

回盲部切除後の糞便中胆汁酸およびステロール構成

鳥取大学医学部外科学第一教室 (主任 古賀成昌教授)

鳥取大学医学部附属ステロイド医学研究施設化学部門 (主任 猪川嗣朗教授)

池 口 正 英

Changes in fecal bile acid and neutral sterol composition after ileocecal resection

Masahide IKEGUCHI

*Department of Surgery and Division of Chemistry, Institute of Steroid Research, Tottori University School of Medicine, Yonago 683, Japan***ABSTRACT**

A retrospective study on the incidence of metachronous colorectal cancer in our department showed that the incidence rate was 11.1% (4/36) in patients with ileocecal resection in contrast to 5.0% (5/101) in patients with left side colon resection. These findings suggest that the difference of the incidence rates is closely related to the abnormal enterohepatic circulation and metabolism of bile acids regarded as a potential promoter of colon cancer. In the present study, fecal bile acid and sterol compositions in patients with ileocecal resection and those with colon resection were investigated to compare with normal controls.

The following results are summarized.

1. The mean values of total fecal bile acids were 8.91, 24.95 and 15.79 mg/g dry feces in normal controls, patients with ileocecal resection and those with colon resection, respectively. There was a significant difference ($p < 0.05$) between normal controls and patients with ileocecal resection.
2. The amount of total fecal bile acids was increased in proportion to the length of the intestine resected.
3. The mean values of fecal primary bile acids were 0.31, 15.70 and 15.32 mg/g dry feces in normal controls, patients with ileocecal resection and those with colon resection, respectively. The latter two were significantly higher than the former ($p < 0.001$).
4. The mean values of fecal secondary bile acids were 8.61 and 9.27 mg/g dry feces in normal controls and patients with ileocecal resection, respectively, and in trace amounts in patients with colon resection. The amounts of ursodeoxycholic acid and $3\alpha, 7\alpha$ -dihydroxy-12-ketocholanoic acid were higher in patients with ileocecal resection than in normal controls.
5. The mean values of total fecal neutral sterols were 50.49, 28.36 and 17.63 mg/g dry feces in normal controls, patients with ileocecal resection and those with colon resection, respectively.
6. Coprostanol/cholesterol ratios in feces were 4.12, 0.97 and 0 in normal controls, patients

with ileocecal resection and those with colon resection, respectively.

In conclusion, the resection of the terminal ileum involving the main place for bile acid absorption in the enterohepatic circulation causes the increased output of total bile acids, especially primary bile acids into the colon and it may produce abnormal circumstances in the colon and make it easy to develop metachronous colon cancer.

The present study strongly suggests that there is a close relationship between ileocecal resection, bile acids and the incidence rates of metachronous colon cancer.

(Accepted on December 10, 1984)

胆汁酸は肝臓においてコレステロールより生ずる異化代謝産物であり、主として回腸末端部でそのほとんどが再吸収され再び肝臓にもどる閉鎖的な腸肝循環を営んでいるが、一部は糞便中に排泄される。この胆汁酸が発癌に促進的に作用することを示唆する報告は多い。近年特に本邦において増加の傾向にある大腸癌や、残胃癌の発生に胆汁酸が何らかの役割をはたしていることが示唆されている¹⁸⁾²⁸⁾²⁹⁾³⁶⁾。

一方、*in vitro* における培養細胞レベルにおいても、細胞の transformation が胆汁酸を添加することによって促進されることが示され、この作用は従来毒性が強いと考えられていた二次胆汁酸のみならず、一次胆汁酸にも存在することが明らかとなっている⁵⁴⁾。

このように胆汁酸の発癌のプロモーターとしての意義が注目されているが、回盲部疾患や外科的に回盲部を切除された症例では、正常な腸肝循環が遮断され、多量の胆汁酸が大腸に流入し、腸内細菌叢や大腸粘膜に対して障害を惹起し、ひいては発癌のプロモーターとして作用する可能性が推測される。

著者は鳥取大学第一外科において、外科的に回盲部を切除された症例の糞便中胆汁酸およびステロールを、ガスクロマトグラフィー (GC) およびガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー (GC-MS) にて詳細に調べ、教室における大腸癌切除後 5 年以上生存例における異時性大腸癌症例について検討を加えるとともに、胆汁酸の回盲部切除後の異時性大腸癌発生のプロモーターとしての意義について検討した。

実験材料ならびに方法

1. 分析試料

(1) 対象

対象は I 群 (対照群; n=13, 男 6 例, 女 7 例, 平均年齢 54.6±13.7 歳), II 群 (回盲部切除又は右半結腸切除群; n=15, 男 6 例, 女 9 例, 平均年齢 58.5±11.0 歳), III 群 (全大腸切除兼永久回腸瘻造設群; n

= 5, 男 2 例, 女 3 例, 平均年齢 49.4±12.3 歳) であり、全例とも肝機能検査で異常を認めず、他の消化器疾患を有しない症例を選んだ。II 群および III 群の患者の術前の疾患は表 1 に示すが、手術より検査までの期間は 6 か月から 20 年であり、検査前 3 週間抗生物質等の内服薬の投与はすべて中止した。

回腸切除範囲はパウヒン弁より回腸口側断端までとし、3 cm から 100 cm までであった (表 1)。

(2) 試料採集法

全症例とも入院時より蛋白質 82.1 g, 脂質 53.7 g, 糖質 374.2 g の一定食を 3 日間摂取させた後、3 日間にわたり採便した。糞便は排泄後直ちにポリ袋に採集し、分析に供するまで -20°C で凍結保存した。

(3) 胆汁酸およびステロール標品

本実験に用いた胆汁酸とその誘導体およびステロールは、鳥取大学医学部附属ステロイド医学研究施設化学部門における部分合成品、あるいは市販品から精製されたものであり、これらは融点測定、薄層クロマトグラフィー (TLC), ガスクロマトグラフィー (GC) およびガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー (GC-MS) などにより検定され、97% 以上の純度であった。

試薬は、別記しない限り和光純薬製の試薬特級品を使用し、有機溶媒は使用前に常法に従って一度蒸留したものをを用いた。

2. 糞便中胆汁酸およびステロールの分析方法

(1) 試料の調製および胆汁酸, ステロールの分画, 抽出

凍結保存した 3 日分の糞便をポリ袋内で解凍しよく混和した後 2 倍量 (w/w) の蒸留水で、ホモジナイズした。その一部を凍結乾燥用丸底フラスコに取り秤量後、凍結乾燥機 (LAB CONCO 社, FD-5 型) で処理し、得られた凍結乾燥便を粉末化した。この 25 mg を用いて糞便中胆汁酸および中性ステロールの分析を行った (図 1)。

表 1. 対 象 症 例

症例・年齢・性			疾 患	回腸切除範囲 (cm)
1	57	F	な し	
2	45	M	〃	
3	40	M	〃	
4	38	M	〃	
5	59	F	〃	
6	58	M	〃	
I 群 (対 照 群) n = 13			〃	
7	55	F	〃	
8	67	F	〃	
9	48	F	〃	
10	73	F	〃	
11	68	F	〃	
12	30	M	〃	
13	72	M	〃	
54.6±13.7				
1	72	M	大 腸 癌	3
2	70	M	〃	8
3	48	F	良 性 腫 瘍	9
4	47	M	〃	10
5	49	M	大 腸 癌	10
6	38	F	〃	10
7	74	F	〃	10
II 群 (回盲部切除群) n = 15			〃	12
8	67	F	〃	12
9	55	F	〃	12
10	51	F	〃	14
11	54	F	〃	21
12	68	F	〃	25
13	70	M	悪 性 リンパ腫	47
14	56	M	大 腸 癌	100
15	58	F	腸 結 核	100
58.5±11.0				
1	40	M	家族性ポリポージス	4
2	56	F	〃	7
III 群 (全大腸切除群) n = 5			〃	20
3	40	M	〃	20
4	43	F	潰瘍性大腸炎	25
5	68	F	〃	63
49.4±12.3				

M: 男性, F: 女性

すなわち凍結乾燥便 25 mg を 100 ml 容丸底フラスコに入れ, 1 N水酸化ナトリウム溶液 3 ml, エタノール 27 ml を加え, さらに胆汁酸分析の内部標準物質と

してノルデオキシコール酸 (NORDCA) を, また中性ステロール分析の内部標準物質として 5 α -コレスタンを各 50 μ g ずつ添加した.

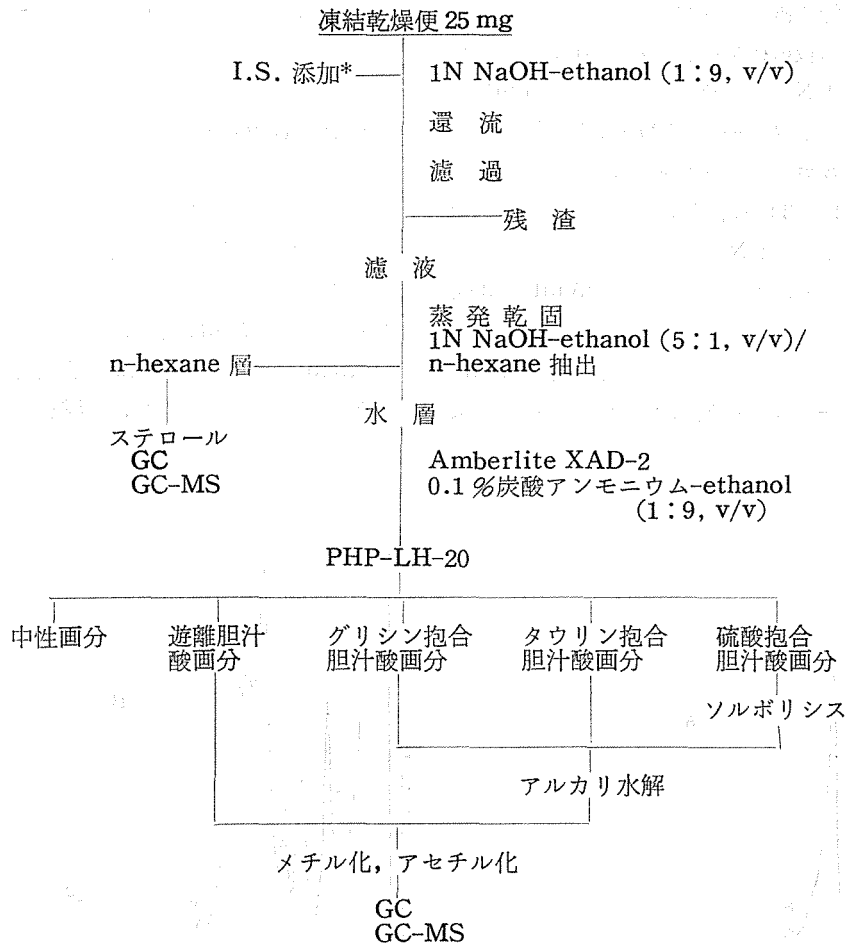


図 1. 糞便中胆汁酸および中性ステロール分析法

* I.S. : internal standard; NORDCA (nordeoxycholic acid) および 5 α -cholestane各 50 μ g 添加.

この溶液を沸騰水浴上で1時間還流した後、放冷後ガラス繊維濾紙 (Whatmann GF/C) にて濾過し、50 ml 容共栓試験管に濾液を集め、温浴上で空気流下に濾液を蒸発乾固した。さらに、これを1 N水酸化ナトリウム溶液 20 ml で再溶解しメタノール 4 ml および n-ヘキサン 20 ml を添加し振盪し、遠心分離 (3000 rpm, 5 分間) 後に n-ヘキサン層を分取した。この操作を3回行い中性ステロールを抽出し、後に GC, GC-MS にてステロールの分析に供した。

一方、n-ヘキサン抽出後の水層は沸騰水浴上で空気流下に半量まで濃縮し、放冷後蒸留水を加えて 20 ml とした。この溶液を Amberlite XAD-2 カラム (20 cm \times 0.5 cm i. d.) に注加し、中性となるまで水洗した後に、0.1 % 炭酸アンモニウム-90 % エタノール溶液 15 ml にて胆汁酸画分を溶出した。溶出液はロータリー・エバポレーターで減圧乾固し、残渣を 90 % エ

タノール 2 ml に溶解し、ペペリジノ・ハイドロオキシ・プロピルデキストランゲル (PHP-LH-20, 島津製作所) カラム (40 mm \times 6 mm i. d.) に注加した。次いで、Goto ら⁶⁾の方法に従って、90 % エタノール 6 ml でカラム内を洗浄した後、0.1 M 酢酸-90 % エタノール 12 ml, 0.2 M 酢酸-90 % エタノール 16 ml, 0.3 M 酢酸-酢酸カリウム-90 % エタノール (pH 6.5) 24 ml および 1 % 炭酸アンモニウム-70 % エタノール (pH 7.8) 24 ml で順次溶出し、中性画分、遊離胆汁酸画分、グリシン抱合胆汁酸画分、タウリン抱合胆汁酸画分、硫酸抱合胆汁酸画分に画分した。

硫酸抱合胆汁酸画分は蒸発乾固後、Eyssen ら⁴⁾の方法に従ってアセトン 9 ml, メタノール 1 ml, 6 N 塩酸 3 滴を加えて酸性とし、37 $^{\circ}$ C の恒温槽で 18 時間加温し、ソルボリシスを行なった。反応後は濃アンモニア水で中和し、続いてアルカリ水解を行った。

グリシン抱合胆汁酸画分、タウリン抱合胆汁酸画分およびソルボリス後の硫酸抱合胆汁酸画分は蒸発乾固し、その残渣に1 N水酸化ナトリウム溶液5 mlを加えて混和後、オートクレーブ(120°C, 1.2気圧)で4時間反応させアルカリ水解を行った。この反応液をn-ヘキサン5 mlで3回抽出し、得られた水層を50 ml容分液ロートに移し1 N塩酸で酸性(コンゴレッド試験紙)にした後、エチルエーテル15 mlで3回抽出した。

得られたエーテル層を中性となるまで蒸留水3 mlで3回洗浄し、エーテル層を無水硫酸ナトリウム3 g

で脱水後、ロータリー・エバポレーターで溶媒を減圧乾固した。

(2) 胆汁酸誘導体の調製

PHP-LH-20カラムで分画後の遊離胆汁酸画分、グリシンおよびタウリン抱合胆汁酸のアルカリ水解後および硫酸抱合胆汁酸のソルボリス、アルカリ水解後に得られた胆汁酸画分を減圧デシケーターで五酸化燐と共に十分に乾燥した。ついでこれらの遊離胆汁酸をメタノール0.5 ml、さらにジアゾメタン-エーテル溶液4.5 mlを加え室温で20分間反応せしめ、メチルエステル誘導体を作製した。溶媒を蒸発乾固後メタノー

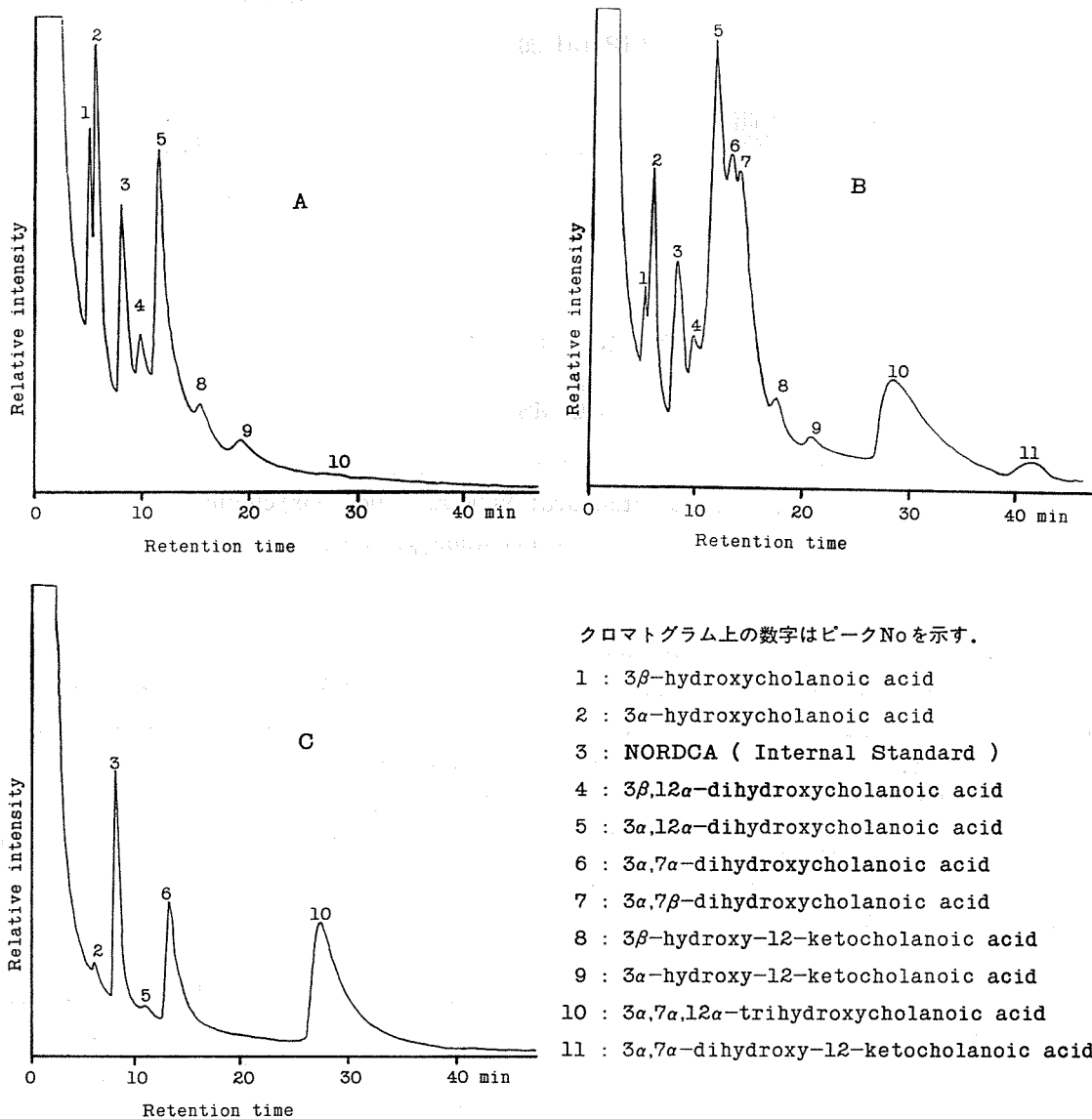


図 2. 糞便中胆汁酸メチルエステル誘導体のガスクロマトグラム

A : I群 (症例5), B : II群 (症例12), C : III群 (症例2)

GC条件: 1.5% QF-1, カラム温度; 230°C, 注入口温度; 250°C

ルで溶解し、2本のPyrex製小試験管(105mm×10mm)に半量ずつ移し空気流下に蒸発乾固した。

さらに一方を減圧デシケーターで乾燥後、無水酢酸1.5mlを加え封管し、140℃で4時間反応させ胆汁酸のメチルエステル・アセテート誘導体を得た。

(3) ガスクロマトグラフィー (GC)

ガスクロマトグラフ (MODEL GC-4CM, 島津製作所) を使用し、定量は分析処理装置 (CR-1A, 島津製作所) を用いて行った。胆汁酸のメチルエステル誘導体の分析には、コイル状ガラス管 (1.5m×3mm i.d.) に1.5% QF-1 (Gas Chrom Q, 100-120メッシュ) を充填したカラムをガスクロマトグラフに装着し、カラム温度230℃, 試料注入口温度250℃で、キャリアーガス (N₂, 流量60ml/min), H₂ (入口圧力

0.6kg/cm²), 空気 (入口圧力1.0kg/cm²) で行い、検出は水素炎イオン化検出器 (FID) によって行った。一方、胆汁酸のメチルエステル・アセテート誘導体および中性ステロールの分析には、同型の装置に3% OV-1 (Gas Chrom Q, 100-120メッシュ) を充填したカラムを用い、胆汁酸分析にはカラム温度260℃, 試料注入口温度275℃で、中性ステロールの分析にはカラム温度235℃, 試料注入口温度250℃で分析を行った以外は1.5% GF-1の場合と同様に行った。

(4) ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー (GC-MS)

胆汁酸 (メチルエステル・アセテート誘導体) および中性ステロールはGC-MSにて検討した。分析データ処理装置 (JMS-2000H) を接続したJMS-DX-300

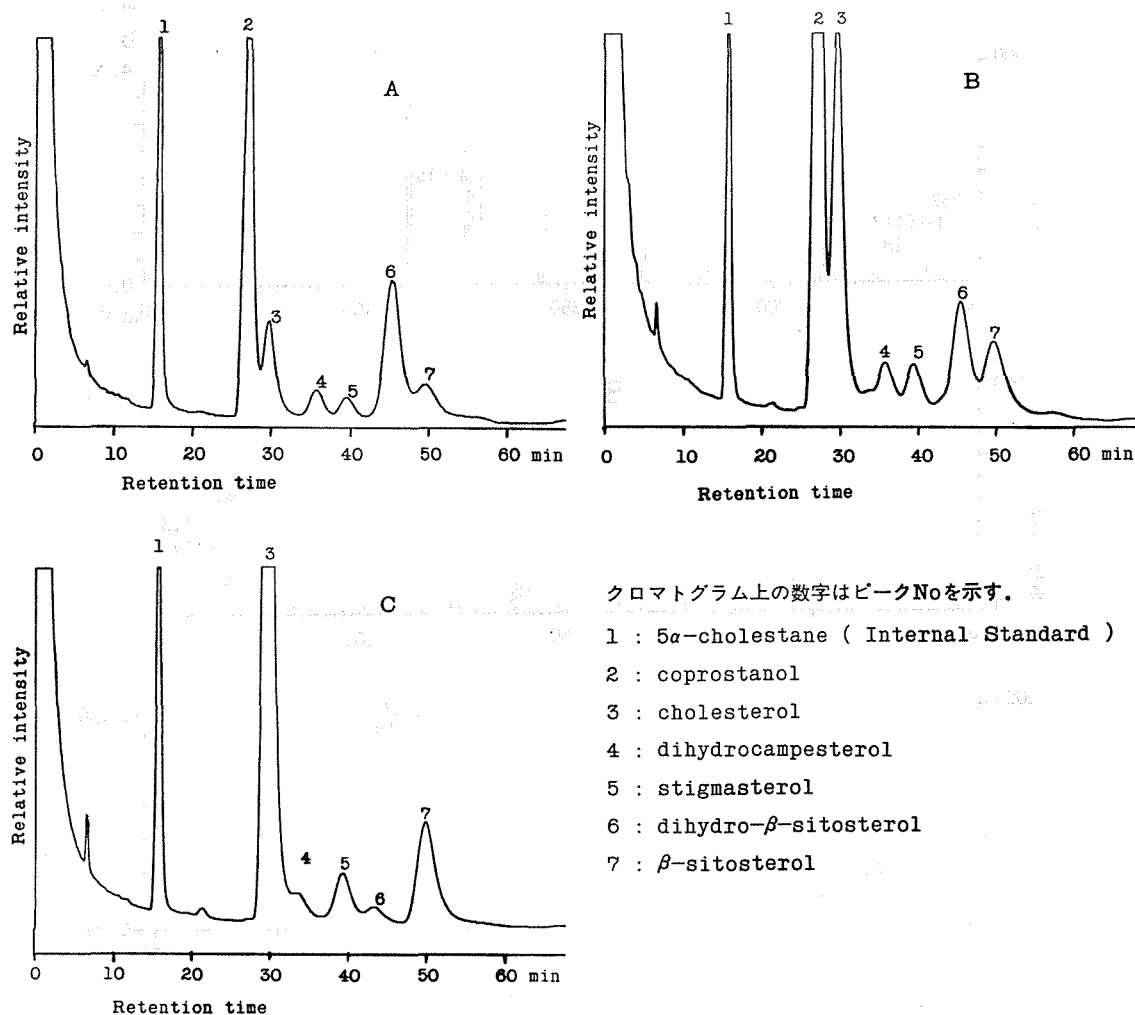


図3. 糞便中中性ステロールのガスクロマトグラム
 A: I群 (症例2), B: II群 (症例13), C: III群 (症例4)
 GC条件: 3% OV-1, カラム温度; 235℃, 注入口温度; 250℃
 略号は本文参照。

ガスクロマトグラフ・マススペクトロメーター（日本電子）を使用し、カラムは3% OV-1（Gas Chrom Q, 100-120メッシュ）をガラスカラム（1m×3mm i.d.）に充填したものを使用した。カラム温度260°C, セパレーター温度290°C, イオン化電圧70 eVとし、キャリアーガスはヘリウムを用い、流量を30 ml/minとした。

(5) 糞便中胆汁酸の同定と定量

糞便中胆汁酸の同定は猪川ら¹⁴⁾の方法に従って行った。すなわち、胆汁酸のメチルエステル誘導体を1.5% QF-1カラムで、またメチルエステル・アセテート誘導体を3% OV-1カラムで分析した。それぞれのカラムで得られたピークの本ノルデオキシコール酸(NORDCA)に対する相対保持時間(RRT)を標準

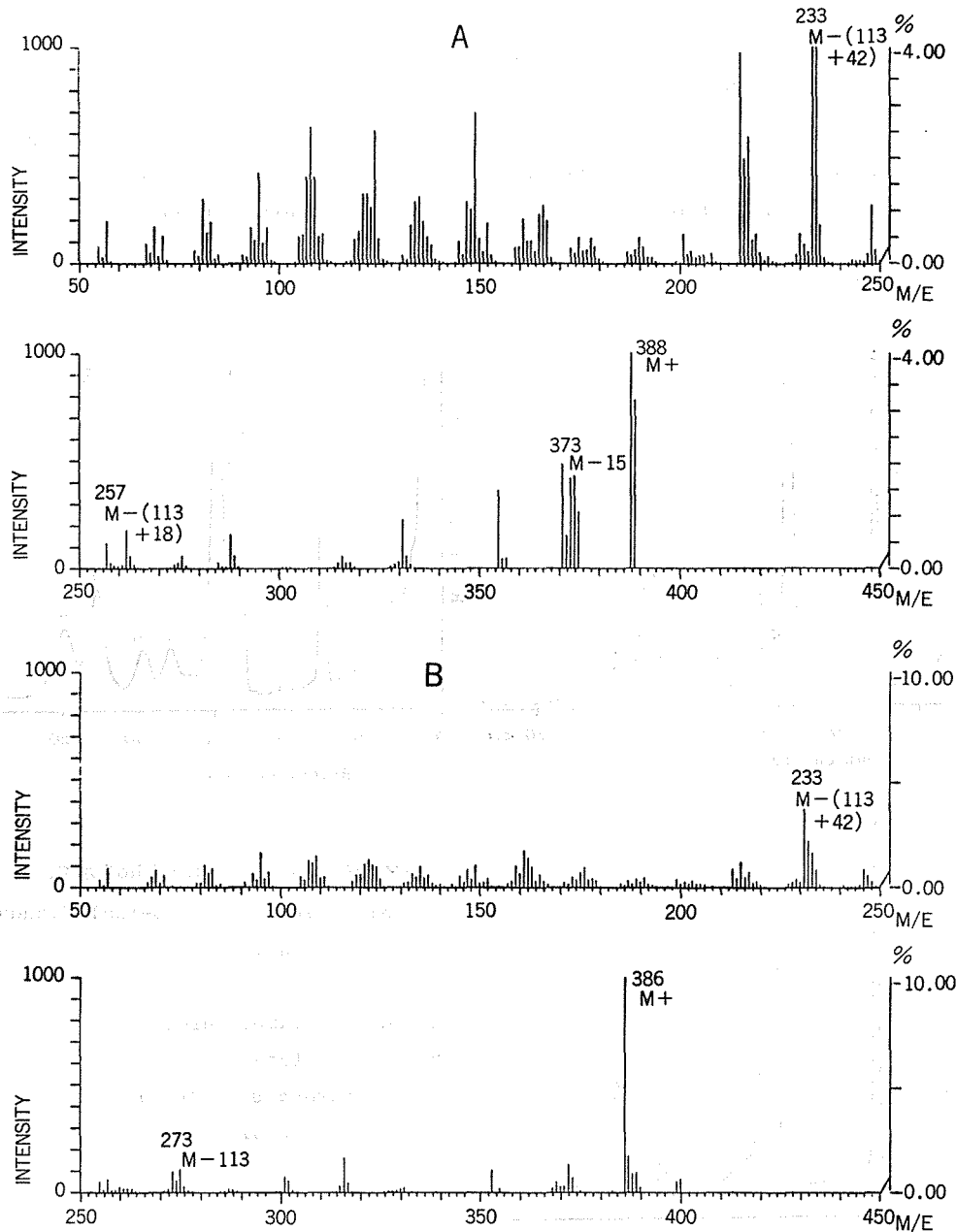


図4. 糞便中中性ステロールのマススペクトラ

Peak No 2 (A) : coprostanol

Peak No 3 (B) : cholesterol

GC-MS 条件 : 3% OV-1, カラム温度 250°C,
モレキュラーセパレーター温度 290°C, イオン化電圧 70 eV

胆汁酸のそれと比較し、両カラムにおいて既知の標準胆汁酸に相当するピークを認める場合、その標準胆汁酸と同一物質として同定した。また未知のピークはGC-MSにて同定した。

胆汁酸の定量はNORDCAを内部標準としガスクロマトグラム上のピーク面積をCR-1Aで分析、算出した。

(6) 糞便中中性ステロールの同定と定量

糞便中の中性ステロールは動物性ステロールと植物性ステロールに大別されるが、腸内細菌での分解産物も多く複雑であり、一般にGCのみでの同定には困難な場合が多い。そこで、GCおよびGC-MSで既報の方法¹⁴⁾に準じて同定した。

ステロールの定量は5 α -コレスタンを内部標準としクロマトグラム上のピーク面積をCR-1Aで分析、算出した。

実験成績

1. 糞便中胆汁酸のGC

図2に1.5% QF-1カラムで得られた糞便中胆汁酸のメチルエステル誘導体のガスクロマトグラムを示す。NORDCAは通常生体にほとんど存在せず、かつ他の胆汁酸とガスクロマトグラム上 retention time が重ならず、メチルエステル誘導体分析の内部標準物質として適当であった。

2. 糞便中中性ステロールのGCおよびGC-MS

糞便中中性ステロールのガスクロマトグラムを図3

に、GC-MSの分析結果の一部を図4に示す。図のピークNo1~7において、それぞれM⁺イオンとしてm/e 372, 388, 386, 402, 412, 416および414を確認した。

すなわち、ピーク1は内部標準の5 α -cholestane、ピーク2はcoprostanol、ピーク3はcholesterol、ピーク4は24 β -methylcoprostan-3 β -ol (dihydrocampesterol)、ピーク5はstigmasterol、ピーク6は24 β -ethylcoprostan-3 β -ol (dihydro- β -sitosterol) およびピーク7は β -sitosterolと同定した。

これらのうち、動物性ステロールはcoprostanol, cholesterolであり、植物性ステロールはdihydrocampesterol, stigmasterol, dihydro- β -sitosterol, β -sitosterolである。

3. 胆汁酸およびステロールの糞便への添加回収率ならびに再現性

凍結乾燥糞便25mgに50 μ gの各種標準胆汁酸および中性ステロールを添加し、図1に示した分析法に従って操作し、添加回収率を求めた。さらに同一試料を用いて同様な操作を行い本実験の再現性を検討した(表2)。

その結果、再現性は胆汁酸で変動率(C.V.)=6.5%、ステロールではC.V.=1.3%であった。

胆汁酸の回収率は、遊離胆汁酸が80-90%の回収率であったが、グリシン、タウリン抱合胆汁酸では70-80%であり、硫酸抱合胆汁酸のジ、トリハイドロキ

表2. 胆汁酸, ステロールの糞便への添加後の回収率(%)
(n = 5, Mean \pm SD)

Fraction	BA						
	LCA	DCA	UDCA	CDCA	CA	3 β ,12 α	NORDCA*
free	89.9 \pm 8.6	94.9 \pm 8.8	94.6 \pm 4.1	94.8 \pm 4.1	75.3 \pm 1.1	81.2 \pm 6.1	87.8 \pm 5.4
glycine	72.9 \pm 2.3	77.9 \pm 6.7	71.6 \pm 1.2	83.2 \pm 3.4	84.5 \pm 2.3	—	—
taurine	70.2 \pm 1.8	74.4 \pm 2.6	70.5 \pm 1.8	80.3 \pm 2.8	81.2 \pm 7.8	—	—
sulfate	81.2 \pm 5.6	—	—	62.3 \pm 1.5	61.8 \pm 1.3	—	—
sterol	coprostanol	cholesterol	cholestanol	β -sitosterol	5 α -cholestane*		
	96.4 \pm 2.9	98.3 \pm 7.2	106.0 \pm 9.9	99.7 \pm 6.5	100.2 \pm 2.4		

*: internal standard, LCA: lithocholic acid (3 α -hydroxycholanoic acid), DCA: deoxycholic acid (3 α ,12 α -dihydroxycholanoic acid), UDCA: ursodeoxycholic acid (3 α ,7 β -dihydroxycholanoic acid), CDCA: chenodeoxycholic acid (3 α ,7 α -dihydroxycholanoic acid), CA: cholic acid (3 α ,7 α ,12 α -trihydroxycholanoic acid), 3 β ,12 α : 3 β ,12 α -dihydroxycholanoic acid, NORDCA: nordeoxycholic acid (24-norcholanoic acid)

シ体は60%であった。これは、Amberlite XAD-2による抽出時の損失よりも、むしろソルボリス、アルカリ水解、抽出操作などの複雑な操作のため回収率が低下したためと考えられる。一方、操作手順が比較的簡単な中性ステロールでは、95—100%の回収率を示した。

4. 糞便中胆汁酸

(1) 胆汁酸構成

糞便中に認められる主な胆汁酸を表3, 4, 5および6に示した。

I群(対照群)では、 3β -hydroxycholanoic acid (3β), 3α -hydroxycholanoic acid (3α), 3β , 12α -dihydroxycholanoic acid (3β , 12α), 3α , 12α -dihydroxycholanoic acid (3α , 12α), 3β -hydroxy-12-ketocholanoic acid (3β , 12 -keto), 3α -hydroxy-12-ketocholanoic acid (3α , 12 -keto)が多く、II群(回盲部切除群)およびIII群(全大腸切除群)では 3α , 7α -dihydroxycholanoic acid (3α , 7α), 3α , 7β -dihydroxycholanoic acid (3α , 7β), 3α , 7α -

dihydroxy-12-ketocholanoic acid (3α , 7α , 12 -keto), 3α , 7α , 12α -trihydroxycholanoic acid (3α , 7α , 12α)が多く認められた。これらの胆汁酸のうちで、 3α , 7α および 3α , 7α , 12α は一次胆汁酸であり、他は二次胆汁酸である。この二次胆汁酸の中でC-3位の水酸基が β 位であるもの(以下 3β -OH胆汁酸)や12位がケトン基の胆汁酸(ケト胆汁酸)などはI群で多く認められた。

(2) 総胆汁酸量

表6および図5に示す如く、乾燥糞便1g当りの総胆汁酸量はI群 8.91 ± 5.22 mg, II群 24.95 ± 19.75 mg, III群 15.76 ± 13.94 mgであり、II群の総胆汁酸量はI群に比べ有意に($p < 0.05$)。高値であった一方、I群とIII群およびII群とIII群の間で有意差は認められなかった。

(3) 一次胆汁酸

一次胆汁酸量はI群 0.31 ± 0.52 mg, II群 15.70 ± 20.34 mg, III群 15.32 ± 13.91 mgであり、一次胆汁酸の総胆汁酸に占める割合はIII群で最も高く、94.7±

表3. 糞便中胆汁酸構成 (I群:対照群)
(n=13, $\mu\text{g/g}$ dry feces)

BA case											TBA	PBA	SBA
	$3\beta^*$	3α	3β , 12α	3α , 12α	3β , 12 - keto	3α , 12 - keto	3α , 7α , 12 - keto	3α , 7β	3α , $7\alpha^{**}$	3α , 7α , $12\alpha^{**}$			
1		42									608	225	383
2	678	2228	1854	6842	214	494	42	85	103	122	12393	0	12393
3	1054	2368	1778	3904	297	266					9580	0	9580
4	358	3483	1743	9527	210	410			48	36	16005	84	15921
5	799	1560	604	3624	400	246			55		7085	55	7030
6	1632	2682	725	3922	197	246					9404	0	9404
7	3203	1802	1672	3174	197	202				695	11311	695	10616
8	540	771	901	1908	563	42		21	258		4254	0	4254
9	789	507	892	361	71	150				420	3440	678	2762
10	708	4092	1060	11618	63	562		153		429	18622	429	18193
11	190	1646	626	7793		552				1812	12619	1812	10807
12	1180	1132	2248		427	745					5732	0	5732
13	664	1196	1053	1494	225	196					4828	0	4828

BA: bile acid, TBA: total bile acid, PBA: primary bile acid, SBA: secondary bile acid

*: 数字は5 β -コラン酸母核上の置換基の位置を示す。ketoはケトン基を,ギリシャ文字は水酸基の配位を示す。

** : 一次胆汁酸

表 4. 糞便中胆汁酸構成 (Ⅱ群: 回盲部切除群)
(n=15, μg/g dry feces)

BA case	3β*	3α	3β, 12α	3α, 12α	3β, 12- keto	3α, 12- keto	3α, 7α, 12- keto	3α, 7β	3α, 7α**	3α, 7α, 12α**	TBA	PBA	SBA	
1	1668	4982	1752	6500	453	684					16039	0	16039	
2	375						2000	2000	2773	6004	13152	8777	4375	
3	3257	2849	2658	5769	219	243	1000	2000	3000	3394	24389	6394	17995	
4	1624	3790	1412	5157	442	877					13302	0	13302	
5			324	240			2384	4864	4160	6994	18966	11154	7812	
6		172		1522		248	1088	1276		3228	7534	3228	4306	
7		37					520	1696	961	2100	5314	3061	2253	
8	78			142			2781	3022	3820	7730	17573	11550	6023	
9			63	60			1391	2969	2405	10153	17041	12558	4483	
10							492	1213	2848	2189	18483	25225	20672	4553
11		56	320	238			390	1108	2132	12818	10990	27662	23808	3854
12	1642	3909	1613	13206	243		84	235	2100	1042	24464	3142	21322	
13	347	1617	773	5807			1987	1116	5260	5463	6492	26875	11955	14920
14			549	592				558	2080	17542	60600	83908	78142	5766
15		79	601	272				1784	9104	15421	25582	52843	41003	11840

略号は表 3 参照

表 5. 糞便中胆汁酸構成 (Ⅲ群: 全大腸切除群)
(n=5, μg/g dry feces)

BA case	3α*	3α, 12α	3α, 7β	3α, 7α**	3α, 7α, 12α**	G- 3α, 7α**	G- 3α, 7α, 12α**	T- 3α, 7α**	T- 3α, 7α, 12α**	TBA	PBA	SBA
1	60	87		1043	2103	3333	5417	754	864	13661	13514	147
2	145	155		1596	6118	62	95	23		8194	7894	300
3	42	169	540	3862	9496	19		13		14141	13390	751
4	53	203	250	919	1953					3378	2872	506
5	45		460	6851	12781	8109	9881	761	541	39429	38924	505

略号は表 3 参照

G: glycine conjugated, T: taurine conjugated

5.7%であり、次いでⅡ群が52.5±30.6%であった。一方、Ⅰ群では一次胆汁酸は低値であり6.2±11.2%であった。なお、Ⅰ群とⅡ群で有意差(p<0.001)を認め、Ⅱ群とⅢ群との間でも有意差(p<0.01)を認

めた。

(4) 二次胆汁酸

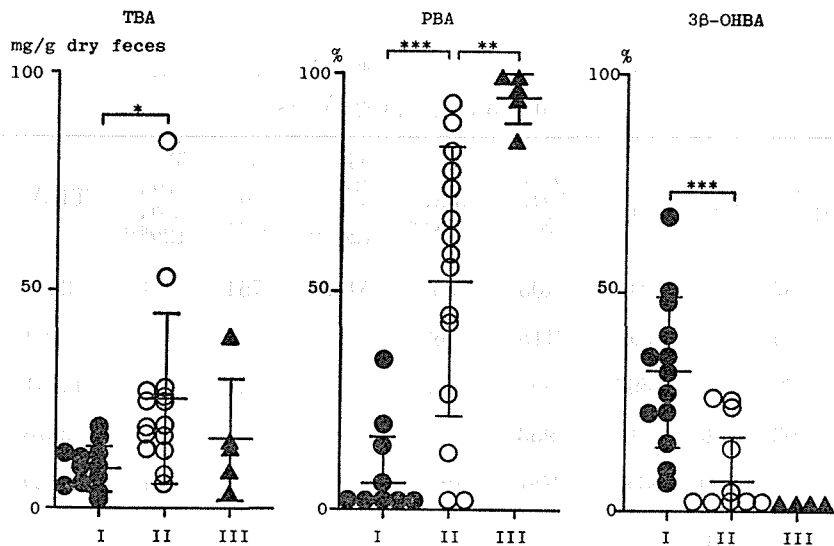
二次胆汁酸量はⅠ群で8.61±5.13 mg, Ⅱ群で9.27±6.11 mg, Ⅲ群で0.44±0.23 mg となり、Ⅰ群、Ⅱ

表 6. 各群の糞便中胆汁酸量と組成
(mg/g dry feces, Mean±SD)

BA	群	I 群 (n=13)	II 群 (n=15)	III 群 (n=5)
3β		0.91±0.81	0.60±0.99	—
3α		1.81±1.16	1.17±1.79	0.07±0.04
3β, 12α		1.17±0.64	0.67±0.82	—
3α, 12α		4.17±3.74	2.63±3.86	0.12±0.08
3β, 12-keto		0.22±0.17	—	—
3α, 12-keto		0.32±0.22	0.33±0.54	—
3α, 7α, 12-keto		—	1.14±0.84	—
3α, 7β		0.02±0.05	2.63±2.36	0.25±0.25
3α, 7α		0.04±0.07	4.84±5.68	5.47±5.97
3α, 7α, 12α		0.27±0.52	10.85±15.45	9.85±8.00
TBA (mg/g d. f.)		8.91±5.22	24.95±19.75	15.79±13.94
PBA (mg/g d. f.)		0.31±0.52	15.70±20.34	15.32±13.91
PBA/TBA (%)		6.2±11.2	52.5±30.6	94.7±5.7
SBA (mg/g d. f.)		8.61±5.13	9.27±6.11	0.44±0.23
3β-OHBA/TBA (%)		31.8±17.2	6.8±10.1	—

略号は表3参照

3β-OHBA: 3β-hydroxy bile acid, d. f. : dry feces



* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

図 5. 各群における総胆汁酸量 (TBA), 一次胆汁酸 (PBA) および 3β-OH 胆汁酸 (3β-OHBA) の総胆汁酸に占める割合

I : I群, II : II群, III : III群

* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

略号は表3参照.

群間では有意差はみられなかったが、ややⅡ群において高値を示した。一方、全大腸を切除し永久回腸瘻を造設したⅢ群では、二次胆汁酸はほとんど認められなかった。

二次胆汁酸のうちで、 3β -OH 胆汁酸や、ケト胆汁酸はⅠ群において多く認められた。とくに 3β -OH 胆汁酸の総胆汁酸に占める割合はⅠ群において $31.8 \pm 17.2\%$ と、他の群(Ⅱ群 $6.8 \pm 10.1\%$ 、Ⅲ群 0) に比べ有意 ($p < 0.001$) に高値であった。

(5) 糞便中胆汁酸量と回腸切除の長さとの関係

乾燥糞便 1 g 中の総胆汁酸量を縦軸に、切除した回腸の長さを横軸に、Ⅱ群およびⅢ群の症例をプロットしていくと図 6 のようになる。すなわち、糞便中総胆汁酸量は残存大腸の有無にかかわらず、切除した回腸の長さが増加するにつれて増加する傾向にあり、これは $y = 0.76x + 3.44$ と直線的に相関し ($p < 0.001$)、相関係数は $r = 0.837$ であった。

5. 糞便中中性ステロール

(1) 糞便中中性ステロール構成

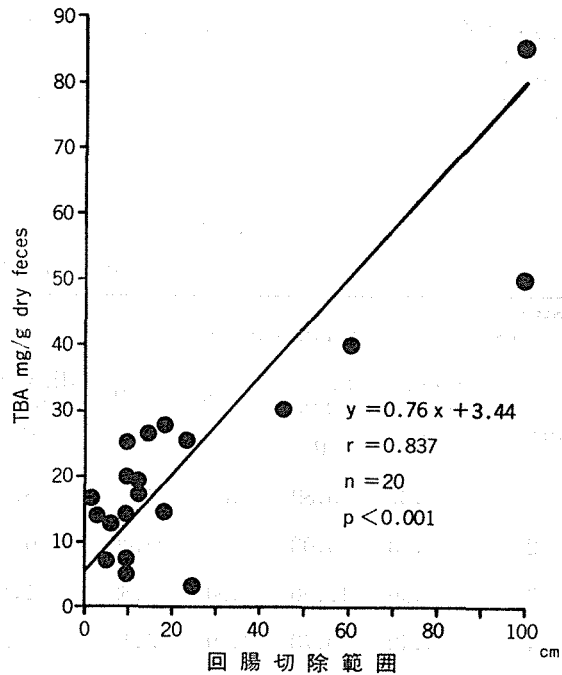


図 6. 糞便中総胆汁酸量と切除回腸の長さの関係

表 7. 糞便中中性ステロール構成 (Ⅰ群: 対照群)
(n = 13, mg/g dry feces)

ste- rols case	animal sterols				plant sterols					others	total
	choles- terol (ch)	copro- stanol (cp)	cp/ch	total	dihydro- campe- sterol	stigma- sterol	dihydro- β -sitos- terol	β -sitos- terol	total		
1	18.08	0	0	18.08	0	1.76	0	5.17	6.93	0.81	25.82
2	6.16	36.20	5.88	42.36	2.82	1.64	7.27	1.62	13.35	1.20	56.91
3	11.48	47.20	4.11	58.68	5.89	2.52	14.71	4.54	27.66	5.95	92.29
4	22.38	36.86	1.65	59.24	0.92	1.62	7.01	3.74	13.29	0.49	73.02
5	1.95	7.85	4.03	9.80	0.85	0.95	3.33	1.10	6.23	0.13	16.16
6	5.72	38.17	6.67	43.89	2.94	1.64	11.23	1.07	16.88	1.48	62.25
7	5.11	47.85	9.36	52.96	4.08	2.82	20.55	2.45	29.90	2.64	85.50
8	6.14	13.93	2.27	20.07	1.47	1.32	5.04	2.29	10.12	1.53	31.72
9	4.93	23.95	4.86	28.88	1.63	1.78	8.02	4.83	16.26	1.32	46.46
10	2.10	7.34	3.50	9.44	0.83	0.67	4.83	1.93	8.26	0.39	18.09
11	23.34	6.95	0.30	30.29	0.23	1.53	1.29	5.89	8.94	0.44	39.67
12	20.76	19.90	0.96	40.66	2.29	2.53	5.02	5.24	15.08	0.91	56.65
13	3.38	33.53	9.92	36.91	2.49	1.66	7.82	1.20	13.17	1.76	51.84

Dihydro- β -sitosterol : 24β -ethylcoprostan- 3β -ol, dihydrocampesterol : 24β -methylcoprostan- 3β -ol

糞便中には食物に含まれるステロール、胆汁および腸壁から腸管内に排泄されるステロール、および腸内細菌により分解されたステロールなど種々のステロールが含まれており、糞便中中性ステロールの種類は胆汁酸同様多種多様にわたっている。しかし、通常糞便

中に検出されるステロールは大きく動物性ステロールと植物性ステロールに分けられるが、食物中に含まれている植物性ステロールは消化管よりの吸収は少ないと報告されている⁵⁾²⁷⁾。

動物性ステロールでは cholesterol や、この cholest-

表 8. 糞便中中性ステロール構成 (II群: 回盲部切除群)
(n=15, mg/g dry feces)

ste- rols case	animal sterols				plant sterols					others	total
	choles- terol (ch)	copro- stanol (cp)	cp/ch	total	dihydro- campe- treol	stigmas- terol	dihydro- β-sitos- terol	β-sitos- sterol	total		
1	18.37	15.89	0.86	34.26	8.54	4.54	8.73	7.31	29.12	0.43	63.81
2	25.43	0.03	0	25.46	0	1.88	0	4.76	6.64	0.81	32.91
3	5.96	17.86	3.00	23.82	1.45	1.29	4.54	1.47	8.75	0.47	33.04
4	4.42	20.73	4.69	25.15	3.21	2.05	8.66	2.59	16.51	2.24	43.90
5	18.40	0	0	18.40	0	1.51	0	3.91	5.42	0.83	24.65
6	12.24	0	0	12.24	0	1.09	0	3.46	4.55	0.50	17.29
7	12.74	0	0	12.74	0	1.60	0	4.49	6.09	0.97	19.80
8	18.39	0.05	0	18.44	0	1.32	0	3.87	5.19	0.74	24.37
9	18.44	0	0	18.44	0	1.12	0	3.93	5.05	0.58	24.07
10	8.54	0	0	8.54	0.20	1.00	0	3.63	4.83	0.57	13.94
11	23.14	0	0	23.14	0	2.32	0	5.82	8.14	1.03	32.31
12	4.64	19.70	4.25	24.34	2.15	1.27	6.21	1.20	10.83	0.99	36.16
13	7.92	13.75	1.74	21.67	1.51	1.54	4.11	2.95	10.11	0.75	32.53
14	9.58	0	0	9.58	0	0.71	0	2.34	3.05	0.45	13.08
15	9.00	0	0	9.00	0	0.94	0	3.17	4.11	0.42	13.53

表 9. 糞便中中性ステロール構成 (III群: 全大腸切除群)
(n=5, mg/g dry feces)

ste- rols case	animal sterols				plant sterols					others	total
	choles- terol (ch)	copro- stanol (cp)	cp/ch	sub- total	dihydro- campe- terol	stigmas- terol	dihydro- β-sitos- terol	β-sitos- sterol	sub- total		
1	14.06	0	0	14.06	0	0.91	0	2.19	3.10	0.22	17.38
2	18.44	0	0	18.44	0.11	1.38	0	4.06	5.55	0.44	24.46
3	15.94	0	0	15.94	0	1.15	0	2.90	4.05	0.41	20.40
4	9.87	0	0	9.87	0.08	1.22	0	3.84	5.14	0.75	15.76
5	7.96	0	0	7.96	0.06	0.33	0	1.73	2.12	0.07	10.15

sterol の二重結合が腸内細菌により還元されて生ずる coprostanol が認められ、植物性ステロールでは dihydrocampesterol, stigmasterol, β -sitosterol, dihydro- β -sitosterol などが認められた (表

7, 8, 9). (2) 糞便中中性ステロール量
各群とも動物ステロールが植物ステロールの 2~3 倍量多く認められた (表 10). 乾燥糞便 1 g 当りの総

表10. 各群の糞便中中性ステロール量と組成 (mg/g dry feces, Mean \pm SD)

Sterols	群		
	I 群 (n=13)	II 群 (n=15)	III 群 (n=5)
animal sterols			
cholesterol (ch)	10.12 \pm 8.08	13.15 \pm 6.77	13.25 \pm 4.31
coprostanol (cp)	24.59 \pm 16.41	5.87 \pm 8.7	0
$\frac{cp}{ch}$	4.12 \pm 3.20	10.97 \pm 1.66	0
subtotal	34.71 \pm 17.07	19.01 \pm 7.43	13.26 \pm 4.32
plant sterols			
dihydrocampesterol	2.03 \pm 1.65	1.14 \pm 2.28	0.05 \pm 0.05
stigmasterol	1.73 \pm 0.61	1.61 \pm 0.92	1.00 \pm 0.41
dihydro- β -sitosterol (DiH- β -sito)	7.39 \pm 5.54	2.15 \pm 3.36	0
β -sitosterol (β -sito)	3.16 \pm 1.79	3.66 \pm 1.57	2.94 \pm 1.01
$\frac{DiH-\beta-sito}{\beta-sito}$	3.83 \pm 3.20	0.95 \pm 1.64	0
subtotal	14.31 \pm 7.29	8.56 \pm 6.64	3.99 \pm 1.42
total amounts	50.49\pm24.19	28.36\pm13.47	17.63\pm5.33

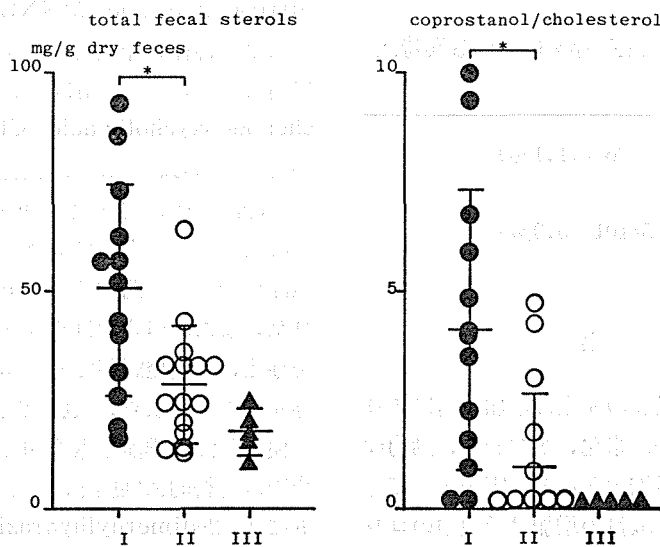


図 7. 各群における糞便中総中性ステロール量(total fecal sterols) および coprostanol/cholesterol 比
I : I群, II : II群, III : III群, * p<0.01

ステロール量は、I群 50.49 ± 24.19 mg, II群 28.36 ± 13.47 mg, III群 17.63 ± 5.33 mg と I 群が II 群, III 群に比し有意 ($p < 0.01$) に高かった. 動物性ステロールでは、I 群は cholesterol 10.12 ± 8.08 mg に対し coprostanol 24.59 ± 16.41 mg と高く, coprostanol (cp) と cholesterol (ch) の比 cp/ch は 4.12 ± 3.20 であった. 一方, II 群では cholesterol が 13.15 ± 6.77 mg と I 群に比し高値であり, coprostanol は 5.87 ± 8.71 mg と低下し, cp/ch は 0.97 ± 1.66 となり, I 群と II 群の間で有意差 ($p < 0.01$) が認められた. また, III 群では coprostanol は認められず, II 群および III 群で腸内細菌の抑制, あるいは細菌数の減少が示唆された (図 7).

植物性ステロールも II 群および III 群で β -sitosterol より腸内細菌により還元をうけたと考えられる dihydro- β -sitosterol が I 群に比べ低値であり, 動物性ステロールと同様の現象がおこっているものと推察された.

6. 教室における異時性大腸癌症例の検討

昭和 24 年より昭和 58 年までの 35 年間で鳥取大学第一外科教室において切除をうけた大腸癌症例は 450 例であった. このうち大腸癌手術後 5 年以上生存した症例は 137 例であった. この中で, 初回手術として左半結腸に対する手術が行なわれた 101 例中, 異時性大腸癌の発生をみたものは 5 例 (5.0%) であったが, 初回手術時に回盲部が切除された例では 36 例中 4 例 (11.1%) と, 2 倍以上の高頻度に異時性大腸癌の発生がみられた (表 11).

表 11. 大腸癌切除後 5 年以上生存例における異時性大腸癌症例

回盲部切除例	4/36 (11.1%)
回盲部温存例	5/101 (5.0%)

考 察

近年, 本邦における大腸癌の発生は増加傾向にあり⁴⁵⁾, その原因に食餌内容の欧米化, すなわち, 動物性蛋白質および脂肪の摂取量増大が重要な因子として考えられている. これらの摂取量の増加は糞便中のコレステロールや, その代謝産物および胆汁酸の量的, 質的变化を招き, 同時に腸内細菌叢の変化を惹起し, これらの諸因子が大腸癌の発生に強い関連性をもつもの

と考えられる¹⁰⁾²¹⁾²²⁾⁵⁰⁾.

Hill ら⁸⁾⁹⁾はアフリカ人やアジア人に比べ, 脂肪や動物性蛋白質を多く摂取する西欧人に大腸癌発生率が高く, また糞便中胆汁酸や中性ステロールの排泄量が増加していると報告している. Reddy ら⁴³⁾も高脂肪食摂取に伴ない糞便中胆汁酸量の増加, とりわけ cholic acid (CA), deoxycholic acid (DCA), lithocholic acid (LCA) が増加することによる胆汁酸組成の変化が大腸癌と密接な関連性を有していることを指摘している. さらに Reddy ら⁴²⁾は大腸癌や大腸腺腫患者の 1 日糞便中総胆汁酸量の増加, とくに, DCA, LCA の二次胆汁酸の増加を指摘しているが, Mudd ら³²⁾は大腸癌群でも総胆汁酸排泄量は対照群に比較して, 有意差はみられなかったと報告している. また, 佐々木⁴⁴⁾も日本人大腸癌症例を検討した結果, 総胆汁酸量では変化はなかったが, 大腸癌群でむしろ一次胆汁酸が増加していたと報告している.

この様に, 糞便中胆汁酸や中性ステロールを測定することは大腸癌の要因を知る上で重要であり, 臨床的に大腸癌患者や大腸癌前癌状態と考えられている家族性ポリポージス患者, 大腸腺腫患者らの糞便中胆汁酸および中性ステロールの測定が行われてきた¹⁷⁾³²⁾³⁷⁾³⁸⁾⁴⁰⁾⁴²⁾⁴³⁾.

胆汁酸排泄量は食餌中のコレステロールの多少により左右されるという報告もあり²⁾²³⁾³¹⁾⁵¹⁾⁵²⁾, 現時点では臨床的に糞便中胆汁酸と大腸癌の関係を直接証明するにいたっていない. しかし, ラットを用いた発癌実験において, 発癌剤である N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) を予め投与した後, 注腸により各種胆汁酸を投与すると, 癌腫発生率は有意に高まるが, この作用は二次胆汁酸のみならず CA や chenodeoxycholic acid (CDCA) の一次胆汁酸においても認められることが報告されている¹⁹⁾³⁵⁾⁴¹⁾.

胆汁酸自体の発癌性については, 胆汁酸単独注腸投与によって癌の発生は認められなかったとされ³⁵⁾⁴¹⁾, 胆汁酸の発癌に関するプロモーター作用が明らかにされた. また高田ら⁴⁷⁾はラットにコレステロール含有食を与え, 大腸発癌剤である azoxymethane を皮下投与することにより, 大腸発癌率は有意に高まり, また糞便中胆汁酸排泄量も増加したと報告しており, 竹田²⁶⁾⁴⁸⁾は外科的に回腸末端部を切除したり空置したラットに 1, 2-dimethylhydrazine (DMH) を投与すると, 大腸癌発生率が高まり, これは回腸末端部切除により多量の胆汁酸が大腸に流入した結果であると指摘している.

万木⁵⁴⁾は、*in vitro* で C3H 10T 1/2 細胞を MNNG で処理した後、各種胆汁酸を含む培地で培養すると、MNNG単独群にくらべ胆汁酸添加群で transformed focus の出現が増加したが、あらかじめ胆汁酸を作用させた後に MNNG 処理を行った場合には、胆汁酸の transformation 促進作用は認められなかったとし、細胞レベルでの胆汁酸の発癌のプロモーター作用を明らかにした。さらに、この作用は従来毒性が強いとされていた二次胆汁酸のみならず、一次胆汁酸にも認められたと述べている。

胆汁酸は肝臓においてコレステロールから生成される異化代謝産物であり、CDCA, CA がほとんどを占めており、これらの胆汁酸はグリシンやタウリンと抱合した状態で胆汁中に分泌されるが、主に回腸末端部でその 80% が再吸収され、門脈を経て肝臓へかえるという腸肝循環を営んでいる。回腸より再吸収をうけない約 15% の胆汁酸は大腸に流入し、腸内細菌の作用により脱抱合、二次胆汁酸への変換などの作用をうける。これらの胆汁酸は大腸における Na⁺ や水の再吸収を抑制し、Cl⁻ の排泄を増加させる作用をもち、大腸内に多量に胆汁酸が流入する状態は下痢を惹起する結果ともなる²⁰⁾²²⁾³³⁾。

胆汁酸の主たる再吸収部位である回腸末端部を外科的に切除すれば、多量の胆汁酸が大腸に流入する結果、消化管粘膜とくに大腸粘膜に対し細胞障害性に作用することから、下痢や大腸発癌に何らかの影響をおよぼすであろうことは容易に想像できる¹¹⁾¹²⁾²⁴⁾³⁰⁾。

そこで、著者は教室における過去 35 年間の大腸癌手術例 450 例について、残存大腸癌に発生をみた異時性大腸癌を検討した。初発癌手術の際に大腸管腔内播種による再発癌の可能性をのぞくために、初発癌手術時より 5 年以上経過し、残存大腸に癌発生をみた症例を異時性大腸癌症例として取扱った。この結果、大腸癌切除後 5 年以上生存例は 137 例で、異時性大腸癌症例は 9 例であった。このうち、初回手術時に回盲部切除が行われた症例では 4/36 (11.1%) と、回盲部が温存された例 5/101 (5.0%) より 2 倍の高頻度に異時性大腸癌を認めた。これは 1) 回盲部切除例では大腸癌好発部位である直腸が残っている。2) 初回手術時に大腸管腔内播種があった、3) 初回手術時に残存大腸の癌を見おとしていた、などの要因も考えられるが、回盲部を切除したため再吸収をまぬがれた胆汁酸が大量に大腸に流入し、残存大腸発癌に対し促進的に作用する内的環境を形成することが強く示唆される。

著者は回盲部切除をうけた患者の糞便中胆汁酸およ

び中性ステロール構成の変化を分析することにより、回盲部切除後の異時性大腸癌発生への潜在的因子を検討した。

今回対象とした症例は対照群 13 例、回盲部切除群 15 例、および全大腸切除兼永久回腸瘻造設群 5 例である。これらの症例では、手術や術後の抗生物質の影響が消え、腸内細菌叢が安定となった時期をえらび、手術より検査までの期間を最低 6 か月とした。従来、腸内細菌叢はかなり安定したものであり、異なる食餌内容によって菌種に変化が生じるには 1 か月かかるという報告もあり⁵⁰⁾、またラットにおける結腸切除後の小腸内細菌叢では、術後 1~2 週目に嫌気性菌の一時的な高値がみられるが、以後数か月で腸内細菌叢は安定してくるといわれる⁵³⁾。

さらに、糞便中胆汁酸や中性ステロールの排泄量は食餌内容によって大きく変動するため²⁾³¹⁾⁵¹⁾、食餌による胆汁酸排泄量の変動を最小とするために、対照群を含め全症例に 6 日間の入院処置をとり一定食を摂取させ、できるだけ食餌や生活因子による影響を少なくした。さらに、最初の 3 日間の糞便は捨て、残り 3 日間の糞便を採取し分析に供した。

糞便中胆汁酸および中性ステロールの分析は従来より GC や GC-MS を使用した Grundy⁷⁾ や Reddy³⁴⁾ の方法が行なわれてきたが、操作が繁雑であることや、3 α -OH 胆汁酸と 3 β -OH 胆汁酸の分離が不十分である点など問題点があり、本実験では滝田⁴⁹⁾ の方法に多少の改良を加えた分析方法を用いた。この方法では少量の凍結乾燥便を使用するため、糞便の大量処理に伴う不快な諸問題の軽減に役立ち、内部標準物質を添加することにより抽出操作による損失を補正することが可能であった。また 1.5% QF-1 カラムの使用により、3 α -OH 胆汁酸と 3 β -OH 胆汁酸の分離も可能であった。

糞便中総胆汁酸量は健常人で乾燥糞便 1 g 当り 18.9 \pm 5.22 mg であったが、回盲部切除群で 24.95 \pm 19.75 mg と有意 ($p < 0.05$) に増加しており、CDCA, CA の一次胆汁酸が健常人で 0.31 \pm 0.52 mg であったのに対し回盲部切除群で 15.70 \pm 20.34 mg と増加していた。二次胆汁酸も回盲部切除群で有意差はないものの増加する傾向にあり、ursodeoxycholic acid (UDCA) が 2.63 \pm 2.36 mg と多く認められたが、逆に 3 β -OH 胆汁酸や LCA, DCA は減少した。とくに、DCA は健常人で 4.17 \pm 3.74 mg であったのに対し、回盲部切除群で 2.63 \pm 0.39 mg と減少が著明であった。この結果は Kern²⁵⁾ や Aldini^{ら¹⁾} の報告と

一致した。また、この DCA の減少は回盲部切除後患者の胆汁中でも同様に認められると報告されている¹³⁾¹⁶⁾³⁴⁾。

各群の糞便中胆汁酸構成を比較してみると全大腸切除群では一次胆汁酸が 95 % 前後を占める。回盲部切除群では残存大腸が存在するために、一次胆汁酸より二次胆汁酸への変換がおこなわれうる。しかし、残存大腸が短いため大腸腸内細菌数が減少したり、大量に大腸に流入した胆汁酸により腸内細菌が量的、質的に影響を受けたり、胆汁酸により大腸粘膜の水分吸収作用が抑制され糞便通過時間が短縮し、胆汁酸と腸内細菌の接触時間が短縮され、その結果、糞便中に CA, CDCA や UDCA, 3 α , 7 α , 12-keto などの胆汁酸が多く排泄される。また、全大腸切除群では遊離胆汁酸の他抱合胆汁酸が認められたが、腸内細菌による胆汁酸の脱抱合は、一次胆汁酸より二次胆汁酸への変換より先行すると考えられる。さらに、排泄される総胆汁酸量は残存大腸の有無にかかわらず、切除された回腸の長さ按比例して増加した。

一方、糞便中中性ステロールは、種類も多く、腸内細菌による代謝産物も多く存在するため⁹⁾、著者は GC のみでなく GC-MS を使用し同定定量した。糞便中に多く認められたステロールは動物ステロールである。cholesterol と coprostanol であったが、cholesterol は腸内細菌により coprostanol、さらに coprostanone に変換される²⁷⁾⁴⁶⁾⁵²⁾。Hill ら⁸⁾は英国人、インド人、ウガンダ人の糞便中ステロールを比較し、大腸癌発生頻度の高い英国人ではインド人、ウガンダ人に比し coprostanol や coprostanone が増加していると報告している。Reddy ら⁴³⁾も大腸癌や腺腫性ポリープ症例で、糞便中総ステロール量および coprostanol, coprostanone が増加していると報告している。

今回の実験において動物性ステロールは健常群 34.71 \pm 17.07 mg/1g 乾燥糞便で、回盲部切除群 19.01 \pm 7.43 mg, 全大腸切除群 13.26 \pm 4.32 mg と低下していた。これには coprostanol の低下が主で、逆に cholesterol は健常群 10.12 \pm 8.08 mg に対し、回盲部切除群 13.15 \pm 6.77 mg, 全大腸切除群 13.25 \pm 4.31 mg と上昇していた。すなわち、胆汁酸と同様に腸内細菌の変化により、cholesterol より coprostanol への変換がおこりにくいためと考えられる。

この様に、糞便中胆汁酸の測定は消化管疾患や消化管手術後の胆汁酸動態を知る上で重要であるが、近年 hydroxysteroid dehydrogenase (HSD) を使用し

た分析方法も報告されており³⁾³²⁾、著者ら¹⁵⁾の報告した方法も今後簡便な分析方法として臨床面での応用が可能と考えられる。

以上、糞便中胆汁酸およびステロール構成の面より検討を加えた結果、胆汁酸の主たる吸収部位である回腸末端部を外科的に切除すると、大腸内へ多量に胆汁酸が流入し、大腸腸内細菌の抑制がおこる。その結果、一次胆汁酸より二次胆汁酸への変換がおこなわれにくくなり、糞便中へ排泄される総胆汁酸量、とりわけ一次胆汁酸量が増加してくる。一方、異時性大腸癌発生頻度は回盲部切除例において高いことから、この糞便中に増加した一次胆汁酸が残存大腸における発癌に何らかの関係をもつものと考えられる。

結 語

教室における異時性大腸癌症例を検討したところ、大腸癌手術後 5 年以上生存例における異時性大腸癌発生頻度は、回盲部温存例において 5/101 (5.0 %) であったのに対し、回盲部切除例では 4/36 (11.1 %) と高値であった。

このことは、大腸癌発生に係りをもつとされている胆汁酸および中性ステロールの代謝動態異常がこれら異時性大腸癌発生に関与していることを強く示唆している。著者は回盲部切除群、全大腸切除群の糞便中胆汁酸および中性ステロールの構成と総量を、健常群のそれと比較検討し、以下の結果を得た。

- 1) 凍結乾燥便 1 g 当りの平均総胆汁酸量は健常群 8.91 mg, 回盲部切除群 24.95 mg, 全大腸切除群 15.79 mg であり、健常群と回盲部切除群の間に有意差 ($p < 0.05$) を認めた。
- 2) 回盲部切除群および全大腸切除群における糞便中総胆汁酸排泄量は切除回腸の長さ按比例して増加した。
- 3) 糞便中の平均一次胆汁酸量は、健常群 0.31 mg に対し、回盲部切除群 15.70 mg, 全大腸切除群 15.32 mg と有意 ($p < 0.001$) に増加していた。
- 4) 糞便中の平均二次胆汁酸量は、健常群 8.61 mg, 回盲部切除群 9.27 mg と差はなかったが、全大腸切除群では極く微量であった。また、回盲部切除群では ursodeoxycholic acid, 3 α , 7 α -dihydroxy-12-ketocholanoic acid が多く認められた。
- 5) 糞便中の平均総ステロール量は、健常群 50.49 mg, 回盲部切除群 28.36 mg, 全大腸切除群 17.63 mg であった。
- 6) coprostanol/cholesterol 比の平均は、健常群

4.12, 回盲部切除群 0.97, 全大腸切除群 0 となり, coprostanol の有意の減少がみられ, 大腸腸内細菌の量的質的变化がおこなっていることが示唆された。

以上のことより, 胆汁酸の主たる吸収部位である回腸末端部の切除により, 総胆汁酸とりわけ一次胆汁酸の大腸への流入が増大し, 正常と異なった胆汁酸および中性ステロール構成が惹起されることが明らかとなった。

このことは残存大腸における異時性大腸癌の発生頻度の増加と, 深い係りをもつものと考えられる。

本稿を終るに臨み, 終始懇篤なる御指導, 御校閲を賜った本学外科学第1教室古賀成昌教授, 貝原信明助教授, ならびにステロイド医学研究施設化学部門猪川嗣朗教授に深甚なる謝意を捧げるとともに, 本研究にあたり御指導と御助言を戴いたステロイド医学研究施設化学部門武良哲雄講師をはじめ, 同教室員に感謝する。

本論文の要旨は第84回日本外科学会(京都)において発表した。

なお, 本研究の一部は文部省科学研究費(課題番号58480285)の援助を受けた。

文 献

- 1) Aldini, R., Roda, A., Festi, D., Sama, C., Mazzella, G., Bazzoli, F., Morselli, A.M., Roda, E. and Barbara, L. (1982). Bile acid malabsorption and bile acid diarrhea in intestinal resection. *Dig Dis Sci* **27**, 495-502.
- 2) Brussaard, J. H., Katan, M. B. and Hautvast, J. G. A. J. (1983). Faecal excretion of bile acids and neutral sterols on diets differing in type and amount of dietary fat in young healthy persons. *Eur J Clin Invest* **13**, 115-122.
- 3) Crowell, M. J. and Macdonald, I. A. (1980). Enzymatic determination of 3 α -, 7 α -, and 12 α -hydroxyl group of fecal bile salts. *Clin Chem* **26**, 1298-1300.
- 4) Eyssen, H. J., Parmentier, G. G. and Mertens, J. A. (1976). Sulfated bile acids in germ-free and conventional mice. *Eur J Biochem* **66**, 507-514.
- 5) Gerhardt, K. O., Gehrke, C. W., Rogers, I. T., Flynn, M. A. and Hentges, D. J. (1977). Gas-liquid chromatography of fecal neutral sterols. *J Chromato* **135**, 341-349.
- 6) Goto, J., Hasegawa, M., Kato, H. and Nambara, T. (1978). A new method for simultaneous determination of bile acids in human bile without hydrolysis. *Clin Chim Acta* **87**, 141-147.
- 7) Grundy, S. M., Ahrens, E. H. Jr. and Miettinen, T. A. (1965). Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total fecal bile acids. *J Lipid Res* **6**, 397-410.
- 8) Hill, M. J. and Aries, V. C. (1971). Faecal steroid composition and its relationship to cancer of the large bowel. *J Pathol* **104**, 129-139.
- 9) Hill, M. J. (1971). The effect of some factors on the faecal concentration of acid steroids, neutral steroids and urobilins. *J Pathol* **104**, 239-245.
- 10) 広野 巖 (1981). 大腸癌の発生と腸内細菌の役割. *日本臨床* **39**, 2028-2031.
- 11) Hofmann, A. F. (1972). Bile acid malabsorption caused by ileal resection. *Arch Intern Med* **130**, 597-605.
- 12) Hofmann, A. F. and Poley, J. R. (1972). Role of bile acid malabsorption in pathogenesis of diarrhea and steatorrhea in patients with ileal resection. *Gastroenterology* **62**, 918-934.
- 13) 堀嘉一郎, 石黒直樹, 福島恒男, 土居周二 (1978). 回盲部切除例の胆汁酸変動. *消化と吸収* **1**, 99-101.
- 14) 猪川嗣朗, 藤井一利, 山西康仁, 森田積二 (1979). ウルソデオキシコール酸 (UDCA) 投与による便秘症の治療効果—投与後の糞便中胆汁酸および中性ステロールの検討—. *臨床と研究* **56**, 1671-1681.
- 15) 池口正英, 武良哲雄, 三宅真理子, 猪川嗣朗 (1984). ヒト糞便中胆汁酸の簡易定量法. *医学のあゆみ* **128**, 161-163.
- 16) 石黒直樹 (1981). 腸管切除後の胆汁酸代謝に関する臨床的研究. *日本外科学会雑誌* **82**, 1346-1353.
- 17) Kaibara, N., Sasaki, T., Ikeguchi, M., Koga, S. and Ikawa, S. (1983). Fecal bile

- acids and neutral sterols in Japanese with large bowel carcinoma. *Oncology* **40**, 255-258.
- 18) 貝原信明 (1984). 大腸癌および残胃癌発生における胆汁酸の意義に関する研究. *日本消化器外科学会雑誌* **17**, 537-546.
- 19) 片山外一, 小森和俊, 高島茂樹, 宮崎逸夫 (1982). 大腸発癌に及ぼす胆汁酸の影響に関する実験的研究. *医学のあゆみ* **122**, 111-113.
- 20) 金澤暁太郎 (1977). 胆汁酸と下痢. *医学のあゆみ* **100**, 138-340.
- 21) 金澤暁太郎, 島田 馨 (1977). 大腸細菌叢とくに胆汁酸代謝と大腸発癌について一. *綜合臨床* **26**, 1042-1050.
- 22) 金澤暁太郎 (1978). 大腸癌と腸内細菌叢の変動. *最新医学* **33**, 2057-2061.
- 23) 金澤暁太郎 (1981). 胆汁酸と大腸疾患. *胆と膵* **2**, 987-996.
- 24) 金村 稔 (1982). 胆汁酸吸収および胆汁酸代謝に関する実験的研究. *日本外科学会雑誌* **83**, 677-689.
- 25) Kren, F. Jr. (1973). Disappearance of deoxycholic acid after ileal resection. *Gastroenterology* **64**, 123-127.
- 26) Koga, S., Kaibara, N. and Takeda, R. (1982). Effect of bile acids on 1, 2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats. *Cancer* **54**, 543-547.
- 27) Korpela, J. T. (1982). Capillary gas-liquid chromatography of faecal free and esterified neutral sterols. *Scand J Clin Lab Invest* **42**, 529-534.
- 28) Lewi, H. J. E. and Carter, D. C. (1983). Bile salt-induced gastric mucosal damage and histamine receptor antagonists. *Gut* **24**, 33-37.
- 29) Lewin, M. R., Pifano, E., Daniel, R. D., Boulos, P. B. and Clark, C. G. (1983). Effect of sodium taurocholate on gastric secretion in patients with duodenal ulceration. *Gut* **24**, 28-32.
- 30) Meihoff, W. E. and Kern, F. Jr. (1968). Bile salt malabsorption in regional ileitis, ileal resection, and manitol-induced diarrhea. *J Clin Invest* **47**, 261-267.
- 31) Moore, R. B., Anderson, J. T., Taylor, H. L., Keys, A. and Frantz, J. D. Jr. (1968). Effect of dietary fat on the faecal excretion of cholesterol and its degradation products in man. *J Clin Invest* **47**, 1517-1534.
- 32) Mudd, D. G., Mckelvey, S. T. D., Norwood, W. N., Elmore, D. T. and Roy, A. D. (1980). Faecal bile acids concentrations of patients with carcinoma or increased risk of carcinoma in the large bowel. *Gut* **21**, 587-590.
- 33) 中村孝司, 山中正己 (1981). 小腸疾患と胆汁酸. *胆と膵* **2**, 979-985.
- 34) 仲野 明, 石黒直樹, 土屋周二 (1982). 回腸人工肛門造設および回盲部切除後の胆汁の lithogenicity. *日本消化器病学会雑誌* **79**, 1597-1602.
- 35) Narisawa, T., Magadia, N. E., Weisburger, J. H. and Wynder, E. L. (1974). Promoting effect of bile acids on colon carcinogenesis after intrarectal instillation of N-methyl-N'-nitrosoguanidine in rats. *J Natl Cancer Inst* **53**, 1093-1097.
- 36) 西土井英昭 (1982). MNNG 投与によるラット残胃癌発生に関する実験的研究. *日本外科学会雑誌* **83**, 1218-1227.
- 37) Perogambros, A., Papavassiliou, J. and Legakis, N. J. (1982). Fecal neutral sterols in patients with colon cancer. *Oncology* **39**, 274-278.
- 38) Reddy, B. S. and Wynder, E. L. (1973). Large-bowel carcinogenesis: fecal constituents of populations with diverse incidence rates of colon cancer. *J Natl Cancer Inst* **50**, 1437-1442.
- 39) Reddy, B. S., Weisburger, J. H. and Wynder, E. L. (1975). Effects of high risk and low risk diets for colon carcinogenesis on fecal microflora and steroids in man. *J Nutr* **105**, 878-884.
- 40) Reddy, B. S., Mastromarino, A., Gustafson, C., Lipkin, M. and Wynder, E. L. (1976). Fecal bile acids and neutral sterols in patients with familial polyposis. *Cancer* **38**, 1694-1698.
- 41) Reddy, B. S., Watanabe, K., Weisburger,

- J. H. and Wynder, E. L. (1977). Promoting effect of bile acids in colon carcinogenesis in germ-free and conventional F 344 rats. *Cancer Res* **37**, 3238-3242.
- 42) Reddy, B. S. and Wynder, E. L. (1977). Metabolic epidemiology of colon cancer: Fecal bile acids and neutral sterols in colon cancer patients and patients with adenomatous polyps. *Cancer* **39**, 2533-2539.
- 43) Reddy, B. S., Hedges, A. R., Kaakso, K. and Wynder, E. L. (1978). Metabolic epidemiology of large bowel cancer: Fecal bulk and constituents of high-risk North American and low-risk Finnish population. *Cancer* **42**, 2832-2838.
- 44) 佐々木寿昭 (1981). 日本人大腸癌患者における糞便中胆汁酸およびステロール. *米子医学雑誌* **32**, 115-130.
- 45) 瀬木三雄 (1979). 大腸癌の疫学. *癌の臨床* **25**, 427-435.
- 46) 島田 馨, 大菅俊明 (1978). 胆汁酸・ステロール代謝と腸内細菌叢. *最新医学* **33**, 1985-1989.
- 47) 高田秀穂, 平松義文, 坂口道倫, 滝藤尊照, 日置絃士郎, 山本政勝 (1983). 大腸発癌における腸内細菌の役割—糞便中 β -glucuronidase, bile acids および neutral sterol について—. *日本消化器外科学会雑誌* **16**, 557-561.
- 48) 竹田力三 (1979). DMH 投与大腸癌発生における胆汁酸の影響に関する実験的研究. *米子医学雑誌* **30**, 406-419.
- 49) 滝田 稔, 猪川嗣朗, 小倉道雄 (1978). ラット腸管内容物および糞便中胆汁酸の簡易定量法. *脂質生化学研究* **20**, 249-252.
- 50) 田村和民, 西山洋周, 大野忠嗣, 鹿野真勝, 里見匡迪, 大浜 庸, 細見基信, 堀 信治, 下山 孝 (1978). 食餌成分と腸内細菌叢. *最新医学* **33**, 2017-2025.
- 51) Whyte, H. M., Nestel, P. J. and Pryke, E. S. (1973). Bile acid and cholesterol excretion with carbohydrate-rich diets. *J Lab Clin Med* **81**, 818-828.
- 52) Wilkins, T. D. and Hackman, A. S. (1974). Two patterns of neutral steroid conversion in the feces of normal North Americans. *Cancer Res* **34**, 2250-2254.
- 53) 山川達郎, 藤田賢一, 佐藤薫隆 (1978). 消化管切除後の腸内細菌叢の変動. *最新医学* **33**, 2062-2065.
- 54) 万木英一 (1984). 培養細胞を用いた胆汁酸の発癌促進作用に関する研究. *米子医学雑誌* **35**, 301-313.