

全幹迷走神経切離術後の胆石形成抑制に関する実験的研究

酒井 堅

愛媛大学医学部外科学第二教室

Experimental study on the preventative effect of the gallstone formation after truncal vagotomy

Ken SAKAI

Second Department of Surgery, School of Medicine, Ehime University

(Received May 28, 1990. Accepted October 9, 1990.)

Abstract

An experimental study was performed to examine the preventative effects of Dai-saiko-to (Da-Chai-Hu-Tang) on the gallstone formation that occurs after truncal vagotomy. For this purpose ICR male mice that were given an abdominal truncal vagotomy were used. For five weeks the operated mice were fed food promoting a gallstone or the same food with Dai-saiko-to, and it was subsequently found that the Dai-saiko-to diet demonstrated a preventative effect on the gallstone formation. A significant decrease of the cholesterol concentration in the bile lipid was observed. Further, at the fifth week, a decrease in the concentration of the bile acids was noted, and also a significant decrease in the total protein concentration in the gallbladder bile. However, the fraction of the bile acids did not greatly change. The above results suggest that Dai-saiko-to has the potential to prevent gallstone formation after a truncal vagotomy, as it decreases the biliary lithogenicity and the total protein concentration in the gallbladder bile.

Key words truncal vagotomy, gallstone formation, Dai-saiko-to, total protein concentration in the bile, lithogenicity.

Abbreviations Dai-saiko-to (Da-Chai-Hu-Tang), 大柴胡湯.

緒 言

全幹迷走神経切離術（幹迷切）と胆石発生について、幹迷切後には胆石の発生率が増加するという臨床報告が数多くみられる。¹⁻⁶⁾

著者もさきに実験的研究により、幹迷切により胆汁の lithogenicity が高まること、胆汁中総蛋白量が増加していること、逆行性胆道感染が起こり易いことなどを認め、幹迷切後に胆石発生が増加していることを明らかにした。⁷⁾ この結果をふまえ、本研究では幹迷切後の胆石形成の予防について検討を試みた。現在、胆石と薬剤に関しては、コレステロール系結石に対して、ケノデオキシコール酸とその光学

的異性体であるウルソデオキシコール酸の2種類の胆汁酸製剤が結石溶解剤として広く臨床で用いられている。しかし、溶解療法の適用症例の決定や有効率、副作用などの問題点があり、^{8, 10)} さらに最近では、胆汁酸と大腸癌発癌との関連も注目されている。^{11, 12)}

そこで本研究では Ebihara ら¹³⁾ と同様に ICR マウスに胆石形成食を投与し胆石形成が認められる実験モデルを用いて、胆汁酸とはまったく異なるものの、実験胆石において胆石の形成を抑制すると報告されている^{14, 15)} 大柴胡湯の作用に注目し、この大柴胡湯を用いて幹迷切後の胆石形成抑制の可能性について検討を行った。

*〒791-02 愛媛県温泉郡重信町志津川
Shitukawa, Shiganobu-cho, Onsen-gun, Ehime 791-02,
Japan

材料と方法

(1) **実験動物**：4週齢のCrj：CD-1 (ICR) 雄性マウス（チャールズ・リバー社）を用いた。動物は、室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 15\%$ 、12時間周期の明暗環境（点燈7時～19時）の条件にて、水と固型飼料（オリエンタル酵母社，MF）を自由摂取させ、1週間飼育したのち実験に供した。

(2) **全幹迷走神経切離術（幹迷切）**：Sodium pentobarbital 麻酔下（25 mg/kg、腹腔内投与）、腹部正中切開にて開腹し、腹部食道を周囲の結合組織から完全に遊離し、横隔膜直下で約3 mm幅にわたり食道の漿・筋層を全周性に切除し、粘膜層のみとした。さらに胃と肝臓の間の結合組織もすべて切離した。幹迷切の判定は屠殺後光顕下に確認した。幹迷切後、水と固型飼料を自由摂取させ、1週間後より実験食投与を開始した。

(3) **実験食**：Table II に示した如く、胆石形成食、大柴胡湯食の2種類の飼料を用い、実験食と水は自由に摂取させ最長5週間マウスを飼育した。な

お、使用した大柴胡湯は本剤6 g中に、柴胡6.0 g、半夏4.0 g、生姜4.0 g、黄芩3.0 g、大棗3.0 g、芍薬3.0 g、枳実2.0 g、大黄1.0 gの混合生薬より抽出したエキス粉末2,050 mgを含有する製剤であり、カネボウ薬品工業(株)より提供をうけた。

(4) **試料採取**：Sodium pentobarbital 麻酔下（25 mg/kg、腹腔内投与）に開腹し、胆嚢管を結紮したのち、胆嚢を無菌的に摘出し、ガラス毛細管ピペット（容量5 μl ，Drummond 社，USA）にて胆汁を採取した。胆嚢を摘出後、下大静脈および門脈を切断して脱血後、肝臓を摘出した。採取した試料はただちに -80°C で凍結保存した。

(5) **胆石形成の判定**：胆石形成の判定は、1週毎にマウスを屠殺し、肉眼的に観察した。

(6) **胆汁脂質の測定**：総コレステロールはCOD-P-クロルフェノール発色法、リン脂質はコリンオキシダーゼ・DAOS法、総胆汁酸は酵素比色法を用いたキットにて測定した。また、測定したそれぞれの脂質の実測値を絶対濃度とし、さらにコレステロール、リン脂質および胆汁酸のモル濃度の総和を100としてモル比を算出し、これを相対濃度として示した。

(7) **胆汁中胆汁酸分画の測定**：熱エタノール法にて胆汁酸を抽出し、奥山ら¹⁶⁾の方法に準じて3 α -hydroxysteroid dehydrogenase 固定化カラムを用いて高速液体クロマトグラフィー（BA-100型A，日本分光）にて測定した。測定胆汁酸はcholic acid (CA)，chenodeoxycholic acid (CDCA)，deoxycholic acid (DCA)，ursodeoxycholic acid (UDCA)，lithocholic acid (LCA)の遊離型(F)，グリシン抱合型(G)，タウリン抱合型(T)の計15種類を測定した。内部標準として5 β -Pregnan 3 α ，17 α ，20 α triol (Sigma 社，USA)を用いた。

Table I Composition of experimental diets.

Components (%)	Lithogenic diet	Dai-saiko-to diet
Cholesterol	0.5	0.5
Sodium cholate	0.25	0.25
Dai-saiko to extract	—	0.5
Casein	20	20
Soy bean oil	5	5
Salt mixture*	4	4
Vitamin mixture*	1	1
Sucrose	69.25	68.75

*AIN 76™ was used.

Table II Effect of Dai-saiko-to extract on the composition of bile lipids in the gallbladder bile.

Group		Absolute concentration (μmol/ml)			Relative concentration (mol%)			Lithogenic index
		Cholesterol	Phospholipid	Bile acid	Cholesterol	Phospholipid	Bile acid	
3 weeks	Control ¹⁾ (n=5)	14.5±1.7	27.1±2.4	145.8±11.5	7.8±0.7	14.4±0.3	77.8±0.5	1.55±0.15
	Dai saiko-to ²⁾ (n=6)	9.5±0.7 ^a	27.4±3.0	162.6±14.2	4.8±0.3 ^a	13.7±0.6	81.5±0.7 ^b	1.01±0.06 ^a
4 weeks	Control (n=5)	13.0±2.5	33.8±4.2	145.8±21.3	7.0±1.5	17.7±1.2	75.3±2.3	1.20±0.20
	Dai-saiko-to (n=6)	8.4±1.1	31.4±6.7	162.0±30.1	4.6±0.6	15.7±1.7	79.7±2.3	0.86±0.07
5 weeks	Control (n=5)	15.8±1.6	35.0±3.4	150.1±17.5	8.1±0.7	17.8±1.1	74.1±1.6	1.39±0.08
	Dai saiko-to (n=6)	6.4±0.6 ^b	20.0±1.4 ^b	97.6±6.9 ^b	5.3±0.5 ^b	16.3±0.8	78.4±0.9 ^a	1.00±0.11 ^a

1) : Control group was fed a lithogenic diet after truncal vagotomy.

2) : Dai-saiko-to group was fed a Dai-saiko-to diet after truncal vagotomy.

a : $p < 0.05$, b : $p < 0.01$.

(8) 肝コレステロールの測定：肝臓を約0.5gを秤取し、Folchらの方法¹⁷⁾に準じて、chloroform:methanol (2:1) 10 mlを加え、氷冷下にホモジネートし、3000 rpm, 15分間冷却遠沈し、その上清を測定に供した。コレステロールはCOD-DAOS法を用いたキットにて測定した。

(9) 胆汁中蛋白質の測定：ウシ血清アルブミンを標準としてLowry法¹⁸⁾に従って測定した。

(10) その他：Lithogenic indexはThomasとHoffmannの方法¹⁹⁾により算出した。なお、成績はmean±S.E.で示し、有意差検定にはStudent's *t* 検定, χ^2 検定を用い、 $p < 0.05$ をもって有意差とした。

結 果

1. 大柴胡湯投与時の胆石形成に対する影響 (Fig. 1)

胆石形成食投与時と胆石形成率について比較検討した。Fig. 1に示したように、大柴胡湯食投与マウスにおいて、胆石形成率は2週目20%、3週目20%、4週目20%、5週目50%であり、2週目から4週目にかけて胆石形成が抑制される傾向を示した。また、いずれの時期においても胆石形成率は胆石形成食投与マウスより低値を示したが、統計学的有意差は認められなかった。

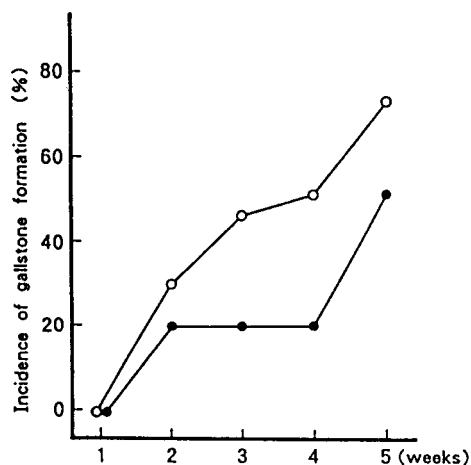


Fig. 1 Influence of Dai-saiko-to extract on the gallstone formation after truncal vagotomy.

○, vagotomy + lithogenic diet; ●, vagotomy + Dai-saiko-to diet. The number of mice per vagotomy + lithogenic diet group was 11 at 3 weeks and 39 at 5 weeks, vagotomy + Dai-saiko-to diet group 26 at 5 weeks; at other weeks $n=10$ /group.

2. 大柴胡湯の胆汁脂質におよぼす影響について (Table II)

胆汁脂質について絶対濃度および相対濃度を比較検討した。コレステロールは絶対、相対濃度ともいずれの時期においても大柴胡湯投与群が低値を示し、3週目と5週目では有意に低下していた。リン脂質については絶対濃度で5週目に大柴胡湯投与群が有意に低値を示したが、相対濃度では差は認められなかった。胆汁酸においては、5週目に絶対濃度が有意に低値を示したが、相対濃度ではいずれの時期においても大柴胡湯投与群において高値を示し、3週目と5週目で有意差が認められた。

3. 大柴胡湯投与時の肝臓中コレステロールについて (Fig. 2)

幹迷切を行ったマウスに大柴胡湯食を投与し、幹迷切+胆石形成食投与を行ったマウスを対照群とし、肝臓中コレステロール濃度を比較検討した。3週目対照群 46.4 ± 2.4 mg/g-liver, 大柴胡湯投与群 54.9 ± 1.0 mg/g-liver, 以下4週目 54.8 ± 4.4 mg/g-liver, 61.5 ± 5.1 mg/g-liver, 5週目 59.7 ± 2.1 mg/g-liver, 49.1 ± 1.2 mg/g-liverと、3, 4週目で大柴胡湯投与群が高値を示したが、5週目では逆に有意に低値を示した。

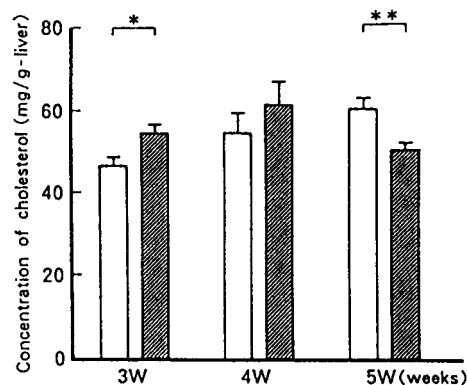


Fig. 2 Effect of Dai-saiko-to extract on the concentration of cholesterol in the liver.

□ Truncal vagotomy + lithogenic diet, ▨ Truncal vagotomy + Dai-saiko-to diet, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

4. 大柴胡湯投与時の胆汁蛋白量について (Fig. 3)

3週, 4週, 5週の蛋白量を測定し、幹迷切+胆石形成食投与マウスを対照群と比較検討した。3週目は対照群 12.8 ± 2.1 mg/dl, 大柴胡湯食投与群 6.4 ± 1.2 mg/dl, 以下4週目 22.7 ± 3.7 mg/dl, $9.0 \pm$

Table III The molecular forms of bile acids in the gallbladder bile after truncal vagotomy.

Group	%CA	%CDCA	%DC	%UDCA	%LCA	%Free	%Glycine conjugated	%Taurine conjugated
Lithogenic diet (n=25)	88.4±2.3	1.3±0.2	9.2±2.3	0.9±0.3	0	2.5±0.7	1.3±0.3	96.2±0.9
Dai-saiko-to diet (n=25)	86.4±2.7	2.3±0.5	10.9±2.5	0.3±0.1	0	1.9±1.3	0.8±0.4	97.2±1.6

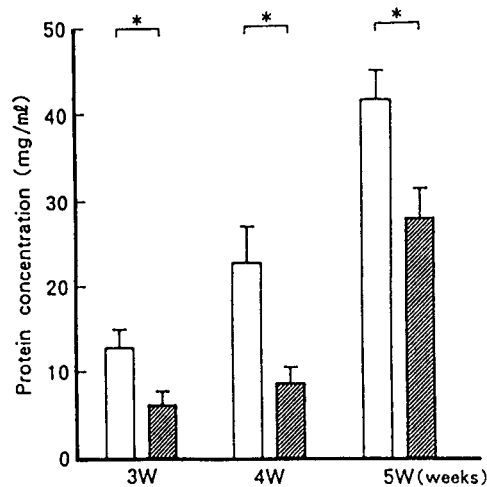


Fig. 3 Effect of Dai-saiko-to extract on the protein concentration in the gallbladder bile. □ Truncal vagotomy+lithogenic diet, ▨ Truncal vagotomy+Dai-saiko-to diet. * $p < 0.05$.

3.4 mg/dl, 5 週目 41.6±2.8 mg/dl, 27.8±3.5 mg/dl, いずれの時期においても、大柴胡湯食投与群が有意に低値を示した。また、蛋白量は時間の経過とともに増加していた。

5. 胆汁中胆汁酸分画について (Table III)

幹迷切+胆石形成食投与マウスおよび幹迷切+大柴胡湯食投与マウスにおいて、胆嚢胆汁中の胆汁酸分画について検討した。両群とも CA が80%以上を占め、DCA が10%前後であり、他の分画は微量で、その構成比はきわめて類似していた。抱合形成では大部分をタウリン抱合型が占め、遊離型、グリシン抱合型はきわめて微量であり、いずれの分画においても有意差は認められなかった。

考 察

幹迷切後、胆石発生が増加していると報告されているにもかかわらず、その予防について検討された

報告はみられない。著者は、胆石発生を抑制する方法を追求することが幹迷切患者の術後治療に大切であると考えた。

そこで、実験胆石において胆石形成抑制効果があると報告されている大柴胡湯の作用に注目し、大柴胡湯投与による幹迷切後の胆石形成の予防効果について検討した。

大柴胡湯は古来より肝炎や胆石症などに用いられてきた漢方処方²⁰⁾の1つであり、その構成成分は柴胡、黄芩、枳実、芍薬、半夏、生姜、大棗、大黄である。薬効に関しては、まだ不明な点もあるが、柴胡の主成分である saikosaponin については、血中コレステロール、トリグリセリドの低下作用²¹⁾、抗炎症作用²²⁾、glucocorticoid 様作用あるいは増強作用^{23,24)}などが報告され注目されている。一方、実験胆石と大柴胡湯との関係では、斎藤¹³⁾はハムスターに大柴胡湯を投与し、胆石形成抑制作用があることを報告し、Miyada ら¹⁵⁾もマウスを用いて明らかな胆石形成抑制作用があることを報告している。著者の実験結果では、大柴胡湯投与により胆石の発生は2週目から4週目まで20%と、大柴胡湯を投与しない例に比してかなり低率であり、胆石形成を抑制する可能性のあることが推察された。大柴胡湯の胆石形成抑制の機序として、Miyada ら²⁵⁾は、胆汁の lithogenicity の低下を挙げ、その第一の理由として胆汁酸の絶対濃度の増加によるものとしている。著者の結果においても、大柴胡湯投与により胆汁の lithogenicity は有意に低下し、Miyada らの報告と一致した。しかし、胆汁酸の絶対濃度は3週、4週でやや増加しているものの5週では逆に有意に低下しており、異なった結果になっている。また、胆汁酸分画においても非投与群と差はなく、大柴胡湯投与が胆汁酸代謝に影響をあたえている証明を見いだせなかった。一方、胆汁中コレステロールは絶対濃度、相対濃度ともに低下がみられ、lithogenicity の低下は、コレステロール濃度の低下が第一の原因と考えられた。大柴胡湯とコレステロールの吸収に関して、大南らは²⁶⁾ラットの上腸管膜

リンパ管中のリンパ液中の総コレステロール濃度を測定し、大柴胡湯投与により変化がないことを報告している。すなわち、コレステロールの吸収面と胆汁中および肝臓中コレステロール量から推測すると、大柴胡湯投与により肝臓からの胆汁へのコレステロールの分泌を抑制した可能性が示唆された。また、5週目では肝臓中コレステロール濃度の低下もみられ、長期投与の場合、コレステロールの吸収にも影響を及ぼすことも考えられた。

一方、コレステロール系胆石の形成においては胆汁の lithogenicity のみならず nucleation time (コレステロール結晶析出時間) が重要な役割をはたしていることが、1979年 Holan ら²⁷⁾ により新たに提唱された。すなわち、コレステロール結石を有する患者と健常者の胆汁を比較し、胆汁の lithogenic index では両者をまったく区別できないのに対し、nucleation time はコレステロール結石を有する患者において明らかに短縮していたというものである。Nucleation time を短縮させる因子として、胆汁中のムチンの増加^{28,29)} カルシウムイオンの増加³⁰⁾ などが、また反対に延長させる因子としてアポ蛋白 A-I および A-II が報告³¹⁾ されている。また胆汁中総蛋白量と nucleation time の関係においては、野村ら^{32,33)} は術中にえられた胆汁において nucleation time を測定し、nucleation time が短縮していた症例では胆汁中総蛋白量は高値を示しており、胆汁中蛋白が nucleation time に影響を与える因子であることを報告している。著者も幹迷切後の胆石形成についてマウスを用いた実験を行い、幹迷切がコレステロール結石形成を促進する因子であることを証明した⁷⁾。この際、胆汁中の総蛋白量は幹迷切により明らかに増加しており、この蛋白量の増加が胆石形成率の増加の1つの大きな因子であることが示唆され、臨床からえられたデータと一致するものであった。今回の実験で大柴胡湯投与により、投与しなかった群と比較して胆汁中の総蛋白量はいずれの時期においても明らかに低値を示し、幹迷切によって引き起こされる総蛋白量の増加を抑制していた。以上より、大柴胡湯投与によって胆汁の lithogenicity の低下がみられ、さらに幹迷切後の胆汁中総蛋白量の増加を抑制しており、このことから胆汁の nucleation time を延長させ幹迷切後の胆石形成を抑制しうる可能性が示唆された。今後、このような薬剤について実験薬理学的に検討をすすめる必要があると考えられた。

結 論

ICR 雄性マウスを用いて大柴胡湯による幹迷切後の胆石形成の抑制効果について検討し、以下の結論を得た。

(1) 大柴胡湯は胆汁中コレステロール濃度を低下させ、胆汁の lithogenicity を低下させた。

(2) 大柴胡湯投与により、幹迷切後の胆汁中蛋白量の増加を抑制した。

以上から、大柴胡湯投与により幹迷切後の胆石形成を予防しうる可能性が示唆された。

本論文の要旨は第6回和漢医学会総会(岐阜)において発表した。

稿を終えるに臨み、始終御懇切なる御指導、御校閲を賜りました第二外科木村茂教授ならびに第二生化学奥田拓道教授に深甚なる謝意を捧げます。また御協力を頂いた山内国義技官、久守香里女史、高市瑞穂女史、田中誉子女史ならびに第二外科教室および第二生化学教室諸兄に感謝します。

文 献

- 1) Ihasz, M., Wachtl, L., Kiss, L. and Koiss, I.: Incidence of Cholelithiasis after Truncal and Selective vagotomy. *Acta Chir. Acad. Sci. Hung.* **18** (2), 115-121, 1977.
- 2) Nobles, E.R.Jr.: Vagotomy and gastroenterostomy. : 15 year follow up of 175 patients. *Am. J. Surg.* **32**, 177-182, 1966.
- 3) Clave, R.A. and Gaspar, M.R.: Incidence of gallbladder disease after vagotomy. *Am. J. Surg.* **118**, 169-176, 1969.
- 4) Tompkins, R.K., Kraft, A.R., Zimmerman, E., Lichtenstein, J.E. and Zollinger, R.M.: Clinical and biochemical evidence of increased gallstone formation after complete vagotomy. *Surgery* **71**, 196-200, 1972.
- 5) Sapala, M.A., Sapala, J.A., Sato, A.D. and Bouwman, D.L.: Cholelithiasis following subtotal gastric resection with truncal vagotomy. *Surg. Gynecol. Obstet.* **148**, 36-38, 1979.
- 6) Ihasz, M. and Griffith, C.A.: Gallstones after vagotomy. *Am. J. Surg.* **141**, 48-50, 1981.
- 7) 酒井 堅: 胆石形成におよぼす幹迷走神経切離術の影響に関する実験的研究。日消誌 **87** (11), 2473-2482, 1990.
- 8) 梶山梧朗, 堀内 至: 経口的胆石溶解剤の適応と限界, 最新医学 **37** (10), 1974-1979, 1982.
- 9) 大野孝則, 大藤正雄, 守田政彦, 税所宏光, 土屋幸浩, 木村邦夫: 経口胆石溶解療法の実用, 副作用ならびに胆石再発について: 千葉大学第一内科146症例の検討から。

- 胆と膵 3, 1555-1562, 1982.
- 10) 奥村 恂：ウルソ，ケノデオキシコール酸併用療法。胆と膵 9 (1), 53-59, 1988.
- 11) Narisawa, T., Reddy, B.S. and Weisburger, J.H. : Effect of bile acids and animal models. *Gastroenterologia Jap.* 13, 206-212, 1978.
- 12) 宇賀神浩人：生理的濃度胆汁酸の大腸癌における意義。日消誌 86 (8), 1617-1626, 1989.
- 13) Ebihara, K. and Kiriya, S. : Prevention of cholesterol gallstones by a water-soluble dietary fiber, konjac mannan, in mice. *Nutrition Reports International* 32 (1), 223-229, 1985.
- 14) 齊藤 隆：漢方方剤大柴胡湯及び柴胡中の Saponin 成分の実験的高脂血症に対する効果。東京医大誌 40 (4), 517-529, 1982.
- 15) Miyada, T., Ogino, H., and Okuda, H. : Preventive effect of Dai-saiko-to (Da-Chai-Hu-Tang) extract on gallstone formation in mice fed a lithogenic diet. : 和漢医薬学会誌 4, 73-75, 1987.
- 16) 奥山澄彦：高速液体クロマトグラフィーに固定化酵素カラムを組み合わせた血中遊離型および抱合型各胆汁酸分画の高感度蛍光分析測定。肝臓 20, 1194, 1979.
- 17) Folch J., Lees, M. and Sloane Stanley, G.H. : A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509, 1957.
- 18) Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., and Randall, R. : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275, 1951.
- 19) Thomas, P.J. and Hofmann, A.F. : A simple calculation of index of bile : Expressing biliary lipid composition on rectangular coordinates. *Gastroenterology* 65, 698-700, 1970.
- 20) 矢数道明：“漢方主要処方解説”，創元社，東京，pp.360-365, 1978.
- 21) 山本昌弘：サイコの生化学と作用機序。代謝 10 (臨増)，695-701, 1973.
- 22) Yamamoto, M., Kumagai, A., and Yamamura, Y. : Structure and actions of Saikosaponins isolated from *Bupleurum falcatum* L.I. Anti-inflammatory action of saikosaponins. *Arzneim. Forsch.* 25, 1021-1023, 1975.
- 23) “ステロイド剤と漢方方剤の併用療法—副作用除去のための基礎と臨床”(有地 滋編)，東洋学術出版社，東京，pp.3-169, 1984.
- 24) 加藤壽一：サイコサポニン-dのグルコシルコイド作用増強効果及びその作用機序に関する研究。愛媛医学 6 (2), 43-54, 1987.
- 25) Miyada, T., Ogino, H. and Okuda, H. : Effect of a Daisaikoto extract on the biliary constituents in mice and rats. *Agric. Biol. Chem.* 52 (8), 2065-2069, 1988.
- 26) 大南宏治，松岡栄子，奥田拓道：脂質の腸管吸収に及ぼす大柴胡湯の作用。薬理と治療 13 (9), 295-297, 1985.
- 27) Holan, K.R., Holzbach, R.T., Hermann, R.E., Cooperman A.M. and Claffey W.J. : Nucleation time : A key factor in the pathogenesis of cholesterol gallstone disease. *Gastroenterology* 77, 611-617, 1979.
- 28) Lee, S.P., LaMont, T. and Carey M.C. : Role of gallbladder mucus hypersecretion in the evolution of cholesterol gallstones. *J. Clin. Invest.* 67, 1712-1723, 1981.
- 29) Burnstein, M.J., Ilson, R.G., Petrunka C.N., Taylor, R. D. and Strasberg, S.M. : Evidence for a potent nucleating factor in the gallbladder bile of patients with cholesterol gallstones. *Gastroenterology* 85, 801-807, 1983.
- 30) Kibe, A., Dudley, M.A., Halpern, Z., Lynn, M.P., Breuer, A.C. and Holzbach, R.T. : Factors affecting cholesterol monohydrate crystal nucleation time in model systems of supersaturated bile. *J. Lipid Res.* 26 : 1102-1111, 1985.
- 31) Kibe, A., Holzbach, R.T., LaRusso N.F., and Mao, S.J. T. : Inhibition of cholesterol crystal formation by apolipoproteins in supersaturated model bile. *Science* 225, 514-516, 1984.
- 32) 野村洋子，川本敏男，堀内 至，日野文明，大木正美，岡橋 誠，田妻 進，徳毛宏則，平岡俊仁，坪倉篤雄，梶山悟朗：ヒト胆嚢胆汁における nucleation time についての検討。日消誌 82 (9), 2093-2099, 1985.
- 33) 野村洋子：コレステロール胆石における Nucleation Time (NT) と Growth Time (GT)。—NT と GT に影響を与える因子と胆石溶解剤の効果について— 日消誌 86 (5), 1103-1113, 1989.