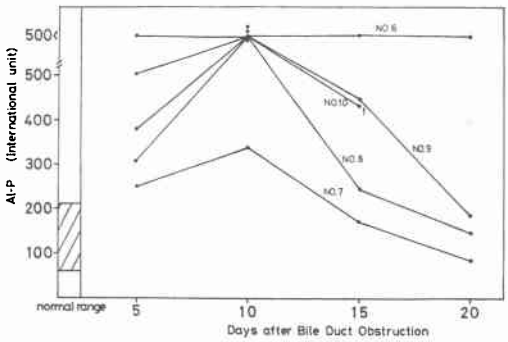
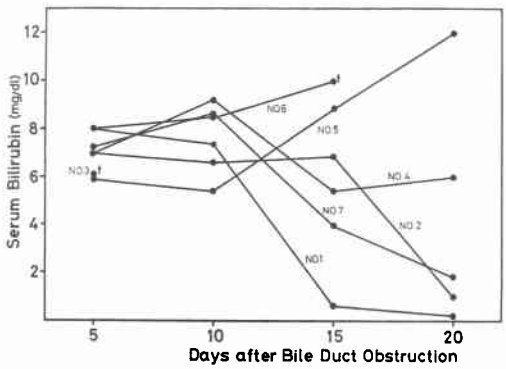


図5　Time Trend of Bilirubin after Double Ligations and Division of Common Bile Duct



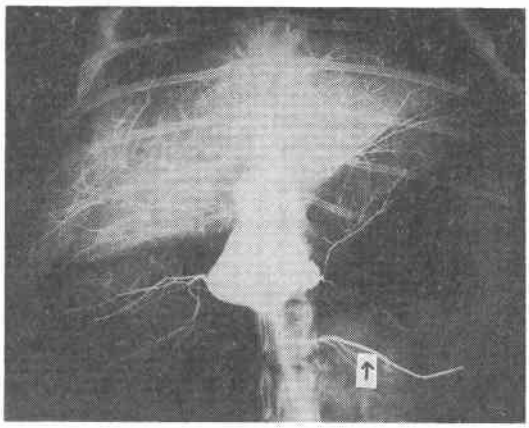
3)　総胆管2重結紮・切離群（第3群）

従来法による総胆管完全閉塞術式を行った第3群の血清総ビリルビン値の変動を**図5**に示した．7匹中2匹で血清総ビリルビン値は高値を持続している．また他の2匹では高い血清総ビリルビン値を示したまま死亡した．しかし，No. 1，2，7 の3匹では総胆管閉塞後高値となった血清総ビリルビン値は，それぞれ閉塞後15，20，15日の時点で明らかに低下している．**図6**は No. 1 の閉塞後20日の胆道造影像である．第1群の No. 1 の胆道造影像（**図3**）と同様に総胆管閉塞部の再疎通が認められた．

4)　総胆管2重結紮・切離後，両断端を離間した群（第4群）

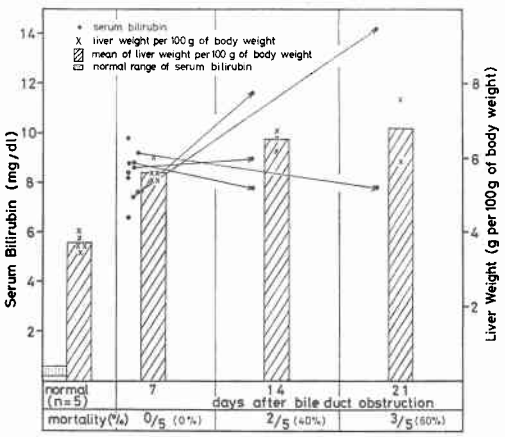
図5に示したように，肝門部で総胆管を2重結紮・切離する従来の総胆管完全閉塞術式を施行したラットでも，単結紮または2重結紮による総胆管閉塞ラットと同

図6　総胆管二重結紮・切離20日後の胆道造影像



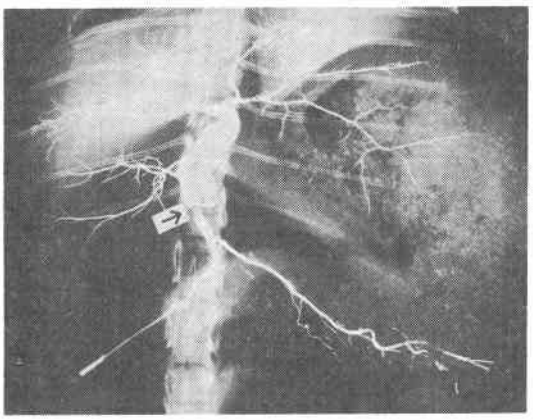
閉塞部より肝側総胆管の拡張および肝内胆管枝の増生を認める．→は左主膵管である．

図7　Serum Bilirubin and Liver Weight after Complete Obstruction



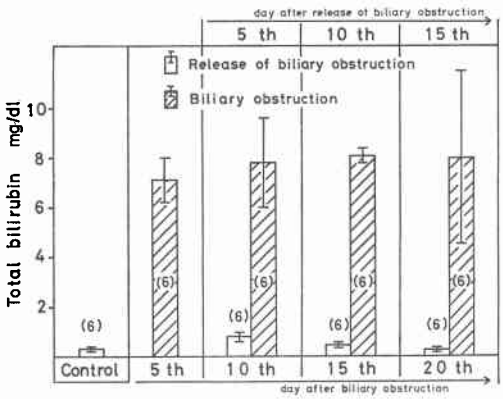
様に総胆管閉塞部の再疎通が生じるものがあることが認められたので，第4群ではこの再疎通の発生をふせぎ，総胆管の完全閉塞を持続させるために，肝門部で総胆管を2重結紮・切離後に両断端を1cm 以上離間する術式を施行した．**図7**に第4群の血清総ビリルビン値，肝湿重量対体重比を示した．閉塞7，14，21日の3群の血清総ビリルビン値，肝湿重量対体重比はともに高値を示した．閉塞21日群では5匹中3匹が死亡し，高い死亡率を示し，また剖検で皮下の黄染，肝の腫張，閉塞部肝側の総胆管の拡張，消化管内出血などを認め，全例で黄疸が持続していたことを確認した．**図8**は総胆管閉塞後21日後に，十二指腸直上総胆管および総胆管閉塞部肝側の拡張した肝管の1つにビニール管を挿入して造影した胆道造影像である．総胆管閉塞状態の持続が確認された．

図8　総胆管完全閉塞21日後の閉塞上・下部の胆道造影像



総胆管切離部で肝側・十二指腸側の総胆管切離端が離間（→）している．

図9　Time Trend of Total Bilirubin in Serum



( ): number of animals
Control refer to sham operated group

B．著者らの実験モデルによる総胆管閉塞および閉塞解除の有効性について

図9に実験方法**B**で述べた術式により総胆管閉塞5日後に閉塞解除を行った場合の血清総ビリルビン値の推移を総胆管完全閉塞が持続した場合の血清総ビリルビン値の推移とともに示した．総胆管閉塞が持続する群では血清総ビリルビン値は高値を持続するが，閉塞5日で解除した群では閉塞後5，10，15日の血清総ビリルビン値は0.8±0.2，0.5±0.1，0.3±0.1mg/dl と順調に低下した．

4. 考　察

実験成績に示した如く，総胆管を単結紮した場合，2重結紮のみを行った場合，また従来の総胆管完全閉塞の術式にしたがって総胆管を2重結紮・切離した場合のいずれでも，血清総ビリルビン値が低下する例がみられた．この血清総ビリルビン値の低下は胆道造影所見から総胆管閉塞部の再疎通によるものであることを証明しえた．総胆管単結紮ラットでの閉塞部の再疎通は Trams ら[7]によっても認められている．また従来の総胆管閉塞術式を行ったラットでの疎通は Cameron ら[2]によって例外的にしか認められていないが，著者らの実験成績から単結紮ラットと同様の機序で閉塞部の再疎通が起こりうることは明らかである．

この再疎通の機序について，Trams ら[7]は総胆管単結紮後の拡張した肝側総胆管が十二指腸側総胆管に重積して再疎通が起こると推定している．著者らの実験で総胆管単結紮群（第1群），総胆管2重結紮群（第2群）では総胆管の2重結紮・切離による総胆管閉塞群（第3群）より再疎通が起こりやすい事実は，前者では後者に比して閉塞部周辺組織への手術侵襲が少なく，癒着による総胆管の変形などが少ないために拡張した肝側総胆管が十二指腸側総胆管に重積しやすいことを示していると考えられる．したがって，ラットで機械的閉塞性黄疸を持続させるには，この総胆管閉塞部の再疎通を生じさせない工夫が必要である．著者らは総胆管を2重結紮・切離後，上下の総胆管切離断端を 1cm 以上引き離すことにより（第4群）総胆管閉塞の持続を得た．

一方，総胆管単結紮は，手術手技が極めて簡単であり，Trams らの指摘する如く，閉塞性黄疸時および解除後の変化を研究する実験モデルとして使用しうる可能性がある．しかし総胆管単結紮ラットの再疎通部分は，単結紮群（第1群）の No. 5 ラットの血清総ビリルビン値の推移，No. 3 ラットの胆道造影時の所見から推定される如く，部分閉塞の状態から徐々に完全な解除になると推定される．したがって単結紮ラットを閉塞性黄疸解除の実験モデルとして使用することは閉塞期間が不定となり，閉塞解除の時期の判定も困難であるという欠点をもつ．これに反して著者らが考案した実験モデルの閉塞解除法はビニール管を解放し空腸内へ戻す確実で簡単な方法であり，研究目的にしたがい自由かつ任意に閉塞解除の時期を決定できる利点をもつ．したがって，著者らはこの実験モデルを閉塞解除前後の病態生理の検討に使用しており，満足する結果を得たので，有効な術式と考えている．

5. おわりに

機械的閉塞性黄疸の実験で閉塞が持続しているか否かは基本的な問題であり，ラットでは総胆管閉塞部の再疎通が生じやすいことは注目すべき事実と考え，総胆管閉塞術式と再疎通の難易，その機序などについて検討した．さらに著者らが考案したラットでの機械的閉塞性黄疸作製後に任意の時期に閉塞を解除し得る簡単な実験モデルの利点についても述べた．

文　献

1) Cameron, G.R., et al.: Ligation of the common bile duct. J. Path. Bact., **35**: 769－798, 1932.
2) Cameron, G.R., et al.: Disturbances of structure and function in the liver as the result of biliary obstruction. J. Path. Bact., **66**: 333－349, 1958.
3) Sasaki, H.: Experimental obstructive jaundice in rats. Morphogenetic studies on biliary cirrhosis. Acta Med. Univ. Kyoto, **37**: 59－83, 1960.
4) Ozawa, K., et al.: Primary cause of decreased functional reserve in the liver of icteric patients and rats. S.G.O., **139**: 358－362, 1974.
5) 白地　孝：閉塞性黄疸時におけるビリルビン代謝，第1編：閉塞性黄疸時のビリルビンの腎よりの排泄について．日消誌，**73**：1479～1494, 1976.
6) 岩月　淳：肝外閉塞性黄疸時および閉塞解除後の肝細胞ミトコンドリア機能に関する研究．日消外誌，**9**：622～630, 1976.
7) Trams, E.G., et al.: Morphologic and functional changes in the livers of rats after ligation or excision of the common bile duct. Amer. J. Path., **33**: 13－27, 1957.