

研究速報

高速液体クロマトグラフィーによる胆石中長鎖脂肪酸測定

呉 碩東\* 谷村 弘 内山 和久 石本喜和男  
馬庭 芳朗 福 昭人 山本 基

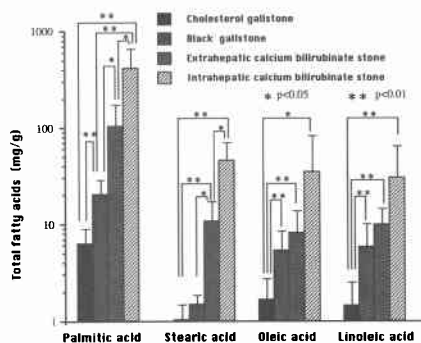
はじめに：胆石中脂肪酸の抽出法とその定量法はいまだ確立していない。今回、われわれは胆石から直接脂肪酸を抽出し、高速液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography; HPLC) を用いて総長鎖脂肪酸および遊離型長鎖脂肪酸を定量する方法を確立し、胆石の成因における脂肪酸の意義について検討した。

方法：肝内ビリルビンカルシウム石(ビリルビン Ca 石) 5 例, 胆嚢・総胆管ビリルビン Ca 石 4 例と黒色石 5 例および胆嚢コレステロール石10例を対象とした。Bligh Dyer 法に基づいて胆石中脂肪酸の抽出法を考案し、結石粉末10mg から抽出した脂肪酸を HPLC 法<sup>1)</sup>にて各種胆石中の総脂肪酸を分画定量した。成績は mean±SD で示し、統計学的検定は Student t-test を用い、危険率 5% 未満を有意差ありと判定した。

結果：脂肪酸の分離再現性は良好で、回収率も90%以上と満足であった。測定した胆石から主に Palmitic acid (C16:0), Stearic acid (C18:0), Oleic acid (C18:1), Linoleic acid (18:2) が検出された (Fig. 1)。C16:0は肝内ビリルビン Ca 石が452±271mg/g とともに多く、胆嚢・総胆管ビリルビン Ca 石101±74.5mg/g, 黒色石20.3±8.79mg/g と胆嚢コレステロール石6.29±2.79mg/g で、肝内ビリルビン Ca 石は他の胆石に対し、いずれにも有意差を認めた (p<0.05)。C18:0もそれぞれ47.7±26.3mg/g, 10.4±6.46mg/g, 1.49±0.36mg/g と1.03±0.46mg/g で、肝内ビリルビン Ca 石には他の胆石より有意に多く含有されていた。C18:1は肝内ビリルビン Ca 石が35.4±50.6mg/g で、黒色石5.33±3.12mg/g や胆嚢コレステロール石1.66±1.06mg/g よりも著明に多く含まれていた。C18:2もそれぞれ30.9±36.7mg/g, 5.76±4.18mg/g と1.43±1.10mg/g で不飽和脂肪酸として C18:1と同じ結果を示した。

考察：以上の結果より胆石の構成成分として総脂肪酸の含有量が胆石の種類によって明確に異なることが判明した。胆石中には Palmitic acid と Stearic acid などの飽和脂肪酸が多く、また、Oleic acid と Linoleic acid などの不飽和脂肪酸も含有されていることを初

Fig. 1 Contents of total fatty acids in hepatobiliary stones by High Performance Liquid Chromatography



めて明らかにした。Phospholipase A1はリン脂質の sn-1 と結合した飽和脂肪酸 (palmitic acid と stearic acid) を分解する役割をしている作用を持つが、リン脂質の sn-2 と結合する不飽和脂肪酸 (Oleic acid, Linoleic acid) を分解するのは Phospholipase A2 の作用である。今回の結果では、Phospholipase A2 と A1 がともに胆石中脂肪酸の生成に貢献することが判明した。しかし、肝内ビリルビン Ca 石では、飽和脂肪酸が不飽和脂肪酸に比べて著明に高く、この生成において Phospholipase A1 が A2 より重要な働きをしていることが証明された。つまり、Phospholipase A1 が胆汁中のリン脂質の sn-1 と結合する飽和脂肪酸を分解、遊離された結果、飽和遊離脂肪酸が胆汁中のカルシウムイオンと結合し、難溶性化合物が胆汁中から沈殿して肝内ビリルビン Ca 石の主成分になることが示唆された。

Key word: fatty acids

文献: 1) Miwa H, Yamamoto M: Improved method of determination of biologically important C10:0-C22:6 fatty acids as their 2 nitrophenylhydrazides by reversed phase high-performance liquid chromatography. J Chromatogr 351 : 275-282, 1986

The Etiology of Biliary Stone Formation Through Determination of Fatty Acids by HPLC

Shuo-dong Wu\*, Hiroshi Tanimura, Kazuhisa Uchiyama, Kiwao Ishimoto, Yoshio Maniwa, Akito Huku and Motoki Yamamoto. \*Department of Surgery, 2nd Affiliated Hospital, Hospital, The China Medical University, Shenyang, Liaoning, China

<1995年3月8日受理> 別刷請求先: 呉 碩東 〒640 和歌山市七番丁27 和歌山県立医科大学消化器外科