

## 原 著

新しい胆汁モニタリングセンサーの開発と  
胃切除後逆流症における十二指腸液逆流の測定の意義

武田 茂

山口大学医学部外科学第二講座 宇部市小串1144 (〒755-8505)

(指導: 岡 正朗教授)

**Key words:** 胃切除後逆流症, 十二指腸液逆流, 胆汁モニタリング

## はじめに

胃切除後患者の約16～26%は, 胸やけなどの逆流症状を訴えるといわれている<sup>1)2)</sup>. 幽門輪の消失などによる逆流防止機構の破綻により, 残胃ならびに食道内への十二指腸液の逆流が増加するためと考えられる<sup>3)4)</sup>. 胃食道逆流 (gastroesophageal reflux : GER) の成因として胃酸やペプシンの関与はよく知られているが<sup>5)7)</sup>, 十二指腸液の関与については不明な点が多い<sup>8)9)</sup>. 胃液単独の食道内逆流に比較して, 胃液と十二指腸液が混合した逆流液は, 食道粘膜により強い損傷を与えるという報告もあり<sup>10)</sup>, 逆流症の成因や病態の解明において逆流液の評価は極めて重要である.

逆流症の診断法として, 食道内24時間pHモニタリングは酸性逆流 (胃液逆流) の検出には有用であるが<sup>11)</sup>, アルカリ逆流 (十二指腸液逆流) や混合型逆流においては, 逆流内容の評価は不十分である<sup>8)12-14)</sup>. 従来では吸光度を利用した胆汁モニタリングセンサーを開発した. 本装置を用いて食道内の胆汁逆流を測定することにより, 十二指腸液の逆流を判断できると思われる.

本研究では新しく開発した胆汁モニタリングセンサーの精度を評価し, 胃切除後逆流症における十二

指腸液逆流を客観的に測定し, その有用性を検討した.

## 対象および方法

## 胆汁モニタリングセンサーの原理

胆汁モニタリングセンサーの基本原理は, 測定する溶液の吸光度を発光ダイオード (光源) とフォトトランジスタ (受光器) の系を用いて測定することによる. 胆汁中のビリルビンの吸光スペクトルのピークは, 予備実験の結果450nmにあることから470nm波長の発光ダイオードを光源として用い, 液体中を通過した光量の変化を受光器で捉え, 電気信号に変換して携帯式記録装置に記録する. 胆汁モニタリングセンサーの外観を図1に示す.

## プローブ

胆汁センサーのカテーテルは, 直径4mmのポリエチレンチューブで, 先端にプローブを内蔵している. 470nm波長の発光ダイオードと受光器となるフォトトランジスタを1mmのギャップで固定してある. また, カテーテル内に1.2mm径のirrigation tubeを内蔵しており, 側孔からギャップ内のフラッシュが可能である. 図2にプローブの概略図を示す.

## 携帯式記録装置 (データロガー)

プローブで計測された光量は, 対数増幅器を通し

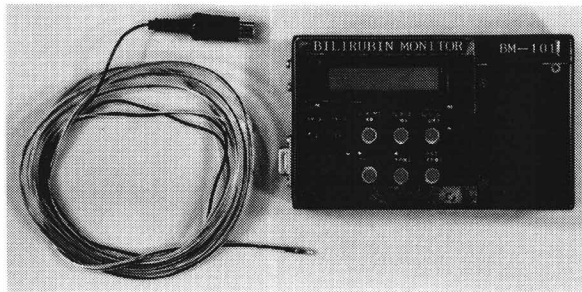


図1. Configuration of the bilirubin detecting device. The device consists of two parts, a probe and a datalogger. It also has an inner tube to wash food particles out of the tip.

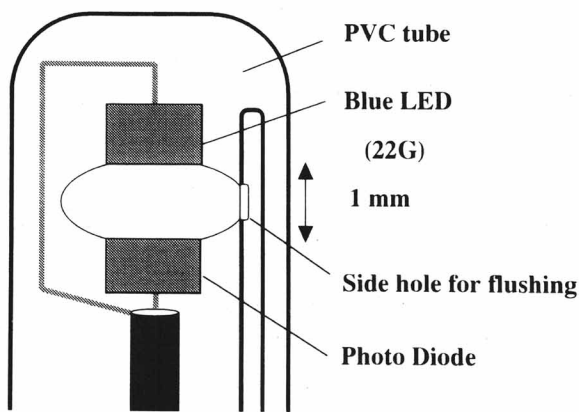


図2. The illustration of the tip of the probe of the bilirubin detecting device.

て増幅しA/D変換器で12bitのデータとして、データロガー(BM-101, バイオメディカルサイエンス)に記録する。測定間隔は、5秒から30秒間の任意の時間間隔に設定可能であるが、本研究においては、すべて4秒間隔で測定した。全記録時間は、25時間まで可能である。また、被検者の状態を示すイベント(姿勢、食事など)もキー入力で記録できる。

#### データ処理システム

測定終了後、データロガーとパーソナルコンピュータをRS232C回線で結び、データを収集する。Lambert-Beerの法則によると、 $I_0$ の強さの単色光が、濃度 $c$ なる着色溶液の層を通過した後の透過光の強さ(電位)を $I_x$ とすると、吸光度(A)は $A = \log(I_0/I_x)$ となる。このデータ処理を専用ソフトにて解析する。

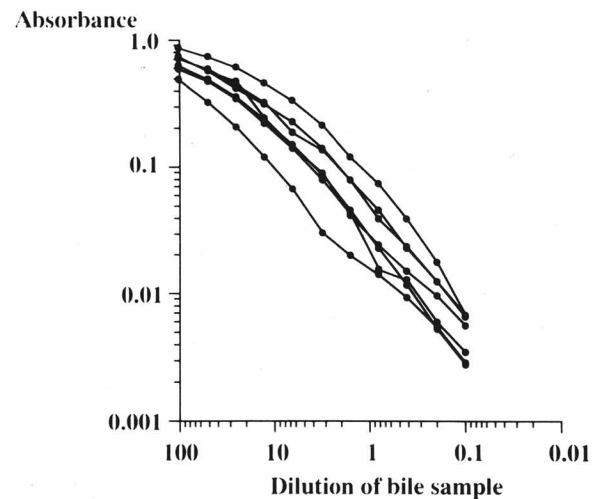


図3. Absorbance/concentration curve established in bile samples diluted from 1 : 1 to 1 : 1024 with distilled water. Date represents as long percentage. The sensitivity of the bilirubin monitoring system was 0.0026 absorbance units, corresponding to the 1024-fold dilution.

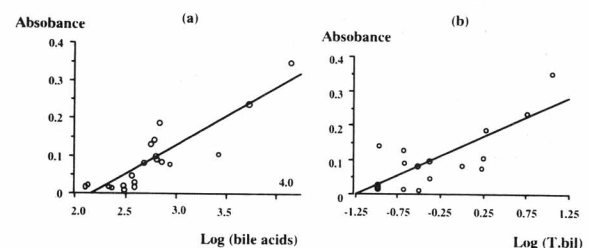


図4. Relationship between absorbance values and the concentrations of total bile acid (a) and total bilirubin (b). There were significant correlations between the absorbance values and the concentrations of total bile acid ( $y = -0.331 + 0.153 \log X$ ,  $r = 0.888$ ,  $p < 0.01$ ) and total bilirubin ( $y = 0.139 + 0.111 \log X$ ,  $r = 0.804$ ,  $p < 0.01$ ).

#### 基礎的検討

##### 1) 希釈系列実験

閉塞性黄疸にて経皮経肝的胆道ドレナージチューブを留置された患者8例から胆汁を採取し、その胆汁サンプルを蒸留水で原液から1024倍まで10段階に倍希釈した。胆汁モニタリングセンサーを用いて遮光された試験管内に検体とセンサーのprobeを留置し吸光度を測定した。蒸留水にて吸光度値0を決定し(calibration), それぞれの希釈系の吸光度値を測定した。

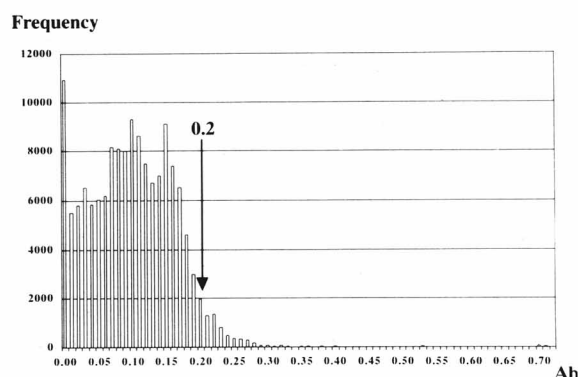


図5. Frequency distribution of the total study time in which bilirubin was detected in 10 healthy subjects. The 95th percentile values were distributed below 0.20 absorbance units.

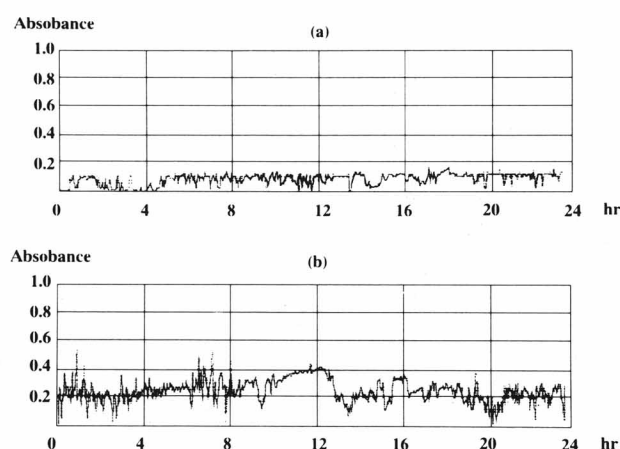


図6. Twenty-four-hour bile reflux monitoring in a control (a) and a symptomatic patient (b). Bile reflux with an absorbance threshold of 0.20, as well as rapid increases of absorbance, are noted in the symptomatic patient (b).

## 2) 胃液内胆汁の測定

健常人7例および上部消化管病変を有する患者13例（胃炎：9例，胃潰瘍：3例，十二指腸潰瘍：1例）に内視鏡検査を施行し，胃液を吸引採取した．採取した胃液サンプルを遮光した試験管内にて胆汁モニタリングセンサーを用いて，その吸光度値を測定した．また胃液内の総胆汁酸および総ビリルビンも測定し，センサーで測定した吸光度値との相関を検討した．

## 臨床的検討

上部消化器症状や病変の既往を認めなかった健常人10例（男性；8例，女性；2例，平均年齢40歳；

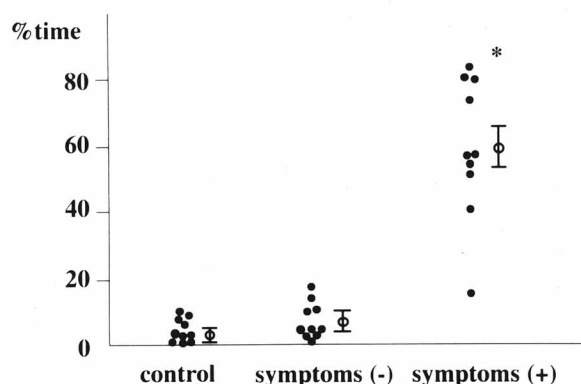


図7. Duration of esophageal bilirubin exposure in healthy controls, asymptomatic patients, and symptomatic patients after partial gastrectomy. The percent time of bilirubin exposure was significantly greater in the symptomatic patients after gastrectomy than in the healthy controls and the asymptomatic patients ( $p < 0.01$ ). (\* $p < 0.01$  vs. other groups).

24-70歳) および胃癌にて幽門側胃切除施行された患者20例（男性；16例，女性；4例，平均年齢60歳；37-80歳）を対象とした．胃切除症例は全てリンパ節郭清に伴う迷走神経切離と，Billroth I法による胃十二指腸吻合を施行されていた．術後から本検査施行までの期間は2ヶ月～2年で，全ての患者に再発は認められなかった．胃切除症例のうち，10例に逆流症状を認めた（胸やけ；7例，胸痛；2例，逆流感；7例，しみる感じ；3例，嚥下痛；4例）．その他の症例では逆流症状を認めなかった．上部消化管内視鏡検査において逆流症状を有する患者のうち4例に肉眼的逆流食道炎を認め，ロサンゼルス分類<sup>15)</sup>においてGrade A；1例，Grade B；2例，Grade D；1例であった．全ての対象において informed consent を得た．

## 24時間食道内胆汁モニタリング

Infused catheter 法にて側孔式のカテーテル (Manometric assembly, Dentsleeve Pty Ltd, Parkside, Australia) およびインフージョンポンプ (Pump Perfusion System, Medtronic Synectics, Stockholm, Sweden) を用いて下部食道括約筋 (lower esophageal shincter : LES) の位置を測定した後，胆汁モニタリングセンサーを経鼻的に挿入，プローベをLESの上縁から5 cm口側に留置し測定した．データは携帯式記録装置に入力され，検査終了後，データをコン

ピューターに転送し、専用ソフトにて解析した。測定時間内における経口摂取は、水および胆汁の吸光度値に影響しない検査用の半固形食(410kcal, 蛋白質:13%, 脂質6%, 炭水化物81%) (ボンコロ、大塚製薬) に制限した。食事後、カテーテルに内蔵したirrigation tubeから蒸留水1mlを注入し、先端をフラッシュした。また検査中の経口摂取の時間や姿勢(立位、臥位)、逆流症状出現の有無を専用シートに記入させた。上部消化管機能に影響する薬剤は、7日前より服用を中止された。

### 統計解析

統計学的検討は回帰分析および分散分析を用い、危険率5%未満を有意とした。平均値はmean ± standard error (SE)で表示した。

## 結 果

### 基礎的検討

#### 1) 希釈系列実験

測定した検体(n=8)においては1024倍希釈液までいずれも測定が可能であった。吸光度値は0.0026 unitsまで測定できた(図3)。なお、同一検体を3回測定したが、完全に近い再現性であった(未データ)。

#### 2) 胃液内胆汁の測定

胃液サンプルで測定した吸光度値と総ビリルビン濃度、総胆汁酸濃度との相関を検討した。吸光度値は、総ビリルビン濃度( $r = 0.804, p < 0.01$ )、総胆汁酸濃度( $r = 0.888, p < 0.01$ )ともに正の相関を認めた(図4)。

### 臨床的検討

全ての対象において22時間以上の食道内胆汁モニタリングが可能であった。

図5に健常人10例の全測定時間中における測定吸光度値の頻度分布を示す。95%以上が0.2以下に分布しており、正常基準値を0.2以下とし、測定吸光度値 $>0.2$ を胆汁逆流陽性とした。

図6に24時間食道内胆汁モニタリングの全記録を示す。健常人(a)に比較して、幽門側胃切除後逆流症状陽性例(b)では、測定吸光度値 $>0.2$ のエピ

ソードを著明に認めた。

健常群、胃切除後逆流症状陽性群、胃切除後逆流症状陰性群の3群間で、食道内胆汁曝露時間(% time; 測定吸光度値 $>0.2$ )を比較した(図7)。なお、測定吸光度値 $>0.2$ であった時間(分)を総測定時間(分)で除した値を%として%timeを算出した。逆流症状陽性群では、胆汁逆流時間は、 $58.7 \pm 6.5\%$ であり、健常群( $3.6 \pm 1.0\%$ )、逆流陰性群( $7.1 \pm 2.5\%$ )と比較して有意に増加していた( $p < 0.01$ )。しかし健常群と逆流陰性群では有意差は認められなかった。

## 考 察

逆流症の病態を把握する上で、食道内へ十二指腸液の逆流は、重要で、様々な実験的あるいは臨床的検討が報告されてきた<sup>16-19)</sup>。

最近、十二指腸液の一因子であるビリルビンを利用した吸光度を利用して測定する装置が開発された(Bilitec 2000, Synectics, Dallas, TX)<sup>20)</sup>。この装置はfiberoptic probeの先端部で液体中のビリルビンを検出し、十二指腸液のマーカーとして評価することが可能で、携帯式記録装置とともに24時間モニタリングが可能となりつつある。このBilitec 2000を用いた臨床研究が報告されている<sup>21-28)</sup>。教室で開発した胆汁モニタリングセンサーも、原理的にはBilitec 2000と同様にビリルビンの吸光度として測定する装置であるが、異なる点がある。まず構造的な違いとして、本法のセンサーは、先端のプロローベに発光ダイオード( $\lambda = 470 \text{ nm}$ )および受光器を内蔵しており、より鋭敏に溶液内のビリルビンを検出できる。Bilitec 2000の測定限界はビリルビン値0.15mg/dLであるが<sup>20)</sup>、本測定器具はビリルビン値0.10mg/dLでも十分測定可能であり(図4)、より鋭敏にビリルビンを検出できると言えた。また、もう一つの特長として、センサーのカテーテル内にirrigation tubeを内蔵している。本法のセンサーは発光ダイオードと受光器を1mm間隔で置き、その間の溶液内を通過した光量の変化を電気信号として感知するが、原理的にはBilitec 2000も同様である。従って発光ダイオードと受光器の間が食物残渣などにより閉塞すると胆汁逆流を検出できず、正確な評価は困難となる。しかし、本装置は、irrigation

tubeにてのギャップ内のフラッシュが可能であり、食事後に蒸留水でフラッシュすることで、ギャップの閉塞を防止できる特徴がある。

GERは、食道内酸逆流によって起こる食道粘膜損傷もしくは自覚症状を認めるもので、その診断には、問診や内視鏡検査だけでなく、食道内pHモニタリングが有用であるといわれてきた<sup>13)</sup>。しかし、胃切除後逆流症では、食道炎や逆流症状の惹起には酸だけでなく十二指腸液の逆流も大きく関与している。幽門側胃切除においては幽門輪の消失により残胃内への十二指腸液の逆流が容易となる<sup>14)</sup>。また残胃の解剖学的形態の変化すなわちHis角の変化などによりLESPが低下するため逆流防止機構が障害され、DGERが容易となり粘膜損傷を発生するといわれている<sup>15)</sup>。十二指腸液はビリルビンや胆汁酸などの胆汁成分やトリプシンなどの膵液成分が含まれるが、主にアルカリ性を示すことからDGERによる食道炎はアルカリ食道炎とも呼ばれる<sup>8)</sup>。食道内pHモニタリングを用いて食道内のアルカリ逆流を測定することもあるが、間接的な所見であり、DGERの評価としては不十分であるといわれている<sup>12-10)</sup>。しかし、ビリルビン測定装置は、より直接的なDGERの評価が可能である。Vaeziらは、胃切除後逆流症の評価にBilitec 2000を用いた検討を報告している<sup>17)</sup>。本研究の臨床的検討でも、逆流症状陽性群において胆汁逆流時間は、有意に上昇していた。この結果から、本法の胆汁モニタリングセンサーを用いることで、胆汁逆流すなわち、DGERをより鋭敏に検出することが可能となった。

胃癌の治療において早期発見例の増加により、胃切除後の長期生存が得られるようになった現在、術後のquality of life(QOL)をより高めることが求められ、胃切除後逆流症もQOLを左右する大きな因子となっている。本法を用いて、病態の解明に努めることで、逆流症の防止や治療の向上につながることを期待したい。

## ま と め

新しい携帯式胆汁モニタリングセンサーを開発した。採取した胆汁サンプルの1024倍希釈まで識別が可能で、本装置の感度は鋭敏であった。また、胃液サンプル内においても総ビリルビン酸、総胆汁酸と、

正の相関を示した。

臨床的検討では、24時間食道内胆汁モニタリングが可能であった。胃切除後逆流症状陽性例において、胆汁曝露時間は有意に上昇していた。本法は食道内の胆汁(ビリルビン)を測定することで、十二指腸液逆流を判別できる新しい検査法となることが示唆された。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導並びに御校閲を賜りました山口大学医学部外科学第二講座 岡 正朗教授に深甚なる謝意を表します。また、胆汁モニタリングセンサーの開発に御協力頂きました山口大学工学部知能情報システム工学科知能工学講座 古賀和利助教授、バイオメディカルサイエンス社 斎藤建夫氏に心より深謝いたします。なお、本稿の一部は第97回日本外科学会総会(1997年、京都)、第51回日本消化器外科学会総会(1998年、東京)にて発表した。

## 文 献

- 1) Windsor CWO. Gastroesophageal reflux after partial gastrectomy. *Br Med J* 1964 ; **14** : 1233-1234
- 2) Gotley DC, Ball DE, Owen RW, Williamson RC, Cooper MJ. Evaluation and surgical correction of esophagitis after partial gastrectomy. *Surgery* 1992 ; **111** : 29-36.
- 3) Tolin RD, Malmud LS, Stelzer F, Menin R, Makler PT Jr, Applegate G, Fisher RS. Enterogastric reflux in normal subjects and in patients with Billroth II gastrectomy. *Gastroenterology* 1979 ; **77** : 1027-1034.
- 4) Brough W A, Taylor TV, Torrance HB. The surgical influencing duodenogastric reflux. *Br J Surg* 1984 ; **71** : 770-773.
- 5) Lillemoen KD, Johnson LF, Harmon JW. Role of components of gastroduodenal contents in experimental acid esophagitis. *Surgery* 1982 ; **92** : 276-284.
- 6) Salo JA, Kivilaakso E. Role of bile salts and trypsin

- in the pathogenesis of experimental alkaline esophagitis. *Surgery* 1983 ; **93** : 525-32.
- 7) Tobey NA, Orland RC. Mechanisms of acid injury to rabbit esophageal epithelium. *Gastroenterology* 1991 ; **101** : 1220-1228.
  - 8) Gotley DC, Appleton GV, Cooper MJ. Bile acids and trypsin are unimportant in alkaline esophageal reflux. *J Clin Gastroenterol* 1992 ; **14** : 2-7.
  - 9) Kivilaakso E, Fromm D, Silen W. Effect of bile salts and related compounds on isolated esophageal mucosa. *Surgery* 1980 ; **87** : 280-285.
  - 10) Salo JA, Kivilaakso E. Contribution of trypsin and cholate to the pathogenesis of experimental alkaline reflux esophagitis. *Scand J Gastroenterol* 1984 ; **19** : 875-881.
  - 11) Demeester TR, Johnson LF, Joseph GJ, Toscano MS, Hall AW, Skinner DB. Patterns of gastroesophageal reflux in health and disease. *Ann Surg* 1976 ; **184** : 459-470.
  - 12) Singh S, Bradley LA, Richter JE. Determinants of oesophageal 'alkaline' pH environment in controls and patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Gut* 1993 ; **34** : 309-316.
  - 13) DeVault KR, Georgeson S, Castell DO. Salivary stimulation mimics esophageal exposure to refluxed duodenal contents. *Am J Gastroenterol* 1993 ; **88** : 1040-1043.
  - 14) Mattioli S, Pilotti V, Felice V, Lazzari A, Zannoli R, Bacchi ML, Loria P, Tripodi A, Gozzetti G. Ambulatory 24-hr pH monitoring of esophagus, fundus, and antrum. A new technique for simultaneous study of gastroesophageal and duodenogastric reflux. *Dig Dis Sciences* 1990 ; **35** : 929-938.
  - 15) Armstrong D, Bennett JR, Blum AL, Dent J, De Dombal FT, Galmiche JP, Lundell L, Margulies M, Richter JE, Spechler SJ, Tytgat GN, Wallin L. The endoscopic assessment of esophagitis: a progress report on observer agreement. *Gastroenterology* 1996 ; **111** : 85-92.
  - 16) Matikainen M, Laatikainen T, Kalima T, Kivilaakso E. Bile acid composition and esophagitis after total gastrectomy. *Am J Sur* 1982 ; **143** : 196-198.
  - 17) Gotley DC, Morgan AP, Cooper MJ. Bile acid concentrations in the refluxate of patients with reflux oesophagitis. *Br J Surg* 1988 ; **75** : 587-590.
  - 18) Schweitzer EJ, Bass BL, Batzri S, Harmon JW. Bile acid accumulation by rabbit esophageal mucosa. *Dig Dis Sciences* 1986 ; **31** : 1105-1113.
  - 19) Harmon JW, Johnson LF, Maydonovitch CL. Effects of acid and bile salts on the rabbit esophageal mucosa. *Dig Dis Sciences* 1981 ; **26** : 65-72.
  - 20) Bechi P, Pucciani F, Baldini F, Cosi F, Falciai R, Mazzanti R, Castagnoli A, Passeri A, Boscherini S. Long-term ambulatory enterogastric reflux monitoring. Validation of a new fiberoptic technique. *Dig Dis Sciences* 1993 ; **38** : 1297-1306.
  - 21) Kauer WK, Peters JH, DeMeester TR, Feussner H, Ireland AP, Stein HJ, Siewert RJ. Composition and concentration of bile acid reflux into the esophagus of patients with gastroesophageal reflux disease. *Surgery* 1997 ; **122** : 874-881.
  - 22) Vaezi MF, Richter JE. Contribution of acid and duodenogastro-oesophageal reflux to oesophageal mucosal injury and symptoms in partial gastrectomy patients. *Gut* 1997 ; **41** : 297-302.
  - 23) Stipa F, Stein HJ, Feussner H, Kraemer S, Siewert JR. Assessment of non-acid esophageal reflux: comparison between long-term reflux aspiration test and fiberoptic bilirubin monitoring. *Dis Esoph* 1997 ; **10** : 24-28.
  - 24) Just RJ, Leite LP, Castell DO. Changes in overnight fasting intragastric pH show poor correlation with duodenogastric bile reflux in normal subjects. *Am J Gastroenterol* 1996 ; **91** : 1567-70
  - 25) Fein M, Fuchs KH, Bohrer T, Freys SM, Thiede A. Fiberoptic technique for 24-hour bile reflux monitoring. Standards and normal values for gastric monitoring. *Dig Dis Sciences* 1996 ; **41** : 216-225.
  - 26) Kauer WK, Peters JH, DeMeester TR, Ireland AP, Bremner CG, Hagen JA. Mixed reflux of gastric and duodenal juices is more harmful to the esophagus than gastric juice alone. The need for

- surgical therapy re-emphasized. *Ann Surg* 1995 ; **222** : 525-533.
- 27) Kauer WK, Burdiles P, Ireland AP, Clark GW, Peters JH, Bremner CG, DeMeester TR. Does duodenal juice reflux into the esophagus of patients with complicated GERD? Evaluation of a fiberoptic sensor for bilirubin. *Am J Surg* 1995 ; **169** : 98-103.
- 28) Champion G, Richter JE, Vaezi MF, Singh S, Alexander R. Duodenogastroesophageal reflux: relationship to pH and importance in Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 1994 ; **107** : 747-754
- 29) Nagasawa H. Studies on some problems regarding the cardiac closing mechanism. *Arch Jpn Chir* 1986 ; **55** : 70-80.

## Detection of Bile Reflux into the Esophagus after Gastrectomy using a New Bilirubin Monitor

Shigeru TAKEDA

*Department of Surgery II, Yamaguchi University School of Medicine,  
1144 Kogusi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan  
(Director : Prof. Masaaki Oka)*

### SUMMARY

A new portable bilirubin detecting device with an inner tube to wash out the tip of the probe was developed and used to evaluate bile reflux into the esophagus in patients who had undergone partial gastrectomy. Correlations between absorbance and concentrations of total bilirubin and total bile acid were determined *in vitro*. In the *in vivo* study, the presence of duodenogastroesophageal reflux was studied in 10 controls and 20 patients who had undergone partial gastrectomy with Billroth I reconstruction (10 with reflux symptoms, 10 without symptoms). There were significant correlations between the absorbance values and concentrations of total bilirubin ( $r = 0.804$ ,  $p < 0.01$ ) and total bile acid ( $r=0.888$ ,  $p < 0.01$ ). The percentage of time of bilirubin exposure was significantly greater in the symptomatic patients who had undergone gastrectomy ( $58.7 \pm 6.5\%$ ) than in the control subjects ( $3.6 \pm 1.0\%$ ) and asymptomatic patients ( $7.1 \pm 2.5\%$ ) ( $p < 0.01$ ). Our new bilirubin detecting device is useful for evaluation of duodenal reflux. Reflux symptoms in patients who have undergone partial gastrectomy could be related to duodenal reflux into the esophagus.