

コレステロール系胆石形成における食餌性因子と腸管内細菌との関連性について

—とくに無菌動物を使用した実験的研究—

日本医科大学第1外科(主任:代田明郎教授)

大学院生 中 尾 充

EFFECT OF DIETARY FACTORS AND INTESTINAL MICROFLORA ON GALLSTONE FORMATION IN GERM-FREE MICE

Mitsuru NAKAO

The First Department of Surgery, Nippon Medical School

(Director: Prof. Akio Hirota)

cholesterol系胆石の形成に及ぼす腸内細菌と食餌性因子との関連を検討するために、無菌及び普通マウス、計182例に、1% cholesterol+0.5% cholic acid食(1%群)、0.5% cholesterol+0.25% cholic acid食(0.5%群)、0.1% cholesterol+0.05% cholic acid食(0.1%群)を投与し4, 8, 24週目に胆石形成率、肝・胆嚢・血清 cholesterol、肝機能、肝組織学的変化を調べた。胆石形成率は、無菌マウス1%, 0.5%群では4週目100%であり、0.1%群では24週目27%であった。普通マウス1%, 0.5%群では、4週目に67%, 36%, 24週目に100%, 70%であり、0.1%群では24週に至っても胆石形成は認めなかった。以上、cholesterol系胆石の形成には、腸内細菌とともに食餌性因子もまた強く関与する事実の一端を明らかにし得た。

索引用語: cholesterol系胆石, 無菌動物, 胆石食, 胆石形成率, 腸管内細菌

I. 緒 言

胆石、とりわけ cholesterol系結石の生成に関して、種々の観点からはなほ多くの研究が行われている。

代田ら¹⁾は、「胆石および胆嚢炎の発生と腸内細菌叢」に関する一連の臨床的ならびに実験的研究成績より、本症の発生には胆汁中 Dihydroxycholesterol 酸濃度の低下と、腸内細菌叢の Dysbacterie なる状態が一つの重要な役割を演じていることを報告した。さらに、本研究の一環として、無菌動物を用いて *E. coli*, *S. faecalis* を腸管内に定着させた後に実験的胆石を作成し、腸管内細菌は cholesterol 結石生成に抑制的作用を演じていることも立証した²⁾³⁾。

ところで、従来より cholesterol系胆石の発生には、食事性因子が主因をなすとの報告が多い。そこで今回は本研究の一環として胆石食の cholesterol および cholic acid の濃度を Tepperman⁴⁾古川ら⁵⁾の方法より

減量し、胆石形成率、血清、肝および胆嚢胆汁中 cholesterol 量、肝機能、肝の組織形態学的変化などを総合的に研究し、つぎの成績を得た。

II. 実験材料と方法

1. 実験材料

(1) 実験動物

実験動物中央研究所より入手した JCL-ICR 系無菌及び普通マウスをそれぞれ、日本医科大学菌生物研究室で継代繁殖させ、生後8週齢に達したオスのみを実験に供した。

(2) 実験胆石食

日本クレア製 CL-2 飼料に cholesterol と cholic acid をそれぞれ 1% と 0.5% (以後 1% 群と略す)、0.5% と 0.25% (以後 0.5% 群と略す)、0.1% と 0.05% (以後 0.1% 群と略す) との割合に混じた固型飼料を 125℃、25分間高圧蒸気滅菌し、水は水道水を飼料と同

様に滅菌して、それぞれ自由に経口摂取させた。

2. 実験方法

上述の3群に分けた実験食を無菌および普通マウスに経口摂取させた。摂取開始後、4、8及び24週目にエーテル麻酔下にて心臓穿刺により採血、屠殺し、以下の実験に供した。ただし、無菌群の1%群および0.5%群は投与後10~14週で全例死亡したため、24週目の検索は不可能であった。

(1) 体重の測定

金属性レター・スケールで各週ごとに体重を測定した。

(2) 胆嚢内結石の確認

摘出した胆嚢内を光学顕微鏡で観察し、結晶の析出あるいは集合を認めたもの、完全に結石の形成が認められたものを胆石陽性とした。

(3) 肝 cholesterol 量の測定

肝約1gを切除し、Folch水洗法にて処理し、石油エーテルでcholesterolを抽出し、o-phthalaldehyde法にて発色させ、波長550nmで分光光度計(Beckman B type)により比色定量した。

(4) 胆嚢胆汁中 cholesterol 量の測定

胆汁をアルカリ・エーテル処理にて得られた中性脂質を処理して、上述の方法で比色定量した。

(5) 肝機能検査

各個体の血清GOT, GPT, Al-p, T-cholesterol値を、日立自動分析装置716型を用いて測定した。

(6) 肝の形態学的観察

肝は細切し、10%ホルマリンに固定したのち、型のごとく系列アルコールで脱水し、パラフィンに包埋した。包埋後2~5μmの切片を作製し、H-E染色を施行し、光学顕微鏡にて観察した。

III. 実験成績

1. 体重の変動 (図1)

無菌マウスでは、1%群で4週目より明らかな体重減少が認められ、0.5%群も緩徐ではあるが、ほぼ1%群と同様の傾向を示し、10~14週で全例が死亡した。(0.5%群, 1%群共に5週目までは対照群と有意差なく、6, 7, 8週目は student t test, p<0.05) これに対して0.1%群では、対照群と同様に順調な体重増加を示した。

普通マウスでは、1%, 0.5%, 0.1%群共に順調な体重増加を示した。

2. 胆石形成率 (表1)

無菌マウスでは1%並びに0.5%群共にすでに4週

図1 胆石食投与によるマウス体重の変動

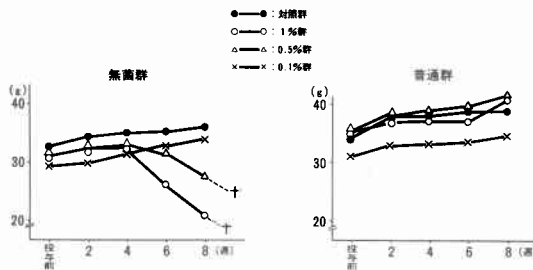


表1 胆石食投与によるマウス胆嚢内結石形成率

		投与期間	4 週	8 週	24 週
無菌群	1%群		14/14 (100%)	16/16 (100%)	
	0.5%群		10/10 (100%)	10/10 (100%)	
	0.1%群		0/11 (0%)	0/9 (0%)	3/11 (27%)
普通群	1%群		8/12 (67%)	9/13 (69%)	11/11 (100%)
	0.5%群		4/11 (36%)	8/13 (61%)	7/10 (70%)
	0.1%群		1/11 (9%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)

目に100%の結石形成率を示したが、0.1%群では8週目に至っても全く胆石の形成が見られなかった。なお、24週目まで生存出来た群は0.1%群のみであり、11匹中3例、27%に結石の形成を認めたに過ぎなかった。

一方、普通マウスでは、1%群において4週および8週目にそれぞれ67%、69%とほぼ同じ形成率であったが、24週目に至ると10匹全例に結石形成を認めた。また、0.5%群は4週目で、11匹中4例(36%)、8週目では13匹中8例(61%)、24週目に至っても10匹中7例(70%)に結石形成をみた。一方、0.1%群では、24週目に至っても結石の形成は全く認められなかった。

3. 胆嚢胆汁中 cholesterol 量の変動 (図2)

1%群では、無菌マウスにおいて4週目に実験食投与前の約10倍と高値を示し、8週目に至るとその値はやや低下の傾向を示したが、投与前に比べて高値であった。普通マウスでは、各週共無菌マウスの値に比べて低値ではあるが、実験食投与前に比べて高値を持続した。

0.5%群では、無菌・普通マウス共にその値は漸次増量し、8週目に至るとより高値を示した。

0.1%群では、無菌・普通マウス共に軽微な増量を示したに過ぎなかった。

図2 胆石食投与による胆嚢胆汁中 cholesterol 量の変動

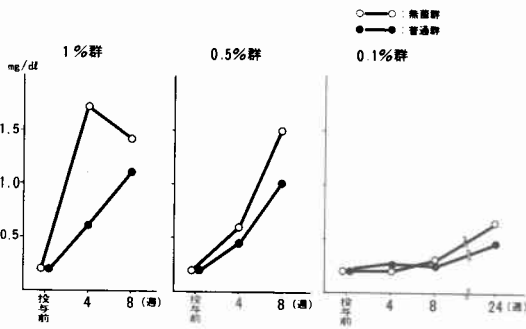


図3 胆石食投与による肝 cholesterol 量の変動

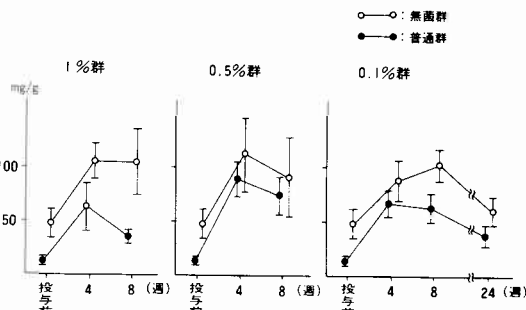


図4 胆石食投与による血清 GOT 値の変動

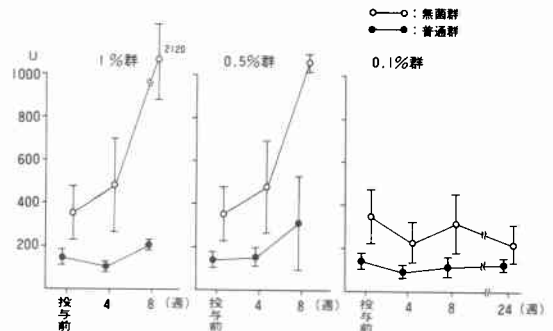
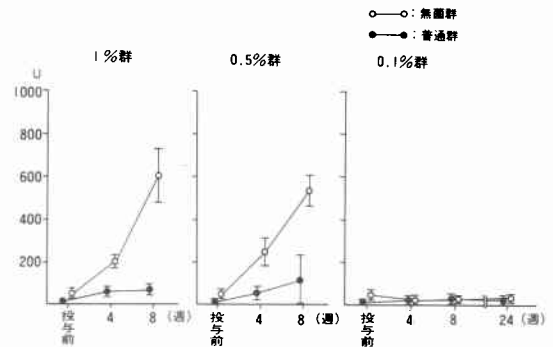


図5 胆石食投与による血清 GPT 値の変動



4. 肝 cholesterol 量の変動 (図3)

無菌・普通マウス共に、各時期において実験食投与前の値に対し著しい高値を示した (student t test, $p < 0.05$).

無菌マウス1%, 0.5%両群は4週目にピークを示したが、0.1%群では8週目にピークを示し、以後漸減した。

普通マウス3群は4週目にピークを示し、以後同様に漸減したが、各時期で無菌マウスに比べて低値を示した。

5. 肝機能

(1) 血清 GOT (図4)

1%群では、無菌マウスは投与前に比べて、4週目で軽度増加を示したが、有意の差はなかった。8週目に至ると著明な増加を示した ($p < 0.05$)。一方普通マウスでは8週目に至っても軽度の増加にとどまった。

0.5%群では無菌・普通群共に、1%群と同様の傾向を示した。

0.1%群では無菌・普通マウス共にほぼ投与前の値と同様で、大きな変動は認められなかった。

(2) 血清 GPT (図5)

1%群では無菌マウスは胆石食投与後、週を追って著しく増加したが ($p < 0.05$)、普通マウスでは4週、8週共に投与前の値に比べて、若干の増加を示したに過ぎなかった。

0.5%群は両群共に投与前の値とほぼ同じ値を示した。

(3) 血清 T-cholesterol (図6)

1%群では無菌マウスは実験食投与後、経日的増加を示し、とくに8週目に至ると投与前の約8倍と著しい高値を示した ($p < 0.05$)。普通マウスでは4週目に無菌マウスと同様に増加したが、8週目に至ると無菌群とはことなり、4週目とほぼ同様な値を示した。

0.5%群では、両マウス共に経日的増加を示したが、無菌マウスは普通マウスに比べてやや高値を示した (普通群の4週目を除き $p < 0.05$)。

0.1%群では、両マウス共に投与前の値とほぼ同様であったが、無菌マウスは普通マウスに比べてやや低値を示した。

(4) 血清 Al-p (図7)

図6 胆石食投与による血清 T-cholesterol 値の変動

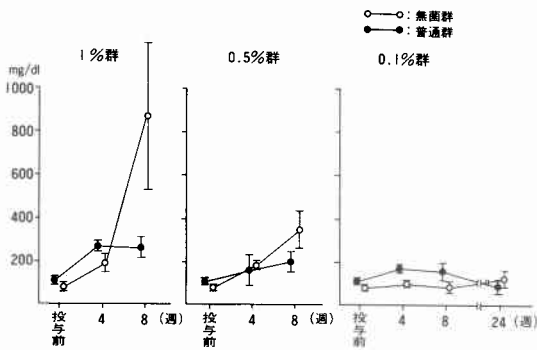
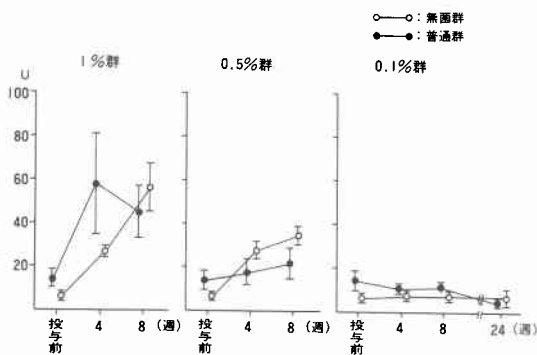


図7 胆石食投与による血清 ALP 値の変動



1%群では、普通マウスは4週目に投与前の約4倍で、かつ無菌マウスに比べて高値を示したが、8週目に至るとその値は低下し、無菌マウスとはほぼ同じ値を示した。無菌マウスでは4、8週目と著しい増加を示した ($p < 0.05$)。

0.5%群では、両マウス共に増加したが、その程度は1%群に比べて低かった。

0.1%群では、両マウス共に投与前の値とはほぼ同値を示した。

6. 肝の形態学的変化

無菌マウスの1%群4週目では、肝細胞索の軽度の乱れ、核の大小同性および染色性の低下、肝細胞のビマン性の空胞変化を認め、また中心静脈の拡張は高度であった。

8週目に至ると、4週目と比較し肝細胞索は萎縮的で、明瞭な構築はことごとく消失し、同時に細胞質は極めて膨化し、著明な空胞変化を認めた。これらの変化は0.5%群でも同様であった (写真1)。

0.1%群は、8週目に至って肝細胞質の細顆粒状変化を呈したが、24週目に至るとこれらの変化は小・中滴

写真1 実験食投与8週目の無菌マウス0.5%群 (No G 59) の肝光顕像 (H-E 染色×100) 肝細胞の膨化、染色性の低下、肝細胞索の乱れが認められる。

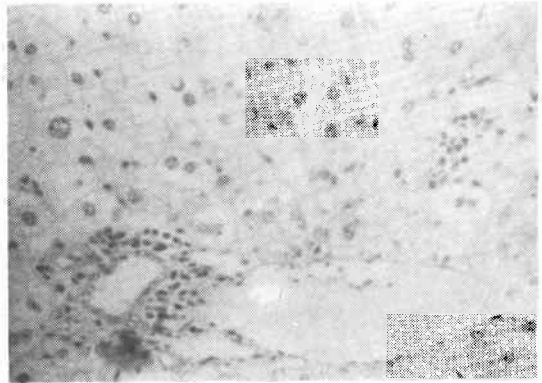
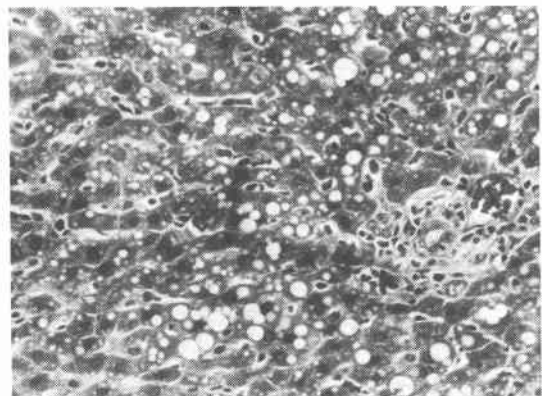


写真2 実験食投与24週目の無菌マウス0.1%群 (No G 84) の肝光顕像 (H-E 染色×100) 小・中の滴状空胞変化及び細顆粒状変化が認められるが、正常細胞も存在する。



状空胞変化を示し、正常細胞の数も増加していた (写真2)。

普通マウスの1%群では4週目に肝細胞索の軽度の乱れ、軽度のビマン性顆粒状空胞変化を認めた。8週目に至ると、顆粒状空胞変化が軽減し、24週目に至ると、空胞変化を認めない肝細胞の数が増した。

0.5%群では8週目に至って肝細胞のビマン性顆粒状空胞変化、肝細胞索の軽度の乱れ、染色性の若干の低下を示した (写真3)。

0.1%群では8週目に至ってはじめて、肝細胞索の軽度の乱れ、染色性の軽度の低下、細胞質の軽度ビマン性顆粒状空胞変化を示し、24週に至って、これらの変化はより軽減し、正常肝細胞の数が増していた (写真

写真3 実験食投与8週目の普通マウス0.5%群 (No. C 63) の肝光顕像 (H-E 染色×200)
肝細胞索の基本的構築には乱れはなく、肝細胞のピマン性顆粒状空胞変化が認められる。

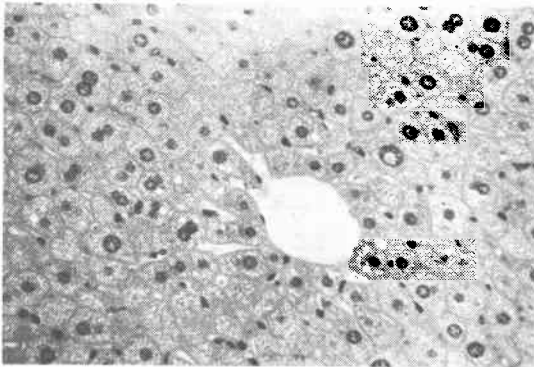
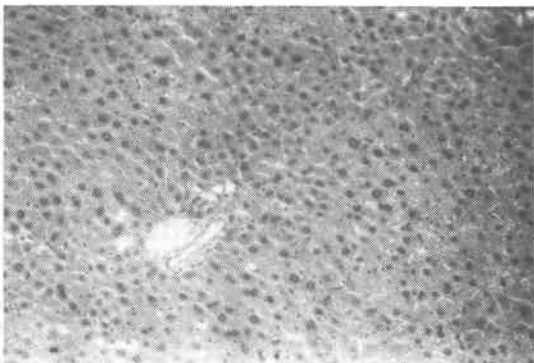


写真4 実験食投与24週目の普通マウス0.1%群 (No. C 102) 肝光顕像。(H-E 染色×100)
肝細胞内に顆粒状空胞変化が認められるが、正常細胞の数も多い。



4).

IV. 考 察

胆石の成因、とくに cholesterol 系胆石については、食餌性因子・肥満・cholesterol 過飽和肝胆汁の分泌などが重要な因子であることは良く知られている⁶⁾⁻¹⁰⁾。

ところで、ヒトにおける胆石の生成とその病態に関する研究は、臨床上おのずとかなりの制約があるため近年もっぱら動物を用いた実験的研究が行われている。

すなわち、ハムスターを用いた Dam (1952)¹⁰⁾らの研究に始まり、ウサギ¹²⁾、ラット¹³⁾¹⁴⁾、マウス¹⁵⁾、モルモット¹⁶⁾、イヌ¹⁷⁾などの自然動物を用いて、主として胆石の形成と食餌性因子との関連性を検討したもので、

これら研究成績は胆石の生成には肝を中心とした代謝異常が密接に関係していると述べている。しかしながら、これらの研究においては腸管内細菌叢の cholesterol 系胆石の生成に及ぼす影響について言及しているものは少ない。

従来より、代田ら²⁾³⁾も、腸管内細菌の胆汁酸代謝に及ぼす影響を動的にとらえるために、無菌マウスを用い、これに *E. coli*, *S. faecalis* を腸管内に定着させて、腸管内胆汁酸量およびその組成の変化を検討し、各菌単独汚染マウスに比べて両菌同時混合汚染マウスでは腸管内容中胆汁酸量および組成が、普通マウスのそれに接近する結果を得ている。また、1% cholesterol + 0.5% cholic acid 含有胆石食を普通および無菌マウスに経口摂取させると、無菌マウスは普通マウスに比べて早期にかつ高率に胆石形成が認められたことを報告している⁵⁾。

このように、腸管内細菌は胆汁酸および cholesterol の代謝に強く関与し、とくに cholesterol 系胆石の生成にはむしろ抑制的な役割を演じている事を立証して来た。

そこで今回、腸管内細菌と食餌性因子の両者が胆石の形成に及ぼす影響を総合的に検討した。

結果の詳細はすでに述べた通りであるが、先ず注目されたのは、無菌マウスにおいて1%、0.5%群では胆石食投与10~14週後に全例死亡した事実で、同様濃度の胆石食を投与された普通マウスでは1例の死亡も見なかったことと併せて興味深い。すなわち、両マウスの差異は腸管内細菌叢の有無のみである事実を照して、腸管内細菌叢が cholesterol + cholic acid の代謝に強く関与したことは明らかである。

次いで、胆石の形成率を見ると、無菌マウスでは、1%、0.5%両群共に4週目すでに全例に結石の形成を見たのに対し、0.1%群では24週目に至っても11匹中3例のみであった。それに対し普通マウスでは、無菌マウスに比べて1%、0.5%両群共に各週でその形成率は低く、0.1%群では24週目に至っても胆石の形成は全く認められなかった。すなわち、無菌および普通マウスの胆石形成率に大きな差異を生じた事実は各胆石食の cholesterol と cholic acid の含有濃度と同時に、腸管内細菌叢の有無によっても、胆石の形成が影響されていることを如実に示している。

そこで血清 GOT, GPT の変動を見ると、無菌マウス1%、0.5%両群では、これら逸脱酵素の肝よりの放出が週を追うに従い高度となり、強い肝細胞障害を推

察させた。これに反して、24週目迄生存した普通マウス各群および無菌マウス0.1%群ではこれらの上昇は軽度であった。この結果は腸管内細菌叢の有無と共に cholesterol+cholic acid の濃度も相関する事実を示すものであろう。また、血清 T-cholesterol 値の変動もこれと全く同様の傾向をとった。

血清 Al-p については、無菌および普通マウス間には大きな差異はみられず、cholesterol+cholic acid 濃度とよく相関していた。すなわち、1%群では両マウス群共に4週目より著しく上昇し、8週目も高値を持続していたが、0.5%群ではその上昇は軽度であり、0.1%群に至ると、投与前と全く変りなかった。この結果より Al-P の変動には腸管内細菌叢はほとんど関与していないものと思われた。

肝 cholesterol 量の変動では、胆石食投与前にすでに無菌マウスでは普通マウスに比べて、高値をとることが知られている⁵⁾。この理由としては、無菌動物では腸管内細菌を欠除せるために、摂取した cholesterol を coprostanol などへ変換出来ないためといわれている。今回の実験結果においても、無菌マウスの方が全期間にわたり3群共に高値をとったが、その傾向は近似していた。しかしながら、0.1%群において、無菌マウスでは投与8週目迄増加の一途をたどり、24週目に至ってやっと下降したのに対し、普通マウスでは8週目ですでに下降傾向を示していたのが特徴的で、この様な差異は腸管内細菌叢の有無によることも容易に想像されるところである。

ところで、cholesterol の腸管よりの吸収には胆汁酸、とくに cholic acid が強く関与すると言われている¹⁸⁾。つまり、摂取された cholesterol は cholic acid のもつ界面活性効果により能動的吸収を受けると同時に、腸粘膜内にて cholesterol esterase が cholic acid により活性化され、cholesterol のエステス化を促進し、リンパ管系を経由した cholesterol の吸収を増加させる¹⁹⁾。事実、今回の予備実験で施行した cholesterol または cholic acid 単独投与群で胆石の形成を認めなかったことから明らかである。

肝組織所見としては、無菌マウスの1%、0.5%両群と0.1%群との間に明瞭な差異を呈した。すなわち、1%、0.5%両群では、週を経るごとに肝細胞の空胞変化が著明になり、ついには高度肝障害を呈し死亡するに至った。これに比べて、0.1%群では胆石食投与後経日的に空胞変化が細顆粒状から、小・中滴状へと変化しつつ正常細胞の数も増加していた。すなわち本実験

において、腸管内細菌叢を欠く無菌マウスにとって0.1% cholesterol+0.05% cholic acid 含有胆石食は、胆石形成における肝を中心とした恒常性機能を保持出来る最高濃度であろう。一方、普通マウスの場合、低濃度の胆石食である0.1%群では週を経るにつれて肝の形態学的変化が改善され、正常細胞の数を増しており、腸管内細菌叢を有するヒト胆石症患者が通常、肝組織学的にはほとんど障害されない事実と合わせ興味深い。

つまりこのことは、たとえ低濃度であっても、cholesterol+cholic acid を長期に摂取すると結果的に肝組織学的な変化を伴わないで cholesterol 過飽和胆汁を分泌し、これに胆嚢内環境異常が加わると、ついには胆石が形成されていくであろうことを想像させる。

以上、今回なし得た一連の諸研究成績は、腸管内細菌が生体内における cholesterol と cholic acid の代謝にきわめて重要な影響を及ぼし、cholesterol 系結石生成に抑制的な作用を及ぼす事実を明らかになしえたばかりではなく、食餌性因子もまた重要で、特に腸管内細菌叢の乱れ (Dysbacterie) を長期間にわたり続けると、1次胆汁酸である cholic acid は、2次胆汁酸である Deoxycholic acid へ変換されがたい状態が継続し、これに高 cholesterol 食を摂取し続けることにより胆石を形成しうる可能性を立証し得たものと考えられる。

V. 結 語

cholesterol 系胆石生成における腸管内細菌と食餌性因子との関連を明らかにするために、無菌および普通マウスに、1% cholesterol+0.5% cholic acid 食、0.5% cholesterol+0.25% cholic acid 食、0.1% cholesterol+0.05% cholic acid 食を経口摂取させ経日的に胆石形成率、肝・胆嚢・血清 cholesterol、肝機能、肝組織形態学的変化を総合的に検討して、大要次の成績を得た。

1. 胆石形成率は無菌マウスの1%、0.5%群は4週目にすでに100%であったが、0.1%群では24週目に至っても27%にとどまった。普通マウスの1%、0.5%群は4週目それぞれ67%、36%、8週目それぞれ69%、61%、24週目にはそれぞれ100%、70%であったが、0.1%群では24週目に至っても胆石の形成は認められなかった。

2. 肝 cholesterol 量は、無菌・普通マウス共に各週において、実験食投与前に比べてその値は高値を示し、無菌マウス0.1%群以外は4週目に peak を示した。

3. 胆嚢胆汁中 cholesterol

無菌マウス1%, 0.5%群では経日的に著しい増量を示した。普通マウス1%, 0.5%両群は無菌マウスのそれに比べて低値であったが、投与前に比べて高値を示した。0.1%群では無菌・普通マウス共軽度の増量のみであった。

4. 血清 cholesterol 量の変動は、無菌マウス1%群で8週目に著しい高値を、普通マウス1%群、0.5%群、無菌マウス0.5%群は軽度の増加を示した。無菌・普通マウスの0.1%群ではほぼ投与前の値と同じであった。

5. 肝機能は実験食投与後、無菌および普通マウスの0.1%群では障害を示さなかったが、無菌マウス1%, 0.5%群では著しい障害を呈した。普通マウス1%, 0.5%群では軽度障害を呈した。

6. 肝組織形態学的変化は、無菌マウス1%, 0.5%両群で高度の空胞変化、肝細胞索の高度障害を示したが、普通マウス各群および無菌マウス0.1%群ではこの変化は軽度であり、とくに普通マウス0.1%群で最も軽微な変化にとどまった。

摺筆するに臨み、御指導と御校閲を賜った本学第1外科学教室代田明郎教授ならびに解剖学教室吉川文雄教授に深謝する。また本研究に終始直接に御指導をいただいた足立憲治講師ならびに古川清憲博士に深甚なる謝意を表する。

本論文要旨は、第12回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会および、第79回日本外科学会において発表した。

文 献

- 1) 代田明郎：細菌の胆道感染について。臨床と研究 42：94—109, 1965
- 2) 代田明郎，足立憲治，古川清憲：胆石，特にコレステリン結石の生成と腸管内細菌，一無菌動物を使用した研究成績を中心として一。日本医事新報 2885：24—32, 1979
- 3) 岡村俊一郎：胆石，とくにコレステロール結石生成における腸管内細菌の意義について，一とくに無菌動物を使用して一。日消外会誌 14：1614—1625, 1981
- 4) Tepperman, J., Caldwell, F.T. and Tepperman, H.M.: Induction of gallstones in mice by feeding a cholesterol-cholic acid containing diet. *Am J Physiol* 206：628—634, 1964
- 5) 古川清憲：胆石生成に関する研究，とくに無菌動物を用いて。日外会誌 79：597—609, 1978
- 6) 加藤仁司，谷村 弘，向原純雄ほか：胆石症患者における栄養調査。日消会誌77：1324—1325, 1980

- 7) Sturdevant, R.A.L., Pearce, M.L. and Dayton, S.: Increased prevalence of cholelithiasis in men ingesting a serum-cholesterol-lowering diet. *New Eng J Med* 288：24—27, 1973
- 8) Friedman, G., Kannel, W.B. and Dawber, T.R.: Epidemiology of gallbladder disease: Observations in the Framingham Study. *J Chronic Dis* 19：273—292, 1966
- 9) Mabee, T.M., Meyer, P., Den Besten, L. and Mason, E.E.: The mechanism of increased gallstone formation in obese human subjects. *Surgery* 79：460—468, 1976
- 10) Admirand, W.H. and Small, D.M.: The physicochemical basis of cholesterol gallstone formation in man. *J Clin Invest* 47：1043—1052, 1968
- 11) Dam, H. and Christensen, F.: Alimentary production of gallstones in hamsters. *Acta Path Microbio* 30：236—242, 1952
- 12) Cook, R.P., Kliman, A. and Fieser, L.F.: The absorption and metabolism of cholesterol and its main companions in the rabbit with observations on the atherogenic nature of the sterols. *Arch Biochem Biophys* 52：439—450, 1954
- 13) Palmer, R.H.: Gallstones produced experimentally by lithocholic acid in rats. *Science* 148：1339—1340, 1965
- 14) Palmer, R.H. and Hruban, Z.: Production of bile duct hyperplasia and gallstones by lithocholic acid. *J Clin Invest* 45：1255—1267, 1966
- 15) Caldwell, F.T., Levitsky, K. and Rosenberg, B.: Dietary production and dissolution of cholesterol gallstones in the mouse. *Am J Physiol* 209：473—478, 1965
- 16) Schoenfield, L.J. and Sjoval, J.: Bile acid and cholesterol in guinea pigs with induced gallstones. *Am J Physiol* 211：1069—1074, 1966
- 17) Englert E. Jr., Harman, C.G. and Wales, E.E. Jr.: Gallstones induced by normal foodstuffs in dogs. *Nature* 224：280—281, 1969
- 18) Maurizio, P.D.L., Paola, L., Rossella, I., et al.: Cholesterol absorption in cirrhosis: The role of total and individual bile acid pool size. *Gastroenterology* 80：1428—1437, 1981
- 19) Treadwell, C.R. and Vahouny, G.V.: Cholesterol Absorption. In: *Handbook of Physiology*. Code C.F., Heidel, ed. Washington, D.C.: *Am Physiol Soc Vol. V*：2391—2407, 1968