



Preoperative Bile Replacement Improves Immune Function for Jaundiced Patients Treated with External Biliary Drainage

Yoshida, Yuko

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2015-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6395号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006395>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

Preoperative Bile Replacement Improves Immune Function for Jaundiced Patients
Treated with External Biliary Drainage

術前胆汁返還は閉塞性黄疸患者の免疫能を改善する

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
肝胆脾外科学
(指導教員: 具 英成教授)

田井中 優子

【背景】

胆道癌は閉塞性黄疸を主訴に発症することが多く、黄疸と手術リスクとの相関性は現在論議のあるところである。また、閉塞性黄疸症例への術前胆道ドレナージの要否は依然論争中である。これまでの報告では胆道ドレナージにより手術関連死や周術期合併症率が減少するとされているが、最近の報告では術前胆道ドレナージには明確な有益性がないとするものもある。欧米では、一般的に葉切除以上の肝切除症例に対しては術前胆道ドレナージは必要だと考えられているが、脾頭十二指腸切除(PD)予定例に対しては限られた場合にのみ必要であるとされている。一方、日本では閉塞性黄疸を合併した術前例には予定術式が肝切除・PD いずれの場合でも日常的に胆道ドレナージは行われている。

胆道ドレナージには外瘻法(PTBD, ENBD)と内瘻法(ERBD)の 2 つの方法がある。患者の QOL のためには内瘻法が外瘻法より優れているが、内瘻法は胆管炎を発症しやすいという欠点がある。特に肝門部胆管癌の手術予定症例において、外瘻法が、術前胆道ドレナージに最適な方法と推奨されているが、これはアジア諸国のみで欧米ではこのストラテジーは当てはまらない。

外瘻法である ENBD は、腸管内胆汁の欠如により種々の問題が生じることがわかっている。我々はこれまでの研究で、内瘻法が腸管免疫能においてケモカインの発現に伴い bacterial translocation を改善することを示した。ラットにおいては、内瘻法は外瘻法と比較して術後の肝再生の観点より優れていると報告されている。ヒトにおいては、術前胆汁返還は破綻した腸管バリア機能改善の観点より有用であるとの報告がある。

以上から、閉塞性黄疸例の術前管理において胆道外瘻を留置した場合、胆汁返還はより良いオプションである可能性が考えられる。しかしこれまでヒトにおける胆汁返還の報告は少なく、胆汁変換による詳細な免疫能の変化については現在まで明確にされていない。本研究では、閉塞性黄疸患者において胆汁返還中の経時的な免疫能の変化を前向きに検討した。

【方法】

対象患者およびプロトコール

本試験は当施設で行われた前向き臨床研究であり、年齢 18-80 歳、PS0-1、血清 T-bil>5.0mg/dl, D-bil>3.0mg/dl の閉塞性黄疸症例に対して十分な説明同意のうえ試験にエントリーした。本試験は神戸大学病院院内 IRB の承認を得て行った(No.1194, UMIN ID0000006645)。試験期間は 2011 年 10 月から 2013 年 1 月で神戸大学医学部附属病院肝胆脾外科で診療した閉塞性黄疸 15 例を対象に、来院後速やかに外瘻による胆道ドレナージを開始した。試験期間中、全例が通常食を摂取し、経静脈・経管栄養による補助栄養は行わなかった。11 例が ENBD、3 例が PTBD を留置、1 例が ENBD と PTBD を併用した。胆汁返還は、胆道ドレナージ留置後 T-bil が 5.0mg/dl となり次第速やかに開始し、経口摂取にて 1 日 2 回(1 回 100ml)を 14 日間継続した。外瘻胆汁は濾過し、返還時まで冷蔵保管を

行った。手術は T-bil が 2.0mg/dl となった後に施行した。胆道ドレナージ開始から手術までの期間の中央値は 48(28-122)日であった。

15 例の内訳は、男女比が 11:4 で、平均年齢が 65 歳、7 例が胆管癌、6 例が脾癌、1 例が胆管癌+脾癌、1 例が最終診断にて良性胆管狭窄であった。参加症例のうち、1 例が試験期間中の病状進行に伴い試験完遂できず、また他の 1 例が良性疾患であったため試験から除外とし、最終的に 13 例のデータ解析を行った。

血液サンプルは、胆汁返還開始直前の朝(0 日目)および、胆汁返還開始後 1,3,5,7,14 日目に採取し、WBC、リンパ球%、PT-INR、Alb、CRP、BUN、Cr、T-bil、AST、ALT、ALP の測定を行った。血清 DAO 活性(diamine oxidase (DAO) activity)、リンパ球幼若化能(Concanavalin A(ConA), phytohemagglutinin(PHA)-stimulated lymphocyte proliferation)は 0 日目および胆汁返還開始後 3,7,14 日目に測定を行った。

細胞性免疫

細胞性免疫は ConA, PHA マイトゲンに対する T 細胞増殖能を用いて評価した。

血清 DAO 活性

血清 DAO 活性は腸管粘膜透過性の指標であり、過去の報告では、健常人での平均は 4.9-6.25U/l とされている。

コントロール群の解析：外瘻による胆道ドレナージ施行、胆汁返還非施行群

胆汁返還の効果を明らかにするため、20 例の脾胆道系疾患患者で、閉塞性黄疸に対する外瘻法による胆道ドレナージ中の胆汁返還非施行例の解析を行った。20 例の男女比は 13:7 で、平均年齢 68 歳、血清 T-bil が 5.0mg/dl に達した後に、T-bil, AST, ALT, Alb, BUN, Cr, PT-INR を 0, 3, 7, 14 日目に測定し、20 例中の 6 例に ConA, PHA の測定を 0, 7 日目に行った。

統計学的解析

結果は平均値±標準偏差で記載しており、統計学的解析はフィッシャー検定、Student *t* 検定、Wilcoxon single rank test を用いて行った。

【結果】

患者背景

胆道ドレナージ開始時の T-bil は $13.1 \pm 5.9 \text{mg/dl}$ で、ドレナージ留置から胆汁返還までの期間は 12.5 ± 8.4 日間であった。本試験期間中、体重変動はなく、胆管炎を発症した症例はなかった。

血液生化学・凝固能検査結果

血清 T-bil, AST, ALT は胆汁返還 14 日間で漸減したが、Alb, BUN, Cr 値に変動はみ

られなかった。PT-INR は胆汁返還 1 日目で上昇したが、14 日目では返還前よりも有意に低下した。リンパ球%は胆汁返還 14 日間で変動はみられなかった。

ConA, PHA 幼若化能の変化

ConA, PHA はともに胆汁返還 14 日間で増加傾向がみられた。ConA, PHA ともに基準値以上の症例が返還前には 4 人であったが、胆汁返還開始後その人数は漸増し、14 日目には 10 人が ConA, PHA ともに基準値以上となった。

血清 DAO 活性の変化

DAO 活性は胆汁返還 14 日間では測定値に変動をきたさなかった。

外瘻胆汁量による影響

外瘻胆汁量は症例により異なり、外瘻胆汁量の平均値は 1 日あたり $548 \pm 170 \text{ml}$ (314-854ml)であった。また胆汁返還割合[返還胆汁量(200ml)/外瘻胆汁量(ml)]の平均値は 39.8%(23.4-63.7)であった。外瘻胆汁量の多い群($\geq 548 \text{ml/day}$ 、胆汁返還割合 $\leq 39.8\%$ 、5 例)と少ない群($< 548 \text{ml/day}$ 、胆汁返還割合 $> 39.8\%$ 、8 例)を比較すると、PT-INR は外瘻胆汁量の少ない群において胆汁返還 14 日間で有意に低下したが、外瘻胆汁量の多い群では変化はみられなかった。一方、ConA は外瘻胆汁量の少ない群で多い群よりも胆汁返還 14 日間で増加する傾向を示した。

胆管外瘻期間による影響

胆道ドレナージ留置より胆汁返還開始までの期間は 12.5 ± 8.4 (3-34) 日間で症例によりばらつきがあり、外瘻長期群(≥ 14 日、5 例)と短期群(< 14 日、8 例)で各項目の変動を比較した。外瘻長期群では短期群と比較し、PT-INR の低下がより顕著にみられた。また、PHA は外瘻短期群で長期群より胆汁返還 14 日間での上昇が顕著であった。

手術結果

本試験エントリー症例のうち 8 例が根治手術を施行しており、8 例全てにおいて周術期の感染性合併症を発症しなかった。

胆汁返還の有無による影響

胆汁返還非施行のコントロール群においても、胆汁返還施行例と同様に外瘻による胆道ドレナージ留置後、血清 T-bil, AST, ALT は漸減したが、Alb, BUN, Cr, PT-INR 値に変動はみられなかった。また、ConA, PHA はドレナージ中に上昇傾向は認めたが、胆汁返還施行群と比較するとその上昇の度合いはわずかであった。

【考察】

本研究では、閉塞性黄疸に対する胆道外瘻症例に胆汁返還を行うことで全身免疫能改善を示すことが ConA, PHA のデータ改善を持って示された。本研究は胆汁返還期間中の全身・腸管免疫能の臨床データを検討した初めての前向き試験である。過去の報告では、閉塞性黄疸時は T リンパ球機能不全の状態であり、T リンパ球機能を反映するマーカーとしての ConA, PHA は免疫不全の指標となる。また ConA, PHA は高侵襲手術後の免疫能低下の指標との報告がある。本研究では、血中リンパ球%は胆汁返還による変動は示さなかったが、ConA, PHA は胆汁返還を行うことで 7 日目に改善傾向を呈し、14 日目では返還前よりも有意に上昇を認めた。一方、胆汁返還非施行群では、外瘻中の ConA, PHA の改善はわずかであった。このことより、胆汁返還は T リンパ球機能を改善し、免疫能改善をもたらす可能性が考えられた。我々の過去の研究では、ヒト・ラットとともに腸管内胆汁の存在が腸管粘膜 T リンパ球数と相関することを示した。また、他の臨床試験においては脾頭十二指腸切除術などの高侵襲手術において、術前 ConA, PHA 低下例では術後合併症率が高いと報告されている。ConA, PHA を用いた T リンパ球幼若化能の測定が術後合併症発生を予測する可能性があると考える。

一方で、腸管粘膜免疫能の指標である血清 DAO 活性については、本研究では胆汁返還 14 日間による改善を認めなかった。過去の報告では、胆道癌外瘻症例において、外瘻胆汁全量を返還すると胆汁返還に伴い DAO 活性の改善を認めたとされている。DAO 活性は手術や化学療法・栄養状態などにより影響を受けうる指標であり、本研究参加の閉塞性黄疸例では多くの症例で胆汁返還により健常人と同等レベルまでの改善を認めなかった。また、本研究での胆汁返還は 14 日間であり、より長期の胆汁返還期間を設けることで、胆汁返還と DAO 活性との関連性を見いだせる可能性が考えられる。

術前胆汁返還は免疫能改善には有用だと考えられるが、その最適な期間と返還量はまだ不明である。ヒトの胆汁産生量は 250-100ml/day と個々で異なるが、本試験では胆汁内服が容易に行える 100ml×2 回/day を返還量と設定した。胆汁返還割合が高い症例では低い症例よりも胆汁返還中の PT-INR、ConA の改善が良好であった。このことより、外瘻胆汁の可能な限り多くの量を返還することがより有益だと考えられるが、実臨床においては多量の胆汁返還は経口摂取では困難である。そのため、感染リスクを除けば閉塞性黄疸例への術前胆道ドレナージは内瘻のほうが有利な点もある。

本試験では、胆汁返還に伴う免疫能改善を評価することに焦点を置き、胆汁返還は T-bil $\leq 5\text{mg/dl}$ となった段階で開始した。閉塞性黄疸時は IL-6 や TNF などのサイトカインが減少し、NK 細胞の働きが抑制されるとされている。胆汁返還により胆汁中の胆汁酸やリン脂質は改善するために、胆道外瘻開始後すみやかに胆汁返還は開始すべきとの報告もある。

胆汁返還までの胆道ドレナージ期間と胆汁返還中の免疫能改善との関係を検討すると、ドレナージ期間は短期間のほうが免疫能改善は良好であった。しかし、これは閉塞性黄疸により生じた肝機能障害を反映している可能性も考えられる。これまでの報告では、閉塞

性黄疸に伴う肝機能障害はビリルビントランスポーターである *multidrug resistance protein2(MRP2)* の減少と関連すると言われている。また、閉塞性黄疸例で MRP2 減少例は減黄に要する期間は長期にわたり、また術後肝機能障害の発症とも相関すると言われている。これらの点から、胆汁返還は肝機能障害をある程度は改善すると考えられ、本試験における胆汁返還 14 日間での肝逸脱酵素が減少したことと矛盾はないと考える。

本試験の限界として、胆汁返還期間が 14 日間と短いこと、コントロール群での ConA, PHA 測定は 7 日目までしか行えていないことが挙げられる。また本試験エントリー症例は多くなく、今後大規模な症例での検討が必要と考えられた。

結論として、外瘻による胆道ドレナージ後の胆汁返還 14 日間で、肝機能および免疫能が改善することが判明したが、腸管免疫能は 14 日間では改善はみられなかった。さらなる無作為試験が必要ではあるが、本試験の結果より、高度侵襲を伴う手術やハイリスク症例に對しては全身免疫能改善のために術前胆道外瘻、胆汁返還を施行すべきであると提案する。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2510 号	氏名	田井中 優子
論文題目 Title of Dissertation	<p>Preoperative bile replacement improves immune function for jaundiced patients treated with external biliary drainage</p> <p>術前胆汁返還は閉塞性黄疸外瘻患者の免疫能を改善する</p>		
審査委員 Examiner	<p>主査 佐々木 吉弘 副査 東 健 副査 全 陽</p>		
(要旨は1,000字～2,000字程度)			

胆道癌は閉塞性黄疸を主訴に発症することが多く、黄疸と手術リスクとの相関性や閉塞性黄疸症例への術前胆道ドレナージの要否は依然議論のあるところである。胆道ドレナージには外瘻法(PTBD、ENBD)と内瘻法(ERBD)の2つの方法があり、それぞれ利点・欠点がある。外瘻法では腸管内胆汁の欠如により種々の問題が生じる一方で、内瘻法は bacterial translocation を改善し、術後の肝再生の観点が優れている。ヒトにおいては、外瘻法+術前胆汁返還は破綻した腸管バリア機能改善の観点から有用であると報告されているが、詳細な免疫能の変化については不明である。本研究は、閉塞性黄疸患者において胆汁返還中の経時的な免疫能の変化を前向きに検討した初めての研究である。

本試験は2011年10月から2013年1月に神戸大学医学部附属病院肝胆膵外科で行われた前向き臨床研究であり、院内IRBの承認を得て行った。血清 T-bil>5.0mg/dl、D-bil>3.0mg/dl の閉塞性黄疸症例に対して外瘻による胆道ドレナージを行い、T-bil が 5.0mg/dl となり次第、速やかに胆汁返還 1 日 2 回(1 回 100ml)を開始し 14 日間継続した。胆汁返還開始中 14 日間における血液生化学検査、および血清 DAO 活性、リンパ球幼若化能 (ConA、PHA) の推移を測定した。コントロール群として外瘻による胆道ドレナージ施行、胆汁返還非施行群 20 例の肝胆道系疾患患者の血液生化学検査およびリンパ球幼若化能を測定した。

患者背景は胆管癌 7 例、膵癌 6 例、胆管癌+膵癌 1 例、良性胆管狭窄 1 例で、胆道ドレナージ開始時の T-bil は $13.1 \pm 5.9 \text{ mg/dl}$ で、試験期間中、体重変動はなく、胆管炎を発症した症例はなかった。胆汁返還後血清 T-bil、AST、ALT は漸減したが、Alb、BUN、Cr 値に変動はみられなかった。PT-INR は胆汁返還 14 日目で返還前よりも有意に低下した。リンパ球 % に変動はみられなかった。ConA、PHA はともに胆汁返還 14 日間で増加傾向がみられた。血清 DAO 活性は胆汁返還 14 日間では測定値に変動をきたさなかった。

次に、外瘻胆汁量による影響を検討すると、PT-INR は外瘻胆汁量の少ない群において胆汁返還 14 日間で有意に低下したが、外瘻胆汁量の多い群では変化はみられなかった。一方、ConA は外瘻胆汁量の少ない群で多い群よりも胆汁返還 14 日間で増加する傾向を示した。

胆汁返還開始までの胆道外瘻期間による影響を検討すると、外瘻長期間群では短期間群と比較し、胆汁返還中の PT-INR の低下がより顕著にみられた。また、PHA は外瘻短期間群で長期間群よりも胆汁返還 14 日間での上昇が顕著であった。

胆汁返還非施行のコントロール群においては、胆汁返還施行例と同様に外瘻による胆道ドレナージ留置後、血清 T-bil、AST、ALT は漸減したが、Alb、BUN、Cr、PT-INR 値に変動はみられなかった。また、ConA、PHA はドレナージ中に上昇傾向は認めたが、胆汁返還施行群と比較するとその上昇の度合いはわずかであった。

本研究では、閉塞性黄疸時に生じるTリンパ球機能不全の状態に対して、胆道外瘻症例に胆汁返還を行うことで全身免疫能改善を示すことがConA, PHAのデータ改善を持って示された。一方で、腸管粘膜免疫能の指標である血清DAO活性については、本研究では胆汁返還14日間による改善を認めなかった。

術前胆汁返還は免疫能改善に対する有用性が認められたが、その最適な期間と返還量は依然不明である。本試験では胆汁内服が容易に行える100ml×2回/日を返還量と設定したが、胆汁返還割合が高い症例では低い症例よりも胆汁返還中のPT-INR, ConAの改善が良好であった。このことより、外瘻胆汁を可能な限り多く返還することがより有益だと考えられた。

胆汁返還までの胆道ドレナージ期間と胆汁返還中の免疫能改善との関係を検討すると、ドレナージ期間は短期間のほうが免疫能改善は良好であった。これは閉塞性黄疸により生じた肝機能障害を反映している可能性も考えられた。過去の報告と併せると、胆汁返還は肝機能障害を改善すると考えられ、本試験における胆汁返還14日間での肝逸脱酵素の低下と矛盾はないと考えられた。

以上、本研究は胆汁返還期間中の全身・腸管免疫能の臨床データを検討した初めての前向き試験であり、高度侵襲手術やハイリスク症例手術時に全身免疫能改善のための術前胆道外瘻+胆汁返還を施行すべきであると提唱しており、本研究は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。