日消外会誌　11（5）：359～368，1978年

総胆管結紮（ラット，イヌ）による実験的閉塞性黄疸の解除の時期に関する生化学的検討

神戸大学医学部第1外科教室（指導：光野孝雄教授）
白　川　　勝

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE TIME LIMIT FOR SURGICAL RELEASE OF OBSTRUCTIVE JAUNDICE AFTER COMMON BILE DUCT LIGATION IN RATS AND DOGS

Masaru SHIRAKAWA
The First Department of Surgery, Kobe University, School of Medicine
(Director: Prof. Takao Mitsuno)

閉塞性黄疸時の病態生理とその閉塞解除時期を，肝機能，肝再生能および血清ミトコンドリア GOT (m-GOT) を中心に生化学的な面より経時的に検討した．

肝ミトコンドリア，ミクロゾーム機能およびビリルビン代謝は総胆管結紮後経時的に低下し，3週目以後とくにその障害は著明であった．一方，肝再生能は結紮後初期は増加するが，3週目以後低下の傾向を示した．したがって，閉塞解除時期は総胆管結紮後できれば2週目以内が望ましいと考えられた．またこれら肝の病態生理を著者らの提唱した m-GOT はよく反映していたので，閉塞解除時期を知るよい指標になると思われた．

索引用語　閉塞性黄疸，肝ミトコンドリア機能，肝内色素結合蛋白（Y, Z 蛋白），肝再生能，血清ミトコンドリア GOT (m-GOT)

I　緒　　言

1885年 Stern[1] がハト総胆管結紮により閉塞性黄疸を作成していらい，閉塞性黄疸の病態生理については，胆汁逆流に関する種々の報告[2)~7)]や，ビリルビンのうっ滞，あるいは逆流による肝細胞障害についての面よりの多くの報告[8)~12)]はみられるが，いまだ不明な点の多いのが現状である．最近では，ビリルビンに関与する酵素活性以外に，肝細胞内ビリルビン移送物質についての研究[13)~16)46)]や，代謝的変化および肝再生に関与する諸因子の研究[11)12)17)~20)]にまでその領域は広がっている．しかし，外科学の分野において，閉塞性黄疸の経時的変化に伴う肝障害の程度と，その予後との関係をできるだけ適確に把握することにより，閉塞解除の適当な時期を知ることは最も関心の払われるところであるが，その観点に立った研究[9)~12)19)21)22)]は意外に少ない．しかも，閉塞性黄疸時の閉塞解除時期を肝機能，肝再生能，エネルギー代謝面より個々に検討した報告はあるが，それを総合的に検討した研究はほとんどみあたらない．

今回，著者は実験的に閉塞性黄疸動物を作成し，肝ミクロゾーム，肝ミトコンドリア機能およびビリルビン代謝に，肝再生能，adenine nucleotides 量の変化を加えて，閉塞性黄疸時の病態生理を生化学的な面より経時的に検討した．また肝細胞障害の程度を知る新しい指標として著者ら[17)21)35)36)]がすでにその臨床的意義を強調してきた血清ミトコンドリア GOT (m-GOT) の変動もあわせて検索し，閉塞性黄疸の病態生理よりみた閉塞解除時期について検討し，若干の知見をえたので報告する．

II　研究対象ならびに方法

実験動物としては，体重200～250g 前後の Wistar 系ラット約100匹と，肝機能障害のない体重約10kg 前後の

雑種成犬10頭に，総胆管結紮を行って用いた．

1）血清ビリルビン値（ラット）

血清総ビリルビン値は Evelyn-Malloy 法[23]で測定した．

2）肝ミクロゾーム機能およびビリルビン代謝（ラット）

肝ミクロゾーム機能は Hogeboom らの方法[24]により採取した．UDP gluculonyl transferase 活性は Van Roy-Heirwegh の方法[25]で，UDPG dehydrogenase 活性は Strominger らの方法[26]で，ornithine carbamyltransferase 活性は Brown-Grisolla の方法[27]に若干の変法を加えて，arginase 活性は Schimke の方法[28]で，cytochrome P450 は Gigon らの方法[29]で，NADPH cytochrome C reductase 活性は Omura らの方法[30]で，aniline hydroxylase 活性は Guarino らの方法[31]で，aminopyrine demethylase 活性は Orrenius らの方法[32]でそれぞれ測定した．

ビリルビン代謝における肝内色素結合蛋白（Y，Z 蛋白）定量は Levi らの方法[14]に準じた．蛋白量は Lowry らの方法[33]を用いて測定した．

3）肝ミトコンドリア機能（ラット）

肝ミトコンドリア採取は Hogeboom らの方法[24]によった．肝ミトコンドリアの P/O ratio, RCR は glutamate を基質にして，Clark type の固定電極を用い測定した．glutamic dehydrogenase 活性は Olson-Anfinsen の方法[34]で酵素学的に測定した．

4）血清ミトコンドリア GOT (m-GOT) および total GOT（イヌ）

血清 m-GOT および total GOT の測定は和田らの抗ヒト soluble GOT 感作赤血球を用いる著者らの開発した方法[35][36]によった．

5）肝再生に関与する諸因子（ラット）

DNA, RNA は Schmidt-Thannhauser の方法[37]に若干の変法を加えて核酸を抽出した．DNA の定量は Giles-Myers の方法[38]による diphenyl 反応で測定した．また RNA 定量には Brown の方法[39]による orcinol 反応を用いた．thymidine kinase 活性は Eker の方法[40]を用いて測定した．インスリン分泌能は膵ラ氏島を Lacy-Kostianovsky の方法[41]で採取し，16.7mM のグルコース medium にビリルビンを添加後 medium に分泌されるインスリンを radioimmunoassay 法で測定し検討した．

6）adenine nucleotides 量（ラット）

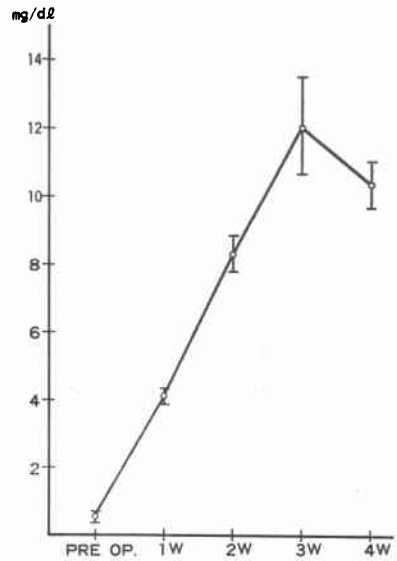
ATP 含量は Lamprecht-Trautschold の方法[42]で，ADP, AMP 含量は Adam の方法[42]で，酵素学的にそれぞれ測定した．energy charge は Atkinson-Walton の方法[44]により，1/2 2ATP＋ADP/ATP＋ADP＋AMP の式で算出した．

III　実験結果

1）血中ビリルビン値の経時的変化

正常ラットの総ビリルビン値が0.52±0.18mg/dl であるのにくらべ，総胆管結紮後その値は漸次上昇し，結紮後3週目には 12.07±1.40mg/dl と最高値を示すが，結紮後4週目には 10.31±0.72mg/dl とむしろ減少傾向にあり，ほぼ結紮後3～4週目で平行の状態に達した（図1）．

図1　Changes of total bilirubin of rat seum after common bile duct ligation



2）肝ミクロゾーム機能およびビリルビン代謝の経時的変化

cytochrome P450は結紮前0.635±0.086mμ moles/mg protein であったのにたいして，結紮後は第2日目の約1/2を除き，約70%をほぼ4週間持続した．NADPH cytochrome C reductase は結紮前1.41±0.12 cyt. C reduced/mg protein/min. であったのにくらべて，結紮後は第1日目より減少し，2週間目で結紮前の約1/2以下に低下し，4週目には0.93±0.11と上昇したものの結紮前に比して有意に低下した（図2）．

aminopyrine demethylase 活性は結紮後第1日目より

図2 Cytochrome P450 & NADPH-cytochrome C reductase of rat liver microsomes

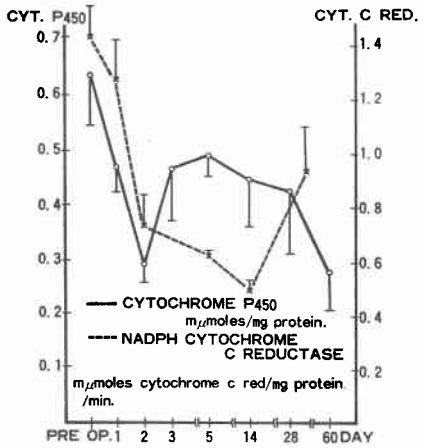
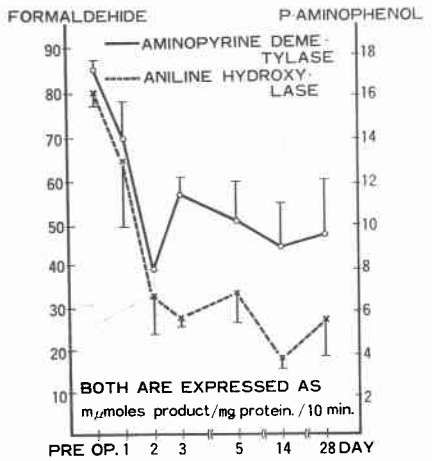


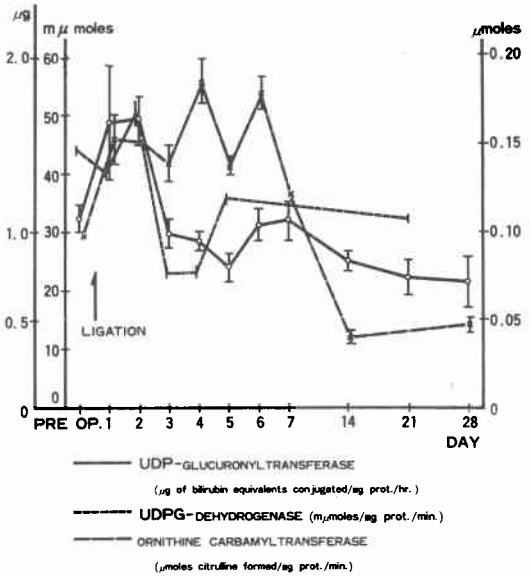
図3 Aminopyrine demethylase & anilinehydroxylase of rat liver microsomes



減少し，3日目以後は前値（85.2±2.5mμ moles formaldehyde produced/mg protein/10min.）のほぼ1/2であった．aniline hydroxylase 活性も結紮後第2日目に前値の 16.0±0.6mμ moles p-amino phenol formed/mg protein/10min. から6.5±1.4と著明に減少し，以後そのままであった（**図3**）．

ornithine carbamyltransferase 活性は結紮後漸次上昇し，4日目，6日目には結紮前値の約1.8倍にまで上昇したが，1週目にほぼ正常域（0.098±0.122μ moles citruline formed/mg protein/min.）にもどり，2週目には正常値の約1/2に減少し，以後低値のままであった．UDP gluculonyl transferase 活性は結紮後第1日目，2

図4 Changes of UDP-glucuronyl transferase, UDPG-dehydrogenase and ornithine carbamyltransferase of rat liver microsomes after common bile duct ligation



日目は約1.5倍に上昇したが，3日目より1週目までは正常域（1.08±0.08μg of bilirubin conjugated/mg protein/hr.）かやや下界にあり，2週目は0.83±0.06と著明に減少し，以後も減少傾向にあった．UDPG dehydrogenase 活性は結紮後2日目に結紮前の44.0±1.0mμ moles/mg protein/min. より51.2±3.5と上昇したが，3日目と4日目は22.5±0.5，22.8±0.6に減少した．しかし，5日目にはやや上昇して結紮前値の約80%になったが，以後はそのままであった（**図4**）．

つぎに，肝内色素結合蛋白（Y，Z 蛋白）について検討すると，Y蛋白は結紮前0.0134±0.0014μ moles BSP であったのが，結紮後は1週目より著明に減少し，結紮後2週目，3週目にはそれぞれ0.0065±1.0010，0.0056±0.0010となり，以後もほぼ同値で経過した．一方，Z蛋白は結紮前0.0324±0.0051μ moles BSP であったのにたいして，結紮後Y蛋白同様低下し，結紮後2週目0.0150±0.0033と著明に減少し，以後ほぼ同様な低値を持続した（**図5**）．

ついで，カラムに加えた総蛋白量にたいする Y，Z 蛋白の占める割合を%比でみると，Y蛋白のそれは結紮前22.9±2.5%であったのにたいして，結紮後は徐々に減少し，2週目には16.4±3.1%と有意に低下し，以後も軽度ながら減少傾向を続けた．また，Z蛋白も結紮前

図5　Changes of BSP binding by carrier proteins rat liver in various conditions

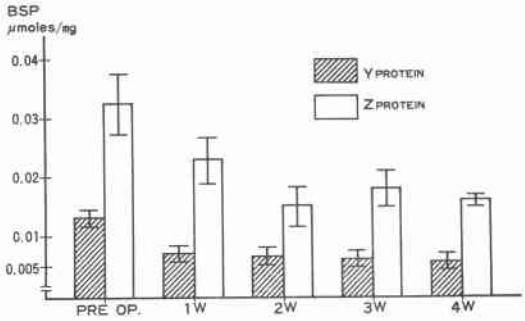
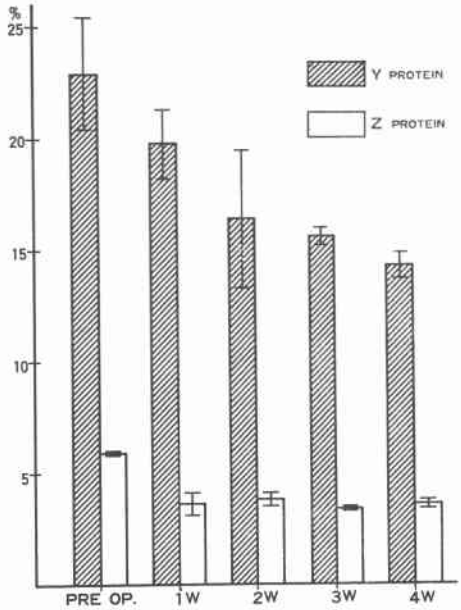


図6　Changes of carrier proteins content of rat liver in various conditions



5.9±0.1%であったのにたいして，1週目より有意に低下し，以後3%台を保ったままであった（**図6**）.

3）肝ミトコンドリアの経時的変化

P/O ration は結紮前 glutamate を基質とした時に2.90±0.13であったが，結紮後は漸次減少し3週目，4週目にはそれぞれ2.44±0.03，2.37±0.10と有意に低下し，約80%に減少していた．一方，RCR も結紮前の5.28±0.15にくらべて，結紮後より下降しはじめたが，3週目には3.19±0.21，4週目には2.24±0.10と有意に減少し，とくに3週目以後は著明に抑制をうけていた（**図7**）.

図7　Changes of P/O ratio and RCR of rat liver after common bile duct ligation

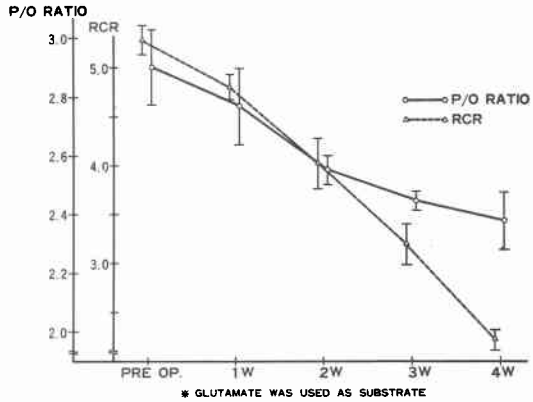
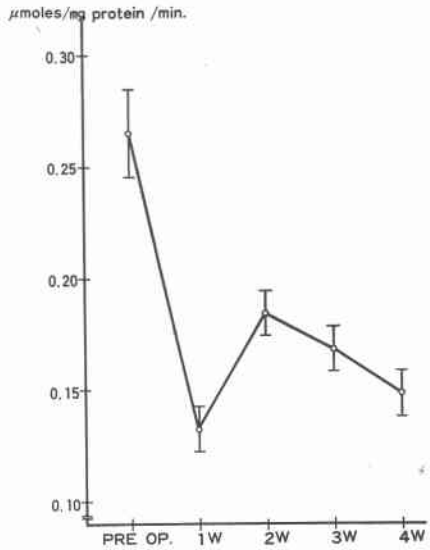


図8　Changes of glutamic dehydrogenase of rat liver after common bile duct ligation

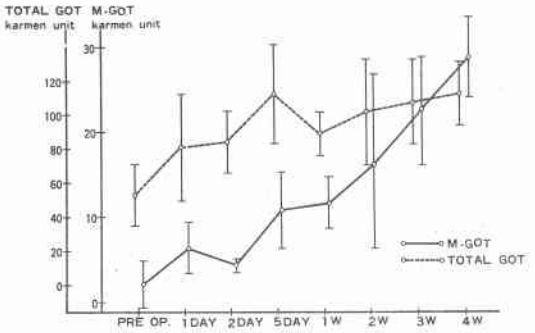


glutamic dehydrogenase 活性も結紮前0.27±0.02μmoles/mg protein/min. であったのにたいして，結紮後1週目には0.13±0.01と結紮前値の約1/2に下ったが，2週目には0.18±0.01と1週目にくらべて有意に上昇し，以後は0.17と0.15の間でほぼ同様の値で経過した（**図8**）.

4）血清ミトコンドリア GOT (m-GOT) および total GOT の経時的変化

イヌ血清 GOT の経時的変化をまず total GOT についてみると，結紮前52.8±18.4karmen 単位であった

図9　Changes of m-GOT and total GOT of dogs liver after common bile duct ligation

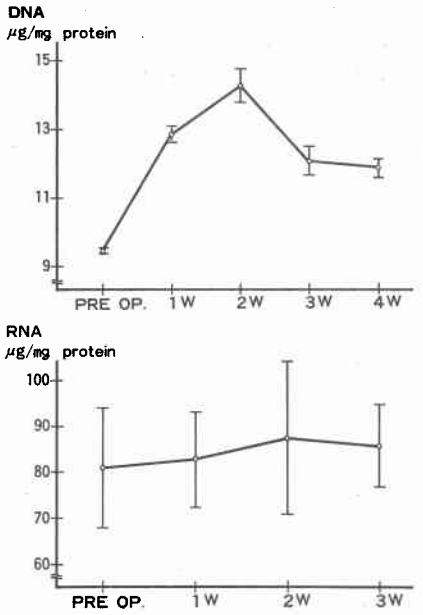


が，結紮後は1日目より上昇しはじめ，以後4週目まで100～110台にあり，とくに大きな変化は認められなかった．一方，m-GOT の値は結紮前2.0±2.8karmen 単位であったのにたいして，結紮後は徐々に上昇し，3週目には22.4±6.5と高値を示し，閉塞期間の延長とともに著明な増加を認めた（**図9**）．

5）肝再生に関与する諸因子の経時的変化

DNA にについては，結紮前9.46±1.14μg/mg protein が結紮後は徐々に増加し，2週目で14.48±4.71と最高に達し，以後漸減した．一方，RNA は結紮前80.92±13.26μg/mg protein で，結紮後も著明な変動はみられなかった（**図10**）．

図10　Changes of DNA and RNA of rat liver after common bile duct ligation



thymidine kinase 活性についてみると，結紮前が0.057±0.003n moles/mg protein であったのにたいして，結紮後は漸次上昇し，2週目の0.177±0.026を最高にして，以後減少傾向にあった（**図11**）．

つぎに，正常ラットランゲルハンス島のインスリン分泌系におよぼすビリルビン添加の影響を検討した．すなわち300mg/dl (16.7mM) グルコース medium の最大刺激時におけるインスリン分泌を調べたが，その場合ビリルビン非添加群の値を100とすると，ビリルビン8.3 mg/dl を添加した場合は57.0±4.7%に，16.0mg/dl の

図11　Changes of thymidinekinase of rat liver after common bile duct ligation

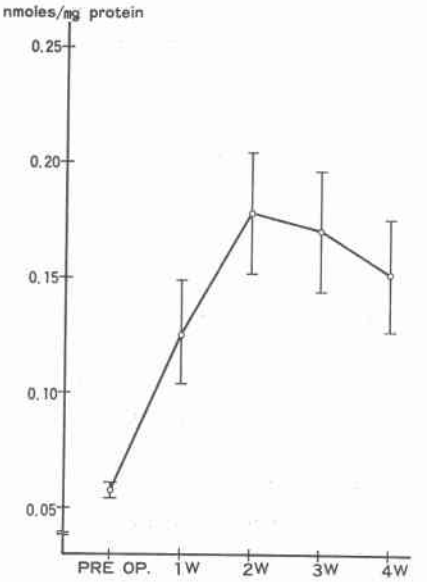


図12　Relationship between glucose induced insulin release and bilirubin of incubation medium in rat pancreatic islets

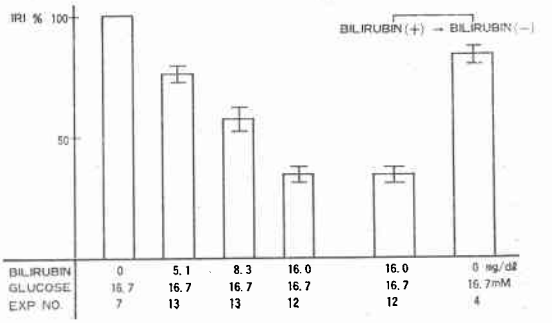
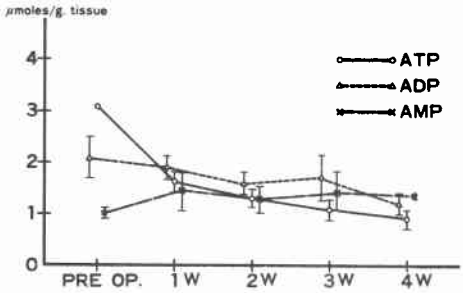
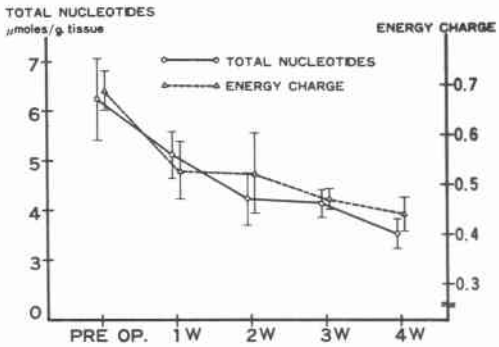


図13　Changes of adenine nucleotides of rat liver after common bile duct ligation



Changes of total nucleotides and energy charge of rat liver after common bile duct ligation



添加では33.5±3.5%となり，ビリルビン添加の増量にほぼ比例してインスリン分泌能は抑制された．しかし，この反応系よりビリルビンを除くと，その分泌能は82.5±3.6%と回復した（図12）．

6）adenine nucleotides 量の経時的変化

ATP は結紮前 3.088±0.372μ moles/g tissue であったが，結紮後は1週目で約1/2と著明に減少し，3週目以後も軽度ながらさらに低下した．一方，ADP も結紮後減少しはじめ，4週目で最低値を示したが，AMP の変化に関しては閉塞期間中ほとんど有意差を認めなかった．total nucleotides および Atkinson-Walton の energy charge についても，それらの値は結紮後漸次減少に向っていた（図13）．

IV　考　察

閉塞性黄疸時の病態生理については Minkowski-Naunyn (1886年)[2]が肝臓なくば黄疸なし（ohne Lever, kein Ikterus）と主張していらい，数多く報告され，最近では黄疸の成因はビリルビンの生成，肝細胞への摂取，肝細胞内移送，抱合，排泄という subcellular level で論じられるようになった[13)~16)46)]．しかし，閉塞性黄疸時の肝細胞障害の程度を経時的に，しかも総合的に観察し，それを手術時期（閉塞解除時期）との関連において検討した報告[9)~12)19)21)~22)]はあまり多くない．

著者の教室では閉塞性黄疸手術時期と予後の関係について一連の研究を行ってきたが，著者はその病態生理を生化学的な見地より検討した．

まず，血清ビリルビンの動きからみると，その値は総胆管結紮後3～4週目で最高ないしは平行の傾向にあった．これは松尾[18]の実験値とほぼ同様の結果を示し，臨床的にも閉塞期間の延長とともに総ビリルビン値が上昇するが，ある時期を境界にしてその値はほぼ一定ないしは減少化することとよく相関していた．したがって，ビリルビン値が平行に達する時期以後における肝の病態生理は，ビリルビン値のみでは十分に把握することが困難と考えられる．そこで著者は，ビリルビン値が閉塞期間の延長化につれ，平行ないしは減少傾向になる原因を知るため，Van den Berg[45] いらい，肝の機能として最も注目されてきたビリルビン抱合能を，UDP glucuronyltransferase, UDPG dehydrogenase 活性より検討するとともに，また最近 Levi ら[14]により発見され，ビリルビン抱合能にいたるまでのビリルビン移送に主役を演ずるといわれている Y, Z 蛋白についても検索を加えて，ビリルビン処理能の面より検討した．

UDP glucutonyltransferase, UDPG dehydrogenase 活性はともに最初上昇したが，時間の経過とともに減少し，2週目以後は低値のままで経過した．これは後述のように，閉塞性黄疸時における代謝障害がウロン酸回路にまで波及した結果と思われるし，また UDPG glucuronyltransferase 活性はビリルビン抱合の key enzyme であるので，ビリルビン処理能の重大な低下をきたさない結紮後2週以内の早期解除が望ましいことを示していた．

一方，Fleishner-Arias[13] や浪久[46]は総胆管結紮により Y, Z 蛋白は減少すると報告しているが，総胆管結紮後の経時的変化に伴う Y, Z 蛋白の変動に関してはまだその報告がないので，著者は Y, Z 蛋白を経時的に追究した．

Y, Z 蛋白をその mg protein あたりで peak tube での BSP との結合能でみると，閉塞期間が長びくにつれてそれらは著明に減少した．すなわちY蛋白は結紮後1週目より著明に低下し，以後ほとんど低値のままで経過し，Z蛋白は1週目より低下し，2週目でさらに低下し，以後有意差なく経過していたことより，閉塞1～2週目にか

けて肝内色素処理能に障害が加わることが推察された．

ついで，カラムに添加した総蛋白量にたいする Y，Z 蛋白の占める割合を%比でみると，Y蛋白は結紮後1～2週目までの低下が著明で，以後低下の傾向にあったが，Z蛋白も1週目より低下したままであり，やはり閉塞1～2週目にかけて肝でのそれらの合成能の障害が考えられた．

前述した抱合能を含めて，こらら一連のビリルビン代謝の動きは，血清ビリルビンの動きをよく反映しており，ビリルビン処理能の面からみて遅くとも閉塞2週目以内の早期解除がよいと思われた．

つぎに，閉塞性黄疸時の薬物代謝や脂肪，ステロイド水酸化能について言及する．cytochrome P450 を中心とするミクロゾーム電子伝達系や aminopyrine demethylase 活性の変化について，Schaffer ら[9]は総胆管結紮ラット4日間の追究で，それらは経時的に変化し，とくに aminopyrine demethylase が強く障害されていることより，type I compound の cytochrome P450は閉塞性黄疸初期より減少すると述べている．NADPH cytochrome C reductase を加えた著者の成績でも，それらは早期より低下していることがわかったが，結紮後2週目を境にしてその障害が著明であることより，薬物代謝や脂肪，ステロイド水酸化能の面からも閉塞2週以内の解除が適当と考えられた．

さらに，アンモニア解毒能を ornithine carbamyltransferase 活性より検討すると，結紮後最初はやや上昇するが，2週目より約1/2と著明に低下したままであった．またアンモニア解毒能にはエネルギーが必要であり，エネルギー代謝が後述のように低下することをも考えあわせると，完全閉塞が2週間をこえるとアンモニア解毒能までも増悪するので，閉塞解除時期は総胆管結紮後2週以内が最も適当であると推察された．

一方，閉塞性黄疸時の肝ミトコンドリア機能はそのエネルギー代謝面より，小沢ら[10)19)]や山岡ら[12)]によって cytochrome A を中心に詳しく報告されているが，今回，著者は閉塞性黄疸時の肝ミトコンドリア機能を経時的に検討した．

まずはじめに，血清ビリルビン値が漸次上昇してくる閉塞早期の結紮後2週目までの肝ミトコンドリア機能についてみると，P/O ratio, RCR, glutamic dehydrogenase 活性はビリルビン値の上昇と逆相関して低下しており，肝ミトコンドリア機能障害の結果として，adenine nucleotides 量および energy charge も減少低下したものと考えられた．これを後述する m-GOT の動きでみると，結紮後2週目まではミトコンドリア障害に際して遊出してくると考えられる m-GOT が比較的低値であったことより，これら肝ミトコンドリア諸機能の低下は，軽度のミトコンドリア障害は否定できないまでも，主としてビリルビンの uncoupler 様作用[48)]のためと思われた．

Yamaguchi[47)] はビリルビン増量による glutamic dehydrogenase 活性の低下を実験的に報告しており，教室の大柳ら[17)]も閉塞性黄疸時，とくに高ビリルビン時糖および脂質代謝も抑制され，肝におけるエネルギー代謝も障害されると報告していることから，閉塞性黄疸時におけるビリルビン上昇は，肝ミトコンドリア機能障害の1つの大きな因子になるものと考えられた．

一方，ビリルビン値が最高になる結紮後3週目以後についてみると，P/O ratio, RCR, glutamic dehydrogenase はさらに低下しており，adenine nucleotides 量および energy charge も同様に減少化の傾向にあることより，ビリルビンの肝ミトコンドリア機能障害に加えて，ミトコンドリア膜までその障害が及んできたものと考えられる．これら肝ミトコンドリア障害は，結紮後2～3週目に急激に上昇してくる m-GOT の値によく反映されており，前述した肝ミトコンドリア機能の面からみても，閉塞解除の時期はミトコンドリア自身に障害が及んでくる結紮後3週目以前，できれば2週目以内の早期解除が望ましいと思われた．

つぎに，これら肝ミトコンドリア機能を臨床的に把握するのによい指標だとして，すでに著者ら[21)35)~36)]が提唱してきた血清ミトコンドリア GOT (m-GOT) を，現在臨床でよく測定されている total GOT (total GOT－m-GOT＝s-GOT) との対比のうえで検討する．total GOT（大部分は s-GOT で占められる）は，P/O ratio, RCR などとかならずしもうまく相関して動かなかったが，m-GOT はそれらと非常によく相関しており，とくにビリルビン値が平行に達する結紮後3週目以後もさらに高値をとりつづけたので，従来の total GOT よりもはるかによく肝ミトコンドリア障害を反映していると思われた．また肝ミクロゾーム機能も大部分がエネルギーを必要とするため，肝ミトコンドリア障害が二次的な肝ミクロゾーム機能の低下をひきおこすと考えられるので，前述した肝ミクロゾーム機能やビリルビン代謝障害の程度は，m-GOT の測定によりかなり正確な情報をえられると推測された．したがって，m-GOT を適宜測定

すれば閉塞解除時期を知るうえに1つの有力な指標になりうるといえよう．

以上著者は，閉塞性黄疸時に起こる肝障害を主として肝機能の面より経時的に追究してきたが，つぎに肝障害にたいして反応性に生じる肝再生能について検討した．

閉塞性黄疸時における肝再生に関しては，松尾[18]の核酸代謝およびPの取り込みの面よりの報告がある一方，Whittemore ら[20]は肝再生をやはり DNA 合成の面より検討し，グルカゴンが cyclic AMP を介して DNA 合成を促進すると述べている．また小沢ら[10][19]は膵内分泌能，とくにインスリン量が肝ミトコンドリアエネルギー産生能を増加させることを門脈結紮の実験より確認し，肝細胞再生に重要な因子を占めると報告している．著者はまず，小沢らが肝ミトコンドリアエネルギー産生能に関与すると述べている膵内分泌能について検索した．

Lacy-Kostianovsky の方法[41]で取り出したラット膵ラ氏島に in vitro 下にグルコース最大刺激を加え，ビリルビンを5，8，16mg/dl となるように添加したところ，インスリン分泌能は約2/3，1/2，1/3と正常にくらべて著明に減少し，ビリルビン増量によるその分泌能抑制が明らかに観察された．逆に，反応液よりビリルビンを除去するとインスリン分泌能はよく回復するが，ビリルビンが16mg/dl と非常に高値の時はその回復は完全でなく，このインスリン分泌能の抑制はビリルビンによる uncoupler 様作用[48]のためと考えられた．

小沢ら[10][19]の肝細胞再生にインスリンが必要であるとの報告も考えあわせると，閉塞性黄疸のようなビリルビンが増加する条件下では，肝ミトコンドリアエネルギー産生能まで悪影響をうけると考えられるので，血清ビリルビンの動きからみても結紮後2週目以内の閉塞解除が望まれた．

つぎに，肝再生能をさらに詳しく調べる目的で DNA, RNA およびこれらの合成に関与する thymidine kinase 活性を検討した．RNA には有意差は認められなかったが，DNA, thymidine kinase 活性は結紮後1～2週目まで漸次上昇し，結紮後2週目を最高にして以後は減少傾向にあったことより，総胆管結紮による肝障害にたいしてその再生能は初期には反応性に上昇するが，結紮後2週目前後で頭打ちになり，前述した肝の諸機能が一層増悪する3週目以後では，肝の再生能も低下してくるようである．

これら肝再生に関与する諸因子の経時的変化を adenine nucleotides 量や energy charge の動きからみても，前述のように結紮後3週目以後は低値のままであり，P/O ratio や RCR などの肝ミトコンドリア機能および m-GOT にも変化を示しているので，黄疸の増強する結紮後3週目以後では肝障害による影響が強くなり，肝再生能による代償機能は期待できないように思われた．したがって，肝再生の面からも結紮後2週目，遅くても3週目以内の閉塞解除が適当であると考えられた．

以上まとめてみると，閉塞性黄疸時において総胆管結紮後1～2週目までは，肝ミトコンドリア，ミクロゾーム機能，ビリルビン代謝およびエネルギー代謝は漸次低下するのにたいして，肝再生能は増大する傾向にあった．しかし，結紮後3週目以後になるとこれら肝の諸機能はさらに低下し，肝の再生能も障害をうけるので，結紮後3週目以後，肝の再生能は期待できないように思われた．

したがって，閉塞解除時期は肝の諸機能や肝再生能に障害が強く生じる以前，すなわち総胆管結紮後3週目以内，できれば2週目以内が望ましいと考えられた．またこれら肝の病態生理を著者らの提唱した m-GOT は比較的よく反映しているので，臨床例においても m-GOT を頻回に測定すれば閉塞性黄疸時肝の障害度が知られ，ひいては閉塞解除後の予後が推測されることになる．したがって，閉塞解除時期を知るうえで今後1つのよい指標になるものと考えられた．

V 結　論

閉塞性黄疸の病態生理と閉塞解除時期について，動物実験における生化学的検討より，つぎの成績をえた．

1) 総胆管結紮ラットの血清ビリルビン値は結紮後漸次上昇するが，結紮後3週目に最高に達し，以後漸次減少傾向にあった．

2) 総胆管結紮ラットの肝における，脂肪，ステロイド水酸化能および薬物代謝は，結紮直後より著明に減少した．

3) 総胆管結紮ラットのアンモニア解毒能は一過性に上昇するが，結紮後2週目以後著明に低下した．

4) 総胆管結紮ラットの肝ミクロゾームにおけるビリルビン抱合能は，結紮直後は一過性に上昇するが，2週目以後著明に低下すると思われた．一方，肝内色素結合蛋白（Y，Z 蛋白）の結合能および合成能は，結紮後1～2週目と比較的早い時期より障害をうけていた．

5) 総胆管結紮ラットにおける肝ミトコンドリアの P/O ratio, RCR は，結紮直後より漸次減少し3～4週

目で最も減少していた．

6) 総胆管結紮ラットの glutamic dehydrogenase 活性は，結紮後1週目に著明に減少するが2週目にはやや回復し，以後減少して経過した．

7) 総胆管結紮イヌにおける血清 m-GOT, total GOT 値は結紮後徐々に上昇するが，結紮後3週目以後では total GOT にくらべて m-GOT がより肝ミトコンドリア機能とよく相関していた．

8) 総胆管結紮ラット肝の adenine nucleotides 量および energy charge は結紮後しだいに低下し，3週目以後ほぼ低値を保ったままであった．

9) 総胆管結紮ラットの肝における DNA, RNA, thymidine kinase 活性に関しては，RNA には有意差を認めなかったが，DNA, thymidine kinase 活性は結紮後2週目で最高に達し，以後減少して経過した．

10) 正常ラット膵ラ氏島へのビリルビン添加によりインスリン分泌能は低下し，それはビリルビン値の高さに比例すると思われた．

以上の成績より，閉塞性黄疸時においては肝のミクロゾーム，ミトコンドリア機能，エネルギー代謝および肝再生能に加えて血清 m-GOT の動きより，それらが強く障害をうける総胆管結紮後2週目以内に黄疸軽減の手段が講じられることが望ましいと考えられた．

稿を終えるに臨み，ご指導とご校閲を賜わつた光野孝雄教授に深甚な謝意を表する．また多々のご教示をいただいた第2内科馬場茂明教授，麻酔科岩井誠三教授ならびに当教室の大柳治正博士，関田幹雄博士に哀心より感謝する．

本論文の要旨は第6回および第7回日本消化器外科総会，第10回胆道疾患研究会，第13回術後代謝研究会において発表した．

文　献

1) Stern, H.: Arch. exp. Pathol. Pharmakol., **19**: 39, 1885.（亀田治男：医学のあゆみ，86：478—483，1973．より引用）
2) Minkowski, O. and Naunyn, B.: Beiträge zur Pathologie der Leber und Ikterus. Arch. exp. Pathol. Pharmakol., **21**: 1—33, 1886. 大野章三：肝障害のない黄疸はない．永井書店，大阪，1954．より引用．
3) Eppinger, H.: Die Leverkrankheiten. Springer, Vienna., 1937. 亀田治男：医学のあゆみ，86：478—483，1937．より引用．
4) Novikoff, A.B. and Essner, E.: The liver cell. Some new approaches to its study. Amer. J. Med., **29**: 102—131, 1960.
5) Orlandi, F.: Electron microscopic observation on human liver during cholestasis. Acta Hepatosplen., (Stuttag) **9**: 155—166, 1962.
6) 谷川久一：電顕よりみた抱合ビリルビンの成因．日本臨床，**30**：1859—1864，1972．
7) 大野章三：黄疸発生一元論．南江堂，東京，1973．
8r Chou, S.T. and Gibson, J.B.: A histochemical study of the bile ducts in long term bilialy obstruction in the rat. J. Pathol., **103**: 163—175, 1971.
9) Schaffner, F., et al.: Mechanism of cholestasis. Gastroenterology, **60**: 888—897, 1971.
10) Ozawa, K., et al.: Role of portal blood on the enhancement of liver mitochondrial metabolism. Amer. J. Surg., **124**: 16—20, 1972.
11) 佐藤寿雄，小山研二：閉塞性黄疸の病態生理，肝障害を中心として．外科，**36**：426—433，1973．
12) 山岡義生他：ミトコンドリア機能からみた閉塞性黄疸．医学のあゆみ，**86**：499—503，1973．
13) Fleishner, G. and Arias, I.M.: Recent advances in Bilirubin formation, transport, metabolism and excretion. Amer. J. Med., **49**: 576—589, 1970.
14) Levi, A.J., et al.: Two hepatic cytoplasmic proteins, Y and Z, and their possible role in the hepatic uptake of bilirubin, sulfobromphthalein and other animals. J. Clin. Invest., **48**: 2156—2167, 1969.
15) Reyes, H., et al.: Studies of Y and Z, Two hepatic cytoplasmic organic anion-binding proteins: Effect of drugs, chemicals, hormones, and cholestasis. J. Clin. Invest., **48**: 2156—2167, 1969.
16) Kamisaka, K., et al.: Interactions of bilirubin and other ligand with ligandin. Biochemistry, **14**: 2175—2179, 1975.
17) 大柳治正他：肝障害と高カロリー輸液．総合臨床，**25**：1325—1330，1976．
18) 松尾靖司：閉塞性黄疸肝における核酸代謝について．肝臓，**14**：442—453，1973．
19) 小沢和恵：肝障害一肝代償性からみた肝の機能的予備力の把握．外科，**36**：1092—1098，1974．
20) Whittemore, A.D., et al.: Hepatic regeneration in the absence of portal viscera. Surgery, **77**: 419—426, 1975.
21) 大柳治正他：閉塞性黄疸の病態生理と手術時期についての検討．日消外会誌，**8**：211—219，1975．
22) 小山研二他：閉塞性黄疸解除後の肝の病態について．日外会誌，**76**：1052—1054，1975．
23) Malloy, H.T. and Evelyn, K.A.: Deter-

mination of bilirubin with photoelectric colorimeter. J. Biol. Chem., **119**: 481—490, 1937.

24) Hogeboom, G.H., et al.: Cytochemical studies of mammalian tissues. J. Biol. Chem., **172**: 619—635, 1948.

25) Van Roy, F.P. and Heirwegh, K.P.M.: Determination of bilirubin glucuronide and assay of glucuronyl-transferase with bilirubin as acceptor. Biochem. J., **107**: 507—518, 1968.

26) Strominger, J.L., et al.: Determination of UDPG and UTP by means of UDPG dehydrogenase. Methods in Enzymology, Academic Press, New York, **3**: 974—976, 1957.

27) Brown, R.W. and Grisolla, S.: Ornithine transcarbamylase activity in serum. J. Lab. Clin. Med., **54**: 617—620, 1959.

28) Schimke, R.T.: Adaptive characteristics of urea cycle enzymes in the rat. J. Biol. Chem., **237**: 459—468, 1962.

29) Gigon, P.L., et al.: Studies on the rate of reduction of hepatic microsomal cytochrome P450 by reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate: Effect of drug substrates. Mol. Pharmacol., **5**: 109—112, 1969.

30) Omura, T., et al.: Isolation from adrenal cortex of a nonhem iron protein and a flavoptotein functional as a reduced triphosphopyridine nucleotide-cytochrome P450 reductase. Arch. Biochem. Biophys., **117**: 660—673, 1966.

31) Guarino, A.M., et al.: Changes in Michaelis and spectral constants for aniline in hepatic microsomes from phenobarbital-treated rats. Mol. Pharmacol., **5**: 131—136, 1969.

32) Orrenius, S., et al.: Inhibition of the TPNH-linked lipid peroxidation of liver microsomes by drugs undergoing oxidative demethylation. Biochem. Biophys. Res. Com., **14**: 329—334, 1964.

33) Lowry, O.H., et al.: Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., **193**: 265—275, 1951.

34) Olson, J.A. and Anfinsen, C.B.: The crystalization and characterization of L-glutamic dehydrogenase. J. Biol. Chem., **197**: 67—80, 1952.

35) 大柳治正 他：閉塞性黄疸の病態生理と新しいparameterについて．日外会誌，75：1175—1177, 1974.

36) Wada, H., et al.: A simple method for the differential determination of serum GOT-isozymes and its application to clinical diagnosis. J. Clin. Invest. (to be published).

37) Schmidt, G. and Thannhauser, S.J.: A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phosphoproteins in animal tissues. J. Biol. Chem., **161**: 83—89, 1945.

33) Giles, K.W. and Myers, A.: An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. Nature, **206**: 93, 1965.

39) Brown, A.H.: Determination of pentose in the presence of large quantitives of glucose. Arch. Biochem., **11**: 269—278, 1946.

40) Eker, P.J.: Activities of thymidine kinase and thymidine deoxyribonucleotide phosphatase during growth of cells. J. Biol. Chem., **240**: 2607, 1965.

41) Lacy, P.E. and Kostianovsky, M.: Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. Diabetes, **16**: 33—39, 1967.

42) Lamprecht, W. and Trautschold, I.: Determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. Method of Enzymatic Analysis, Academic press, New York and London, 543—551, 1963.

43) Adam, H.: Adenosine-5′-diphosphate and adenosine-5′-monophosphate. Method of Exzymatic Analysis, Academic Press, New York and London, 573—577, 1963.

44) Atkinson, D.E. and Walton, G.M.: Adenosine triphosphate conversion in metabolic regulation. J. Biol. Chem., **242**: 3239—3241, 1967.

45) Van den Berg, A.A.H. and Muller, P.: Über eine direkte und indirekte Diazoreation auf Bilirubin. Biochem. Z., **77**: 90—103, 1916.

46) 浪久利彦：肝細胞におけるビリルビンなどの色素移送機構．日本臨床，30：1894—1854, 1972.

47) Yamaguchi, T.: Inhibition of glutamate dehydrogenase by bilirubin. J. Biochem., **68**: 441—447, 1970.

48) 小林茂保，田川邦夫：ミトコンドリア呼吸系の阻害剤．蛋白質・核酸・酵素，10：1596—1609, 1965.