

原 著

急性胆嚢炎における Epstein-Barr Virus の関与について

総合会津中央病院外科

島貫 公義 樋口 勝美 相本 隆幸
廣井 信 武内 俊章

急性胆嚢炎の発症において Epstein-Barr Virus 感染との関連性を検討した報告は少なく、急性胆嚢炎17例、慢性胆嚢炎13例、正常胆嚢8例で胆嚢粘膜組織と胆嚢内胆汁の EBV-DNA 発現の有無を polymerase chain reaction 法にて検討した。さらに血清中の viral capsid antigen (VCA) に対する-IgG、-IgM 抗体価との関連性を検討した。急性胆嚢炎の全症例で胆嚢粘膜組織に EBV-DNA が検出され、その12例は胆嚢内胆汁中にも検出された。この12例中2例は無石急性胆嚢炎症例であった。慢性胆嚢炎症例と正常胆嚢ではその胆嚢粘膜組織、胆嚢内胆汁中に EBV-DNA は検出されなかった。抗 VCA-IgG 抗体価より慢性胆嚢炎の1例を除いて、EBV 感染の既往を認めた。

以上より、EBV 潜在感染性のリンパ球が急性胆嚢炎の局所炎症形成過程に関与する可能性が示唆された。

はじめに

Epstein-Barr-virus (以下、EBV) は一般成人のほぼ100%に不顕性感染が認められ、通常、唾液を介して口腔粘膜上皮に感染し、上皮細胞間を通過する B リンパ球において感染が成立する。この B リンパ球の中では EBV は潜伏感染の状態となり、その一部は免疫監視機構を逃れ、キャリアー状態で生体内に存在する。EBV はパーキットリンパ腫や上咽頭癌に加えて T リンパ腫、ホジキンリンパ腫、胃癌などから陽性症例が報告され、B リンパ球が浸潤局所においてウイルス産生性となり、臓器の上皮細胞に対して EBV を感染させる可能性が指摘されている¹⁾。EBV と胆嚢、胆道系疾患との関連を示唆する報告は少なく、小児期の EBV 感染症に伴う胆嚢炎および胆嚢水腫の発症が報告²⁾されているが、成人の急性胆嚢炎の発症において EBV 感染との関連を検討した報告は少ない。そこで、急性胆嚢炎症例において、摘出胆嚢の粘膜組織と胆嚢内胆汁の EBV-DNA 存在の有無を polymerase chain reaction (PCR) 法にて検討し、血清中の viral capsid antigen に対する IgG 抗体価、IgM 抗体価 (以下、抗 VCA-IgG 抗体、抗 VCA-IgM 抗体) との関連性を慢性胆嚢炎症例および正常胆嚢と比較検討した。

対象と方法

対象症例は胆嚢摘出術を施行した38例で、正常胆嚢群8例、慢性胆嚢炎群13例、急性胆嚢炎群17例の3群に分け検討した (Table 1)。

急性胆嚢炎の診断は上腹部圧痛、白血球増加、CRP 高値を認め、腹部超音波および CT 検査にて、胆嚢腫大、胆嚢壁肥厚、debris の存在などの所見を総合的に判断し行い、病理組織所見に基づき確定した。腹部超音波検査にて sonolucent layer を伴う5mm以上の壁肥厚を認め、胆嚢周囲膿瘍を形成した症例は経皮経肝胆嚢穿刺ドレナージを施行した。急性胆嚢炎症例では術前抗生物質の投与を行い、血液、生化学検査にて炎症所見がほぼ消失した、発症後4~6週目に手術を施行した。

術中無菌的操作にて、胆嚢摘出操作前に胆嚢内より穿刺吸引した胆汁と、胆嚢摘出後に胆嚢粘膜組織を採取し凍結保存後に EBV-DNA の検出に使用した。胆汁および胆嚢粘膜組織から、フェノール、クロロホルムによる DNA の抽出とエタノール沈澱による DNA 析出を行い、EBV-DNA を polymerase chain reaction (PCR) 法 (EBV-DNA における BamHI-W フラグメント内に設定したプライマーを使用した; センス鎖: 5' TCC TCG TCC AGC AAG AAG AG 3' 1592, アンチセンス鎖: 5' CAA CTT GAG GCA GCC TAA TCC 3' 1713) にて増幅し、エチジウムブロマイド存在下のアガロースゲルにて電気泳動を行い紫外線

Table 1 Clinical features of the patients

	age(y)	Sex M:F	GB stone (+)	GBD stone (+)	GB + CBD stone(+)	acalculous	intervention		
							PTCD	PTGBD	ENBD
acute cholecystitis (n=17)	71.2±12.4	8:9	7	0	8	2	4	5	1
chronic cholecystitis (n=13)	54.2±16.8	7:6	11	2	0	0	1 ¹⁾	0	0
normal gallbladder (n=8)	63.3±10.6	8:0	0	0	0	8	1 ²⁾	0	0

GB: gallbladder. CBD: common bile duct. PTCD: percutaneous transhepatic cholangiodrainage.

PTGBD: percutaneous transhepatic gallbladder drainage. ENBD: endoscopic nasobiliary drainage.

1): case of common bile duct stone 2): case of pancreatic carcinoma *; p < 0.05

照射にて DNA 断片 (161bp) を検出した。

血清中抗 VCA-IgG 抗体価, 抗 VCA-IgM 抗体価は蛍光抗体法にて測定した。採血は術直前に, 急性胆嚢炎例は白血球数が正常化し, CRP 値が 1.0mg/dl 以下を示した, 発症後 4~6 週目に施行した。

細菌培養に使用した胆汁は経皮的胆嚢ドレナージ施行時に採取した胆嚢内胆汁と術中に胆嚢を穿刺吸引して採取したものを使用した。

有意差検定は Mann-Whitney U 検定法にて, p<0.05 を有意とした。

結 果

対象症例の平均年齢は 63.7 ± 15.7 歳, 男女比は 23:15 であった。急性胆嚢炎症例は慢性胆嚢炎症例と比較し有意に高齢であった (p<0.05)。正常胆嚢群の疾患内容は胃癌 4 例, 食道癌, 肝癌, 大腸癌および膵癌の各 1 例であった。慢性胆嚢炎群では胆嚢結石症が 11 例, 総胆管結石症が 2 例, 急性胆嚢炎群では無石急性胆嚢炎が 2 例, 胆嚢結石症は 7 例, 胆嚢結石および総胆管結石合併症例が 8 例であった。38 例中 12 例に経皮または経鼻的な胆道ドレナージが施行され, その 10 例は急性胆嚢炎合併症例であった (Table 1)。

急性胆嚢炎を示した全 17 症例の胆嚢粘膜組織標本において PCR 反応終了後の電気泳動で EBV-DNA の増幅を示す DNA 断片が検出された。その 12 例では胆嚢内胆汁においても EBV-DNA が検出された (Fig. 1)。この 12 例中 2 例は無石胆嚢炎症例であった。慢性胆嚢炎症例と正常胆嚢ではその胆嚢粘膜組織, 胆嚢内胆汁中に EBV-DNA は検出されなかった。全症例で血清中の抗 VCA-IgM 抗体は陰性を示し, 慢性胆嚢炎症例の 1 例を除く全症例で抗 VCA-IgG 抗体が陽性を示した。

慢性胆嚢炎および正常胆嚢症例では 160 倍以上の抗 VCA-IgG 抗体価を示した症例は 21 例中 5 例, 急性胆嚢炎症例では 17 例中 7 例であったが, 急性胆嚢炎症例と慢性胆嚢炎および正常胆嚢症例の間には抗 VCA-IgG 抗体価に有意差は認められなかった (Table 2)。

胆汁の細菌培養では全 38 例中 12 例で細菌が同定され, その 11 例に胆道ドレナージが施行されていた。急性胆嚢炎症例 17 例では, その 11 例に胆汁中の細菌が同定され, 11 例中 10 例に胆道ドレナージが施行されていた。E. Coli が 9 例に, Klebsiella が 2 例に認められ, 複合感染が 4 症例に認められた (Table 3)。

考 察

胆石保有率は, 50 歳代までは 2~3%, 60 歳代で 8.4% になり, 80 歳以上になると 10% と, 年齢とともに高率になり, 重篤な症状を示すものが多いと報告³⁾されている。今回の検討でも急性胆嚢炎例が慢性胆嚢炎例と比較して有意に高齢であったことは, 高齢者の胆石保有率の増加とともに重篤な胆道・胆嚢炎を引き起こしやすくなることを示しているものと思われる。

急性胆嚢炎の 95% は胆石による胆嚢管閉塞に伴って発症しているが⁴⁾, 無石胆嚢炎も存在し, 胆石による胆嚢管の閉塞のみでは急性胆嚢炎は発症しないと言われ, 胆石以外のさまざまな要因が考えられている。胆嚢管の閉塞と催石性胆汁で胆嚢炎が発症することからコレステロール過飽和胆汁の関与が, また, 胆汁中の膜傷害性物質⁵⁾としてリゾレシチン, さらにプロスタグランジンも関連因子⁶⁾とされている。また, 胆嚢の運動異常も病因の一つとして考えられている。そして, 腸内細菌の関与が重要⁷⁾であり, 今回の検討でも 17 例中 11 例で胆汁中の細菌が同定された。しかし, 胆嚢内に細菌を

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of EBV-DNA amplified with polymerase chain reaction. EBV-DNA of mucosal tissue and bile of gallbladder were detected in lane 2. 1 : size marker, 2 : sample, 3 : negative control, 4 : negative control (buffer) 5 ~ 9 : positive control

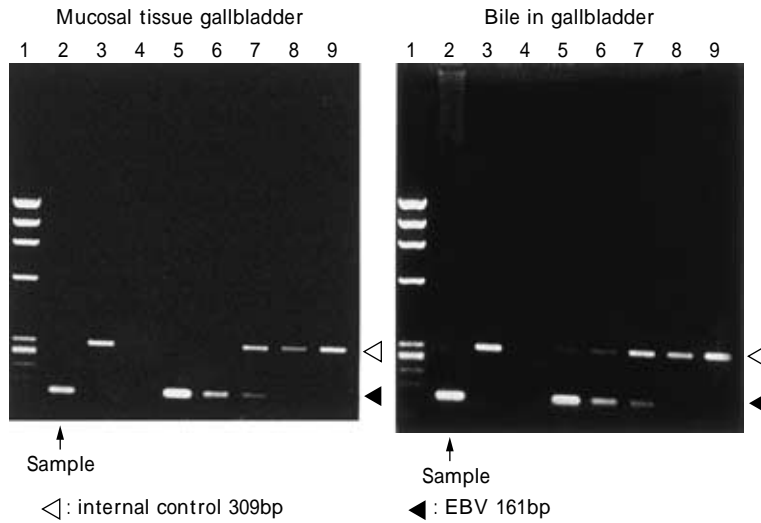


Table 2 Epstein-Barr virus(EBV)study of mucosal wall and bile from the gallbladder, and serum anti-viral capsid antigen-IgG, -IgM antibody(VCA-IgG, IgM)

Normal Gall Bladder					Chronic Cholecystitis					Acute Cholecystitis				
GBs	CBDs	EBV-PCR		VCA (Serum)	GBs	CBDs	EBV-PCR		VCA (Serum)	GBs	CBDs	EBV-PCR		VCA (Serum)
		Gallbladder wall	bile				Gallbladder wall	bile				Gallbladder wall	bile	
1)	-	-	-	80x -	1)	+	-	-	160x -	1)	+	-	+	160x -
2)	-	-	-	10x -	2)	+	-	-	80x -	2)	+	-	+	10x -
3)	-	-	-	40x -	3)	+	-	-	40x -	3)	+	-	+	40x -
4)	-	-	-	80x -	4)	+	-	-	(-) -	4)	+	+	+	160x -
5)	-	-	-	160x -	5)	+	-	-	80x -	5)	+	+	+	40x -
6)	-	-	-	40x -	6)	+	-	-	80x -	6)	+	+	+	160x -
7)	-	-	-	80x -	7)	+	-	-	320x -	7)	+	-	+	80x -
8)	-	-	-	320x -	8)	+	-	-	80x -	8)	+	-	+	40x -
					9)	+	-	-	10x -	9)	+	-	+	80x -
					10)	+	-	-	40x -	10)	+	-	+	80x -
					11)	+	-	-	80x -	11)	+	+	+	10x -
					12)	-	+	-	160x -	12)	+	+	+	160x -
					13)	-	+	-	80x -	13)	+	+	+	80x -
										14)	+	+	+	80x -
										15)	+	+	+	320x -
										16)	-	-	+	160x -
										17)	-	-	+	160x -

GBs : gallbladder stone . CBDs : common bile duct stone. VCA : virus capsid antigen.

There was no significant difference between chronic and acute cholecystitis in value of VCA-IgG

Table 3 Bacteriological study for bile within gallbladder

	Bacterial Culture	
	Negative	Positive
acute cholecystitis n = 17	6	E. Coli 6 Strptococcus spp 1 E. Coli + Klebsiella 1 E. Coli + Enterococcus faecalis 1 E. Coli + Enterobacter 1 Klebsiella + Clostridium perfringens + Citrobacter freundii 1
chronic cholecystitis n = 13	12	Enterococcus durens 1
normal gallbladder n = 8	8	(-)

注入しても、胆嚢管が開いている限り炎症は発症しないため、細菌感染は胆嚢炎の合併症形成に関与しているが、あくまで二次的因子であると言われている⁸⁾。

今回の EBV-DNA の検討では、慢性胆嚢炎症例および正常胆嚢では、その胆嚢粘膜組織と胆嚢内胆汁中に EBV-DNA は検出せず、無石胆嚢炎の 2 症例を含めた急性胆嚢炎 17 例の胆嚢粘膜組織に EBV-DNA の存在を認め、さらにその 12 例では胆嚢内胆汁中に EBV-DNA の存在を認めた。これは EBV が急性胆嚢炎の発症、炎症形成過程に関与することを示唆するものであり、胆嚢内胆汁陽性は炎症による粘膜破壊のためと思われた。

慢性胆嚢炎の 1 例を除く全症例で、抗 VCA-IgM 抗体が陰性で、抗 VCA-IgG 抗体が陽性を示した。これらの結果は抗 VCA-IgG 抗体陰性の症例を除き、EBV の感染既往があり、初回感染ではないことを示すものである。生体内では EBV が B リンパ球に潜伏感染⁹⁾、口腔咽頭上皮¹⁰⁾、子宮頸部上皮¹¹⁾で細胞溶解型の感染を起こすことが報告されており、急性胆嚢炎における局所炎症の形成過程で潜在感染性の B リンパ球が、浸潤局所でウイルス産生性となり、胆嚢の上皮細胞に EBV を感染させる可能性を示唆するものと思われる。しかし、今回は PCR 法による検出であり、胆嚢組織内の EBV-DNA の存在を確定するには in situ hybridization が必要である。また、急性胆嚢炎の初期であるうっ血浮腫期、さらには出血、壊死を来す時期、最終的な化膿期の何れの時期に EBV が関与するかは不明であり、胆嚢内胆汁の経時的な EBV の発現性を検討する必要があると思われた。さらに、胆嚢炎での EBV 関与が炎症過程での非特異的な結果である可能性もあり、炎症を来した他臓器での検討も必要と思われた。

一般的な EBV の感染経過は、初感染後の病初期には抗 VCA-IgM 抗体と抗 early antigen (EA) 抗体が出現し、その後、抗 VCA-IgG 抗体と EBV nuclear antigen (EBNA) 抗体が出現し、持続する。EBV の再活性化が起こると感染初期の抗体反応パターンや抗 VCA-IgG 抗体の異常高値、EBNA 抗体の陰性化がみられるといわれ¹²⁾、抗 VCA-IgM と抗 EA 抗体価はほぼ同様の変動を示す。

EBV 関連胃癌症例では血清 EBV 抗体価は高く、抗 VCA-IgG 抗体価、抗 VCA-IgM 抗体価は EBV 陰性胃癌症例や健康人と比較して著明に高いと報告¹³⁾されている。今回の検討では、急性胆嚢炎症例で特異的に抗 VCA-IgG 抗体価が高値を示すことはなく、手術施行時期からも摘出胆嚢は肉芽組織が置き換えられ始めた亜急性胆嚢炎へと推移した状態と思われ、経時的な抗 VCA-IgG 抗体価と EBNA 抗体価の変動の有無を検討する必要がある。

抗 VCA-IgG 抗体価および PCR の結果と切除標本におけるリンパ球浸潤程度との関連性は、各症例での胆嚢の炎症病期の差異、PCR に使用した組織に隣接した部位での病理組織所見であり、明らかにすることは困難であった。

文 献

- 1) Niedobitek G, Young LS : Presence of Epstein-Barr virus and the pathogenesis of virus-associated tumors. Lancet 343 : 333-335, 1994
- 2) Dinullos J, Mitchell DK, Egerton J et al : Hydrops of the gallbladder associated with Epstein-Barr virus infection : a report of two cases and review of the literature. Pediatr Infect Dis J 13 : 924-929, 1994
- 3) 田中龍彦, 藤原英利, 齊藤洋一 : 高齢者胆石症 日

- 本臨床 増刊 肝胆疾患 新しい診断 . 治療体系 下 . 日本臨床社 , 東京 , 1988, p775 780
- 4) 武藤良弘, 山田 譲, 酒井秀則ほか : 病理面よりみた急性胆嚢炎 . 胆と膵 6 : 1451 1458, 1985
- 5) Sjjodahl R, Tagesson C, Wetterfors J : On the pathogenesis of acute cholecystitis. Surg Gynecol Obstet 146 : 199 202, 1978
- 6) Kaminski DL, Deshpande YG, Qualy J et al : The role of prostaglandins in feline experimental cholecystitis. Surgery 98 : 760 768, 1985
- 7) Claesson B, Holmlund D, Matzsch T : Biliary microflora in acute cholecystitis and the clinical implication. Acta Chir Scand 150 : 229 237, 1984
- 8) 菅田文夫 : 胆道系感染防御機構 . 日本臨床 増刊 肝胆疾患 新しい診断 . 治療体系 下 . 日本臨床社 , 東京 , 1988, p796 803
- 9) Klein G, Svedmyr E, Jondal M et al : EBV-determined nuclear antigen(EBNA)positive cells in the peripheral blood of infectious mononucleosis patients. Int J Cancer 17 : 21 26, 1976
- 10) Sixbey JW, Nedrund JG, Raab Traub N et al : Epstein-Barr virus replication in oropharyngeal epithelial cells. N Eng J Med 310 : 1225 1230, 1984
- 11) Sixbey JW, Lemon SM, Pagano JS et al : A second site for Epstein-Barr virus shedding : The uterine cervix. Lancet 8516 : 1122 1124, 1986
- 12) 河 敬世 : EB ウイルス関連がんの診断と治療の現状と問題点 . 日臨 55 : 446 451, 1997
- 13) Imai S, Koizumi S, Sugiura M et al : Gastric carcinoma : monoclonal epithelial malignant cells expressing Epstein-Barr virus latent infection protein. Proc Natl Acad Sci USA 61 : 9131 9135, 1994

Acute Cholecystitis Associated with Epstein-Barr virus in Inflammatory Process

Kimiyoshi Shimanuki, Katuyoshi Higuchi, Takayuki Aimoto,
Makoto Hiroi and Toshiaki Takeuchi
Department of Surgery, General Aizu Central Hospital

The Epstein-Barr virus (EBV) DNA was detected with the polymerase chain reaction in the mucosal tissue of all resected gallbladders in patients with acute cholecystitis(n=17), which included two cases of acalculous acute cholecystitis. In 12 out of these 17 patients, EBV-DNA was detected in both the mucosal tissue and bile from the gallbladder. EBV-DNA was not detected in any gallbladder which was resected for gallstones without acute inflammation, and in normal gallbladders. Serum anti-viral capsid antigen (VCA)IgM antibody was not detected in any of the investigated cases (n=38) Serum anti VCA-IgG antibody was detected in 37 cases except one case of chronic cholecystitis. These 37 cases had latent EBV infection. Latent EBV infection may be one of the etiologic factors for the development of acute cholecystitis.

Key words : acute cholecystitis, Epstein-Barr Virus

[Jpn J Gastroenterol Surg 33 : 299 303, 2000]

Reprint requests : Kimiyoshi Shimanuki General Aizu Central Hospital
1 1 Turugamachi, Aizuwakamatu-shi, 965 0011 JAPAN