日消外会誌 10(6): 736～742, 1977年

特集 6*

閉塞性黄疸のもたらす肝障害と外科的治療効果の病態生理

東京大学医学部第1外科学教室
菅原 克彦　河野 信博　三谷 進
岩月 淳　長尾 桓　金高 伸也

EFFECT OF BILIARY DIVERSION ON THE PATHOPHYSIOLOGY OF THE LIVER INVOLVED IN OBSTRUCTIVE JAUNDICE

K. SUGAHARA, N. KAWANO, S. MITANI, A. IWATUKI,
T. NAGAO and N. KINTAKA
Department of Surgery, University of Tokyo

高度の肝外閉塞性黄疸を呈する症例の手術成績が悪い原因には原因疾患の特殊性のほか，肝をはじめとする重要臓器障害があげられる．閉塞解除前後の肝障害を細胞レベルで検討した．閉塞解除による肝細胞周辺部の修復は早いが，細胞内微細器管の形態と機能の回復は遅延した．一般的肝機能検査値は閉塞解除後比較的速かに正常化するが，細胞のエネルギー代謝病態の改善は表現されない．胆管閉塞に伴う肝の予備力障害は ATP 生成能のほか，血清ミトコンドリア GOT の動態に反映され，この推移は障害肝の実態を知るのに有用である．肝の予備機能の改善にはインスリンの補充投与のほか，肝血行動態に関与する Substance P の投与が有効であった．

索引用語：肝予備力，ミトコンドリア，m-GOT，エネルギー充足率，インスリン補充投与

はじめに

胆道の機能的閉塞が起因する肝外閉塞性黄疸は手術療法によって病態の改善ないしは治癒が可能である．しかし高度の黄疸が長期にわたる例では肝のみならず他の重要臓器の複雑な障害を伴うため，手術侵襲を契機とした合併症の発症頻度も高く，致命的となることがある．したがって安全かつ効果的な外科治療を行うためには手術前後の患者管理，術式の選択や適期の診断などがきわめて重要な課題である．本稿では生体の代謝活動の中心となる肝が閉塞性黄疸により受ける障害および閉塞解除後にたどる過程を臨床および基礎の両面から検討し，細胞の生命活動の基本であるエネルギー代謝からみた肝予備力障害への対策に関する基礎的研究についてのべる．

I 臨床例の検討

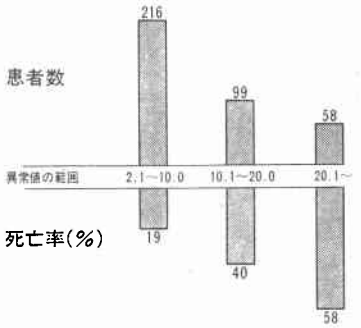
最近14年間に教室に入院した血清総ビリルビン値2 mg/dl 以上の肝外閉塞性黄疸を呈した症例は373例で，これらの原因疾患に対して姑息的ないしは根治的手術が施行された．悪性腫瘍では病巣の部位や範囲，胆石症では感染症の有無，手術術式，肝障害の程度や他の重要臓器障害など関連する因子は多いが，術後に消化管出血，腹膜炎，肝不全，腎不全などが原因して115例，30%を失っている．

病態の複雑な閉塞性黄疸症例の手術成績を画一的に論ずるのは妥当でないが，術前の臨床生化学的検査では，その異常値と死亡率には明らかな相関がみられる．図1に示すように総ビリルビン値が高くなるほど死亡率は上昇し20.1mg/dl 以上では58%にも達している．その他アルカリフォスファターゼ値，SGOT，血清蛋白量を指標としても正常値に近い症例に較べると異常群では死亡率が高くなる．

また胆管癌，膨大部癌，膵頭部癌などの悪性腫瘍が原因した閉塞性黄疸例で総ビリルビン値が10mg/dl 以上を

* 第7回大会シンポジウムⅢ—6
閉塞性黄疸の外科治療に関する問題点

図1　総ビリルビン値異常値の範囲と異常例中の死亡率



示した135例のうち biliary diversion を行ったのち2週間を経過しても総ビリルビン値が術前の1/2以下に低下しなかった35例のうち85%が死亡している．減黄効果がみられず死亡した症例は何れも発黄後3月以上を経過しており，術後に胆汁酸の減少を伴った淡い胆汁の排泄をみることが多い．これらの症例では黄疸が高度になるにしたがい他の重要臓器障害，手術に伴う合併症を頻発し死因となっている．

この臨床的事実から閉塞性黄疸による病態肝の予備力障害を把握し，その障害からの回復を促進する対策をたてることが治療成績の向上に寄与するものと推定され次の基礎研究を行った．

II　基礎的研究

細胞内で営まれる諸代謝はエネルギーに依存した反応であり，このエネルギーの90%以上はミトコンドリア（以下 Mt と略す）の呼吸で生成される ATP により供給されている．したがって肝細胞 Mt のエネルギー生成能を把握すれば障害肝がどの程度までの負荷や侵襲を代償し得る予備力を保持しているかを知り得る．著者らが行ってきた肝外閉塞性黄疸解除前後における肝細胞微細レベルでの形態とエネルギー代謝からみた肝予備力障害の研究およびその対策に関する基礎的研究についてのべる．

1.　実験モデル

著者らが開発したダイコクネヅミ肝外胆管の閉塞および解除法[1]により，経腸管的に外胆汁瘻としたビニール管を閉塞させ，また先端を切離解放したビニール管を腸管内に押し込むことで任意の時期に胆管閉塞を解除した．この実験モデルを用いて次の検索を行った．

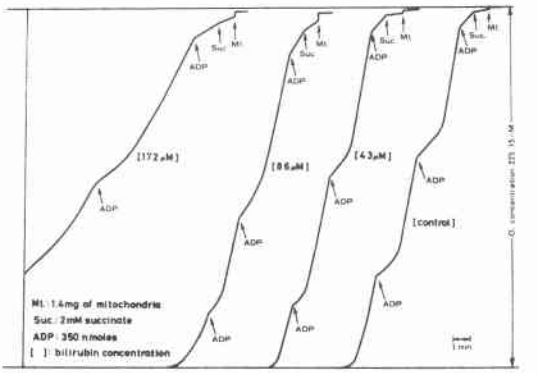
2.　電顕による検索

胆管閉塞3～5日におよぶと毛細胆管が増生拡張し，microvilli が消失して電子密度の高い顆粒が出現，デスモゾームの一部がディッセ腔化し，terminal bar の解離もみられるにいたるほか，dense body が増加し全膜成分は減少し Mt の膨化が目立つようになる．閉塞解除24時間後には不規則な形をした毛細胆管に microvilli が出現し，内部に胆栓をみる．閉塞解除後10日にいたっても Mt の膨化などの所見のほかミエリン様構造物をみる．すなわち電顕所見では閉塞解除後の肝細胞周辺部の修復は早いが細胞内小器官の形態変化は継続しそれらの機能回復は遅延することが示唆された．

3.　ビリルビンおよび胆汁酸が Mt 呼吸機能に及ぼす影響

図2は正常ダイコクネヅミ肝から調整した Mt に，in vitro で43,86,172μM の濃度でビリルビンを作用させた際の Mt 呼吸機能に及ぼすビリルビンの影響を示す．呼吸基質にはコハク酸，燐受容体には ADP を用いて ATP を生成せしめ，ポラログラフィカルトレーシング[2]を行った．右端の対照にくらべるとビリルビンの添加濃度が増加するにしたがい，Mt 呼吸は脱共役と抑制を生じ，ATP 生成能が著明に障害されてくることが明かである．

図2　The Effects of Bilirubin on the Respiration and R.C.I. of Rat Liver Mitochondria



胆汁酸成分についても同様に検討したところリトコール酸やケノデオキシコール酸に Mt 呼吸機能の障害作用が認められた．

この2つの結果から in vivo でもビリルビンや胆汁酸が代謝活動の基本となる Mt のエネルギー産生を障害し，肝細胞機能を低下させ肝予備力を減少せしめていると推定される．

4.　閉塞性黄疸解除前後の Mt 呼吸機能の変化

図3　Comparison of mitochondrial indices

		Control (n=6)	Jaundiced (n=6)	
Respiratory activities	R. C. I.	5.7±0.2	3.6±0.4	P<0.01
	ADP/O	1.72±0.09	1.35±0.05	P<0.01
	ATPsynthesis n moles/min/mg	351.0±58.1	217.0±26.7	P<0.05
	State 3 respiration n moles/min/mg	96.1±7.0	98.9±8.4	n.s.
Cytochromes n moles/mg	Cyt. a(+a3)	0.20±0.01	0.18±0.02	n.s.
	Cyt. b	0.15±0.01	0.14±0.01	n.s.
	Cyt. c(+c1)	0.36±0.01	0.33±0.01	P<0.05
Inner membrane ATPase		0.45±0.02	0.41±0.03	n.s.
μmoles/min/mg	+oligomycin (%)	3.9±0.2	3.9±1.2	n.s.
	+DNP (%)	113.2±6.2	124.0±9.7	n.s.

Mean ± S.D.
n: number of animals
n.s. = not significant

図3は正常および胆管閉塞5日目のダイコクネヅミ肝の Mt 呼吸機能[2]，チトクローム酵素[3]，内膜 ATPase 活性[4]を比較したものである．in vitro の結果と同様に黄疸肝 Mt では Mt の呼吸機能の指標となる呼吸調節比，ADP/O, ATP 生成量が著しく障害され，チトクロームC量の減少がみられる（$p<0.05$）．

さらに長期にわたり黄疸が持続すると，肝より調整される Mt 収量，チトクローム a（$+a_3$）量，内膜 ATP ase の活性および基質特異性が減少し，電子伝達系やエネルギー転移系酵素群が存在する Mt 内膜成分の質的変化をみるにいたる．かくして Mt が細胞の機能と形態を保持するのに必要なエネルギー供給を代償し得なくなり，ついには肝不全にいたる．

図4は胆管閉塞解除前後の血清ビリルビン値と Mt の呼吸調節比の経日的推移について検討したもので，閉塞解除によりビリルビン値がすみやかに正常化するのに較べ Mt 呼吸機能障害の回復は緩徐であることが示されている．その他血清 GOT, GPT, アルカリフォスフアターゼ，β-グロクロニダーゼなどの肝細胞よりの逸脱酵素もビリルビン値同様の経過をたどる．

したがって閉塞性黄疸解徐後には一般的に行われる血清肝機能検査値が正常化しても，これらの数値は肝細胞のエネルギー代謝病態の改善をも反映しているとはいいがたく，肝予備力が低下した時期が継続するといえる．

5．Mt-GOT の動態

臨床検査で汎用される GOT (glutamic oxaloacetic transaminase, L-aspartate : 2-oxoglutarate aminotransferase, E.C.2. 6.1.1) には細胞内局在を異にする2種の

図4　Time trend of Respiratory Control Ratio after decompression of bile duct obstruction

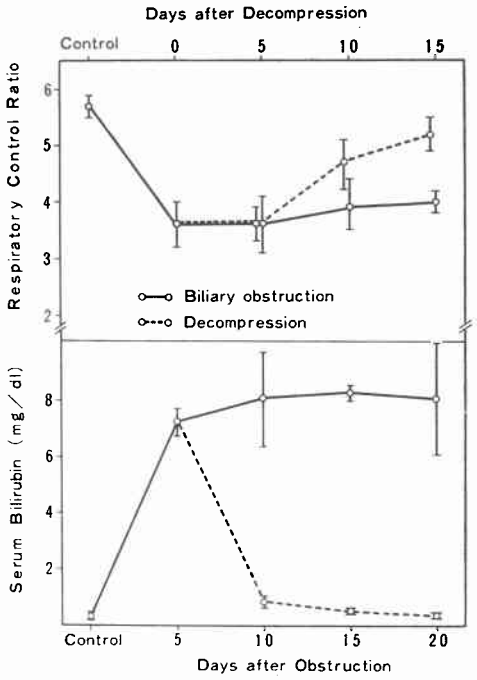
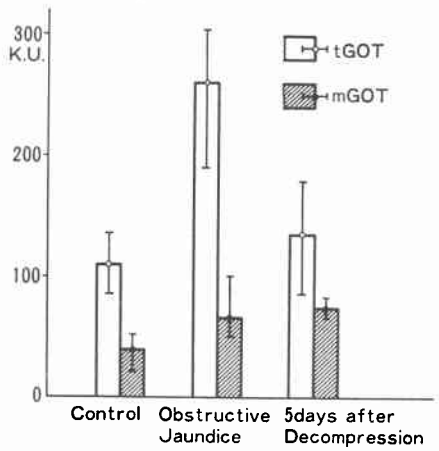


図5　Comparison of tGOT & mGOT in Obstructive Jaundice



アイソザイムが細胞上清(Supernatant or soluble GOT ; S-GOT) とミトコンドリア GOT (mitochondrial GOT ; m-GOT) に存在する[5)6)]．最近大阪大学和田教授らによりブタ S-GOT 抗体を使用した二段吸収法でヒト血清 GOT を測定する試薬キット（GOT アイソザイム分画試案）が開発された．

図5は上述のキットを用いて測定した閉塞性黄疸解除前後のダイコクネズミ血清 m-GOT および total GOT (t-GOT=S-GOT+m-GOT) の推移を示す．この S-GOT 値 (Karmen 単位) は初速度 UV 法で測定した．胆管閉塞5日目には t-GOT が平均260，m-GOT は70の高値を示している．閉塞解除5日後では t-GOT は140に下降しているが，m-GOT は80に止まりほとんど低下していない．この閉塞解除による m-GOT の推移は図4に示した閉塞性黄疸解除後の Mt 呼吸機能の回復遅延とかなり類似した動態である．m-GOT 値および m-GOT/S-GOT の上昇は細胞内のエネルギー産生小器官である Mt の統合性の破綻を反映した現象としてとらえられるので，m-GOT の動態から肝の予備力が低下した状態を間接的に類推することが可能である．

障害肝の予備力を推定するのに肝組織を採取して Mt の呼吸酵素や機能状態を検討するのは時間と器機を要するので実用的であるとはいい難い．したがって高度な肝障害がある際には容易に測定可能な m-GOT の経日的動態により肝予備力を類推することはきわめて有意義である．

6．肝予備力障害の改善対策

閉塞性黄疸症例の手術後に重篤な影響をもたらす主な原因に黄疸時のみならず閉塞解除後にも Mt の呼吸機能が低下した肝予備力障害の持続が推定される．この障害状態を積極的に改善し，予備力を刺激し増大させることが閉塞性黄疸患者の管理上重要となる．

著者らは肝再生時における体液性因子の賦活作用について研究を進めているが，今回は特にインスリンの Mt 呼吸機能賦活作用に注目し，インスリン補充投与による Mt の機能改善の効果をエネルギー代謝面から検討した．

図6は正常および胆管閉塞5日後のダイコクネズミに1g のブドウ糖負荷を行った1および2時間後の門脈血中のインスリンレベルを比較したものである．正常でのインスリン分泌亢進反応にくらべると，黄疸時には明かに膵からのインスリン分泌が抑制されている．したがって閉塞性黄疸による肝エネルギー代謝障害の原因には，胆汁うっ滞によるビリルビンおよび胆汁酸の直接障害のほか，インスリンの分泌障害が関与していることが示唆される．また膵からのインスリン分泌障害は膵における胆汁うっ滞が原因した膵 Mt の機能低下が関与している可能性のほか，さらに胆管の機械的閉塞のため胆管内圧が上昇し，門脈血流障害がもたらされていることも原因

図6　Change of Portal insulin level after glucose load in normal and icteric rats

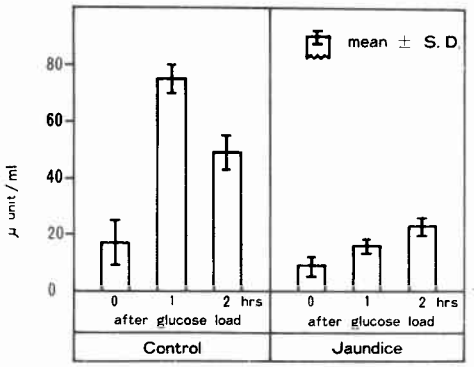
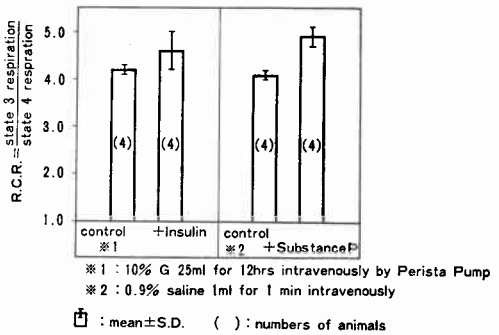


図7　Effects of Insulin and Substance P on R.C.R. of liver mitochondria of rat 5 days after decompression of bile duct obstruction



として考慮すべきであろう．

図7は胆管閉塞解除5日後のダイコクネズミにインスリン (2U/kg/24h) あるいは Substance P (25μg/kg) を静脈内に投与した際に，これらが肝 Mt 呼吸機能に及ぼす効果を呼吸調節比で検討したものである．インスリンや肝血流量を増加させる作用のある Substance P[7] を投与することにより閉塞解除後においても障害が継続する Mt の呼吸機能が改善される効果を認めた．

一方細胞内には代謝活動に必要な化学的エネルギーを高エネルギー燐酸化合物としてになうアデニンヌクレオチド (ATP, ADP, AMP) が一定のプールサイズを保って存在し，その動態が代謝活性や予備力の指標となり得る[8]．たとえば肝流入血遮断実験により肝細胞のエネルギーバランスが破綻し不可逆的変化を生ずる．この critical point を求めると，アデンヌクレオチド量が70%，ATP 量が1/7，ADP 量が1/2に減少，AMP が一過性の増加後に減少に向う時点[8]，あるいは ATP 消費が供給

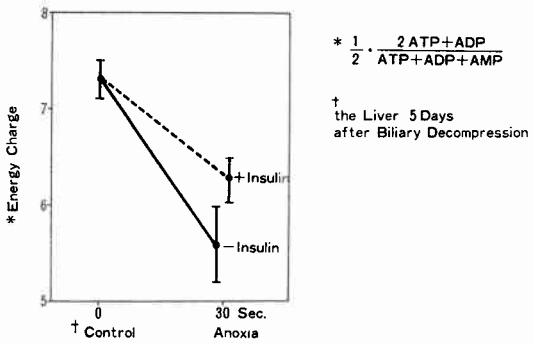
を凌駕するためエネルギー充足率[9]

$$\left(\frac{1}{2}\cdot\frac{2\,ATP+ADP}{ATP+ADP+AMP}\right)$$

が0.5となる時点である．したがって肝細胞アデニンヌクレオチドプールからみると，この critical zone の幅を維持し改善せしめることが，肝予備力の増大につながるものと推量される．

図8は閉塞性黄疸解除5日後のダイコクネヅミ肝を30秒間阻血状態にした際の肝エネルギー充足率低下に対するインスリンの補充投与効果を示す．インスリン（2U/kg）を予め投与したタイコクネヅミではエネルギー充足率の急速な低下をある程度防止し得る結果を得た．このような

図8　Effect of Insulin on the Energy Charge of Liver Cells following Brief Anoxia



インスリンの作用機序には複雑な kinetic response が関与しているものと思われるが，阻血後の低酸素状態で Mt の酸素認識をたかめ ATP 生成を促すこと，また無酸素状態でも解糖系の動員による ATP 産生を促す効果を発揮することが推定される．

これらの研究結果から閉塞性黄疸解除前後の肝予備力障害への対策としてインスリンの補充投与，また Substance P 投与などによる肝血行動態の改善が有効であることが実証された．

考　察

肝外における胆汁の機械的流出障害が原因する閉塞性黄疸の病態は複雑かつ広汎にわたり，高度黄疸例では肝障害，腎障害のほか手術侵襲を契機としてこれらが増悪しさらに感染，循環障害，消化管における急性潰瘍，創傷治癒障害などがみられることがあるので，患者管理には慎重でなければならない．

本稿ではこれら複雑な病態のうち生体の代謝の中心となる肝に焦点をしぼり，閉塞性黄疸解除前後の微細器官の形態とエネルギー代謝からみた肝予備力障害およびその対策に関して基礎的な検討を行った．

ヒトの生命活動に酸素が不可欠であることは，Mt の酸化的燐酸化で生成される ATP によるエネルギー供給が必須であることを意味する．1日に消費するエネルギーは体の数倍にも及ぶ ATP により供給されるが，Mt による好気的エネルギー生成能はそれをはるかに凌駕する機能的かつ量的予備力を有し，より多大なエネルギー要求をも代償し得る．したがって肝という実質性代謝臓器の予備力も Mt の機能的代償力に依存しているということができ，こういった観点から肝予備力を考察した．

胆管の機械的閉塞による胆汁うっ滞のため障害を受ける肝では，閉塞解除後の一般肝機能検査値の正常化にもかかわらず Mt の形態と呼吸機能の障害が持続した．すなわち一般血清指標では閉塞性黄疸解除前後の肝の予備力障害状態を適確に把握し得ないことが指摘される．一方血清 m-GOT は Mt の呼吸機能障害と相関動態を示すので，肝予備力障害やその回復過程を推定する指標となり得る．その際 m-GOT の絶対値のみならず m-GOT/S-GOT の値が重要で，前者が低値でも後者が大である病態肝では Mt の呼吸機能障害や内膜呼吸酵素群の異常が明かであった．現在の GOT 値はホロ酵素活性のみを測定したものであるが，補酵素ピドキサールを添加してアポ酵素活性をも併せ測定すれば，m-GOT 動態がさらに明かとなり有力な肝予備力を推定する指標となり得る．

特に高度の閉塞性黄疸を呈する症例では閉塞部位の診断もかねて可能な限り早期に経皮経肝的胆管誘導を行い，全身状態の改善をまって二次的に根治術を施行するのが一般的である．閉塞解除後の m-GOT の正常化は二次的手術を行う適期を判断する根拠となる．小沢ら[10]は糖負荷試験による血糖値の推移が肝 Mt の代償性機能亢進能と相関することを指摘し，障害肝症例の肝機能予備力や手術適期の診断に有用であるとしている．

臨床上同様に重要なことは肝予備力障害状態の改善である．著者らは膵内分泌ホルモンが肝大量切除後の再生過程で肝の機能的予備力を発揮させ，再生を刺激し強盛にするのに重要な役割を演ずることを報告した[11]．閉塞性黄疸時には膵よりのインスリン分泌障害がみられるのみならず肝の血行動態も障害されるので，これらが黄疸肝の予備力低下の原因の1つであることが推定される．閉塞性黄疸肝にインスリンおよび Substance P を投与してこれらの効果を検討したところ，障害された Mt-ATP 生成能が有意に亢進せしめられる結果を得た．またイン

スリンの投与により，阻血状態におかれた肝細胞のエネルギー充足率低下をある程度防止し，肝予備力を高める効果が得られた．もちろんインスリンはグルカゴンとの協同作用により肝再生を促進する[12]ので，その補充投与は肝予備力を刺激し増大せしめるのみでなく，黄疸により障害された肝細胞の修復をも促進させると考えられる．インスリンあるいはインスリンとグルカゴンの補充投与により，障害肝細胞の再生が促進され，電撃性肝炎マウスの生存率が有意に改善される[13]ことが報告されている．

おわりに

高度の肝外閉塞性黄疸を呈する疾患の手術後には合併症が頻発し死亡率が高いので，肝障害の実態や治療対策に役立てるため肝細胞レベルにおける病態を動物を用いて検討した．その結果次の知見を得た．

Ⅰ．閉塞性黄疸解除前後の肝予備力障害は，肝ミトコンドリアの ATP 生成能と血清ミトコンドリア GOT の動態に反映された．

Ⅱ．肝予備力障害の改善にはインスリンの補充投与が有効であった．

本稿の１部は第７回日本消化器外科学会大会（昭和52年３月11日），第77回日本外科学会総会（昭和52年３月31日）および第63回日本消化器病学会総会（昭和52年４月３日）に発表した．

文　献

1) Sugahara, K. et al.: A simple operation to produce complete biliary obstruction and decompression in the rat. IRCS Med, Sci., **3**: 421, 1975.
2) 荻原文二：酸素電極による呼吸の測定．蛋白質・核酸・酵素，**10**：1689～1702，1965.
3) Iwata, S. et al.: Flavin and cytochromes contents in the mitochonaria of the heart and liver. Acta Med, Okayama, **21**: 191－203, 1967.
4) Sugahara, K. et al.: Hepatic dearterialization in 3'-Me-DAB hepatocelllar carcinoma with special reference to circulatory dynamics and mitochondrial junctions. Gastroenterology, **68**: 1278－1283, 1975.
5) Boyd, J.W.: The intracellular distribution, patency and electrophorefic morbility of l-glutamate-okalvacetate trausawinasc from rat liver. Biochem. J., **81**: 434－441, 1961.
6) Morino, Y. et al.: Crystallization of 2-oxoglutarate-l-aspartate transawinaoes from mitochondrical and doluble fractions of beef liver, Biochem. Biophys. Res. Comm., **13**: 348－352, 1963.
7) 大塚正徳：神経伝達物質探索のためのひとつの試み．代謝，**10**：1195～1201，1973.
8) 菅原克彦ほか：肝外閉塞性黄疸の診断と治療とくに高度黄疸時の微細レベル機能からの考察．日本消化器外科学会誌，**8**：142～148，1975.
9) Atkinson, D.E. and Walton, GoM.: Adenosine triphosphate conversion in metabolic regulation, J. Biol. Chem., **242**: 3239－3241, 1967.
10) 小沢和恵ほか：肝障害．外科治療，**31**：612～619，1974.
11) 三谷　進ほか：消化管ホルモンと肝再生．日本外科学会誌，**77**：1193～1195，1976.
12) Bucher, N.L.R. and Swaffield, M.N.: Regulation of hepatic regemeration in rats by synergistic action of insulin and glucagon. Proc. Nat. Acad. Sci., **72**: 1157－1160, 1975.
13) Farivar, M. et al.: Effect of in sulin and glucagon on fluminant murine hepatitis. Lancet, **259**: 1517－1519, 1976.

シンポジウム（III—６）

閉塞性黄疸例における腎不全について

東北大学第１外科　小山　研二

腎不全は閉塞性黄疸の重要な合併症であり教室における最近５年間の123例のうち14例の腎不全を経験した．高齢者，高度黄疸例の術直後に多いが黄疸軽減後，術後長期を経ても生ずることが少なくない．その際は胆管炎や大量出血（消化管，腹腔内）を誘因とすることが多い．半数の７例に腹腔潅流を行つたが腹腔ドレンや腹膜癒着のため十分な潅流が出来ず救命し得たのは１例だけであつた．一方，閉塞性黄疸ラットによる実験では，閉塞期間が６週になつても尿量や各種腎機能には異常をみない．しかし，腎皮質ミトコンドリア呼吸能は６週で明らかに低下し，更に脱血による血圧低下例では著しくつた．したがつて閉塞性黄疸例では腎機能正常でも腎不全準備状態にあつて肝障害の進展によつて容易に腎不全が顕性となるものと思われる．

（都合により抄録のみ掲載）