

原 著

肝ミトコンドリア機能よりみた黄疸軽減術後の 脂肪乳剤投与の是非

京都大学第1外科

中 谷 寿 男 武 田 博 士
小 沢 和 恵 戸 部 隆 吉

THE EFFECT OF FAT EMULSION ON HEPATIC MITOCHONDRIAL ENERGY STATUS AFTER DECOMPRESSION OF BILIARY TRACT OBSTRUCTION

Toshio NAKATANI, Hiroshi TAKEDA, Kazue OZAWA and Takayoshi TOBE

First Department of Surgery, Kyoto University Medical School

黄疸軽減術後の脂肪乳剤投与の是非について、実験動物を用いて検討した。家兔に閉塞性黄疸を作成した後、これを解除し、脂肪乳剤を負荷した。耐糖能曲線が linear pattern を示す肝機能予備力の不十分な時期には、脂肪乳剤負荷によって Energy Charge は低下し、肝ミトコンドリアの酸化還元状態を反映する動脈血中ケトン体比は低下して、電子伝達系が抑制されていることを示し、脂肪乳剤投与は禁忌と考えられた。一方、parabolic pattern を示す肝機能予備力の回復した時期では、ミトコンドリアはやはり還元状態に傾いたが、Energy Charge の上昇に照らして、これは β 酸化の亢進によるものと考えられ、脂肪乳剤が良く利用されていることを示した。

索引用語：黄疸軽減術，脂肪乳剤，肝機能予備力，血中ケトン体比，耐糖能曲線

I. はじめに

1968年 Dudrick が中心静脈栄養法 (Total Parenteral Nutrition) (以下 TPN) を提唱して以来、TPN は急速に普及し、わが国においても術前術後管理において重要な役割を担うに至っている¹⁾。TPN を高張糖液とアミノ酸製剤のみで維持した場合には高浸透圧、カロリー不足、必須脂肪酸欠乏などの問題が生じてくる²⁾。これらを解決するために脂肪乳剤の投与が望まれる症例が多い³⁾。一方、TPN の手技、管理上の進歩改良に伴って適応は拡大され、種々の代謝障害症例に対しても TPN が行われつつある。消化器外科領域においては肝障害を有する症例に対して TPN が行われることも多く、これらに対する脂肪乳剤投与の是非に関しては以前より多くの議論のなされているところである。今回は肝障害のうちでも、脂肪の代謝と関係の深い閉塞性黄疸のみをとりあげた。閉塞性黄疸の進行増悪中には脂肪乳剤投与は控

えるべきであり、この点に関しては異論の少ないところと思われる⁴⁾。そこで、黄疸軽減術後の脂肪乳剤投与の是非について、とくに投与開始時期について、脂肪酸化の行われる場である肝ミトコンドリアにおける energy status の面より検討してみた。

II. 実験方法

体重2kg 前後の白色家兔を術前2週間にわたって配合飼料 (クレア CR-2) と水で運動を拘束せず飼育した。実験スケジュールは図1に示した。術前夜より絶食とし、術当日は午前中に静脈麻酔下 (Isozol[®] 15mg/kg) にて開腹し、総胆管は膵管損傷をさけるために十二指腸合流部より1cm 肝側で二重に結紮し (総胆管結紮 Bile duct ligation. 以下 BDL と略す)、同時に胆のう管も結紮して黄疸の発生を確実にした。術後は餌を自由に摂取させた。術後48時間目に再び浅い静脈麻酔下 (Isozol[®] 10mg/kg) に開腹し、黄疸肝、総胆管拡張を確認したの

図1 Schedule of operation and infusion

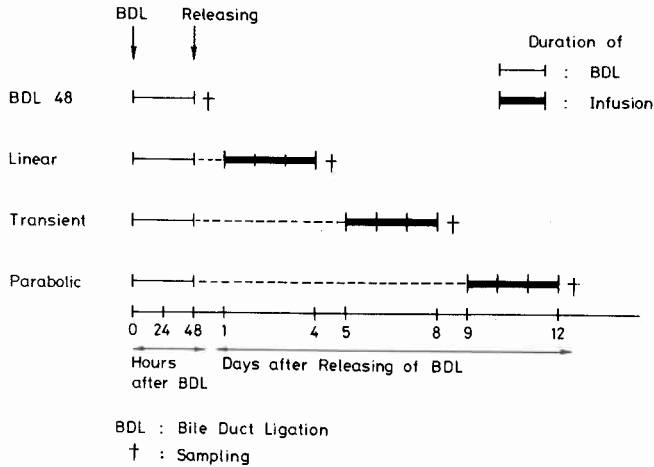
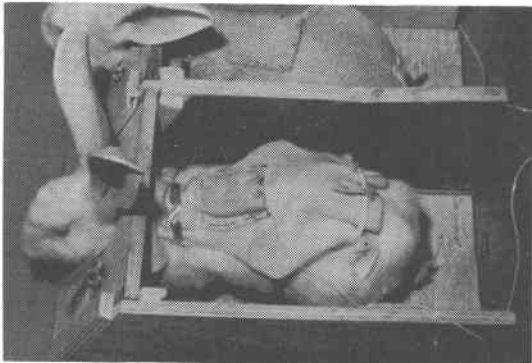


図2



ち結紮糸を切断解除して胆道減圧をはかり、胆汁の十二指腸への再流入を確認したのち閉腹した。この際、後に述べる減圧後第1日目よりの脂肪乳剤投与群では同時に外頸静脈をへて上大静脈にまでカテーテルを留置した。減圧後5日目あるいは9日目より脂肪乳剤を投与した群ではおのおのその前日に(すなわち減圧後4日目あるいは8日目に)、3度目の静脈麻酔下に外頸静脈をへて上大静脈にまでカテーテルを留置した。術後は餌を自由に与え、減黄後1, 5あるいは9日目より体重 1kg 当り 20ml の脂肪乳剤 (Intralipid®) を infusion pump を用いてさきに留置したカテーテルを経て略 11ml/h のスピードで3日間にわたって間歇的に昼間のみ投与し、注入終了後翌日の注入まではヘパリン加生食をカテーテル内に充たし、そのカテーテルは図2のごとく家兔に着せた服内に固定し、運動は拘束せず、この間も餌を自由に

与えた。3日目の脂肪注入終了後、当夜は絶食とし翌朝 1/10日量 (2ml/kg) の脂肪乳剤を one shot で負荷し、3時間後に屠殺し、動脈血および肝組織を採取した。なお対象としては脂肪乳剤のかわりに生理食塩水を注入した。

経口糖負荷試験 (0-GTT) の実施に際しては、前夜より兎を15時間絶食とし、体重 1kg 当り 2g のブドウ糖を50%溶液として胃管を経て胃内へ注入し、その後2時間目までは15分毎、その後の2時間は30分毎に血糖値測定のために耳静脈より採血した。

肝組織中の Adenine nucleotides の測定のため、液体窒素素にて-190°Cに冷したステンレス製のこてにて肝組織を in situ のままではさみ取り、液体窒素浴中にて粉碎し、その 1g に対し、10⁻²M-EDTA を含む5%過塩素酸溶液 (PCA) 3ml を加えて homogenize し、これを 0~4°C 10,000g にて15分遠沈した。その上清を69% K₂CO₃ にて pH 5.5~6.0 に中和し、再遠沈してその上清を adenine nucleotides の測定に用いた。Energy Charge は

$$\text{Energy Charge} = \frac{\text{ATP} + \frac{1}{2} \text{ADP}}{\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP}}$$

の式によった⁹⁾。動脈血中ケトン体の測定には、4ml の動脈血を採取後、ただちに同量の6% PCA と混合、十分に攪拌後 0~4°C 10,000g にて15分間遠沈し、その上清を69% K₂CO₃ にて pH 5.5~6.0 に中和し、再遠沈してその上清をケトン体 (acetoacetate と β-hydroxybutyrate) の測定に用いた。

Adenine nucleotides⁹⁾ 及びケトン体⁹⁾の測定は酵素

学的方法により、血糖はオルソトルイジン法¹⁰⁾によりそれぞれ分光々度計を用いて測定した。

おのおの結果は means±SEM で示し、有意性の検定は student's test にて行った。

III. 成績

閉塞性黄疸の進行増悪中に施行した o-GTT pattern を図3に示した。閉塞性黄疸作成12時間後には、糖負荷前の低血糖と、その後も血糖値の上昇しない plateau pattern を示すが、胆管結紮24時間後においては糖負荷

図3 o-GTT pattern after bile duct ligation

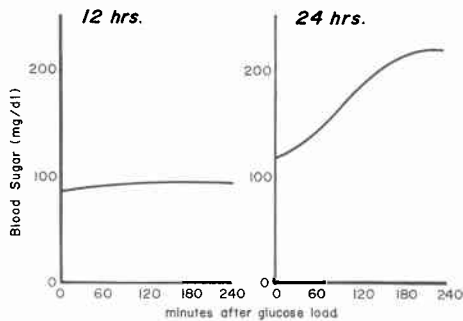
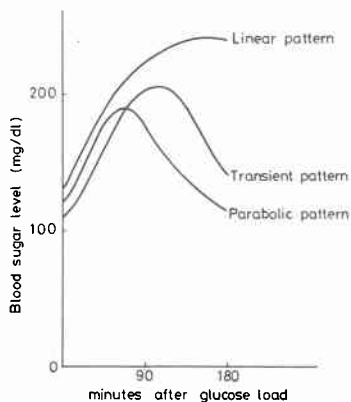


図4 o-GTT pattern after decompression of BDL



後上昇した血糖値が、3時間を経ても正常値へ向って減少する傾向なく直線的に増加する linear pattern を示した。次に術後48時間目に閉塞性黄疸を解除し、その後1, 5あるいは9日目に施行した 0-GTT pattern を図4に示した。胆道減圧術の翌日の 0-GTT では linear pattern を示して、肝機能予備力は不十分であると考えられた。9日目には 0-GTT pattern は糖負荷後3時間目には血糖値が正常に近い値にまで回復する parabolic pattern を示し、肝の機能的予備力が十分に回復してい

ることを示した。両者の中間の5日目においては、糖負荷後の血糖値は一時的に 200mg/dl を超えたが、その後正常値へ向っての回復を示している。血糖値のピークは parabolic pattern にくらべると遅くあらわれる。これは linear pattern から parabolic pattern への移行期にあることから transient pattern と便宜上名付け、血糖値のピークが糖負荷後90分より後半にあることで parabolic pattern と区別した。

このように胆道減圧術後1, 5および9日目にはそれぞれ linear, transient, parabolic pattern を示したので実験の便宜上、図1に示したごとく、1, 5および9日目よりの3日間をそれぞれ 0-GTT pattern に応じて linear, transient, および parabolic stage と名付けた(以下各々 L, T, & P stage と略す)。

図1に示したごときスケジュールで各々の stage に三日間脂肪乳剤を注入し、その翌日 sampling したわけであるが、これらの操作中の兎の stage 別の死亡率を表1に示した。閉塞性黄疸増悪中の胆道結紮後48時間以内、および Linear stage においては高い死亡率を示しているが、Parabolic stage には死亡率は0となった。この表において各 stage の個体数に大きな違いがあるのは、例えば parabolic stage まで生き続けた兎は、それ以前の各 stage を生き抜いて来た訳であるから、これらの各 stage の生存個数に含めているためである。

表1 Mortality rate in each stage

stage	mortality rate
B.D.L. 48h.	35% (28/80)
Linear	32% (14/44)
Transient	21% (4/19)
Parabolic	0% (0/7)

これらの各 stage における脂肪乳剤注入後の肝組織における adenine nucleotide 量と、それより算出した Energy charge の変化を表2に示した。正常家兎では Energy Charge は0.87程度を示しているが、これに総胆管結紮を行い、閉塞性黄疸を発生させてから48時間後には ATP は減少し ($p < 0.05$), energy charge は0.805にまで低下した ($p < 0.05$)。総胆管結紮48時間後に結紮を解除し、その後の L stage に生食を注入した群では、ATP は増加し energy charge は0.829にまで回復した。一方、この L stage に脂肪乳剤を投与した群では生食投与群に対し、表に示したごとき有意差をもって ATP は減少して energy charge は0.746にまで低下した。こ

表2 Hepatic adenine nucleotides ($\mu\text{mol}/\text{gr}$ wet liver)

Stage	infusion	n	ATP	ADP	AMP	T.A.N.	Energy Charge
Normal	(-)	7	2.872 \pm 0.241	0.621 \pm 0.073	0.150 \pm 0.025	3.643 \pm 0.234	0.871 \pm 0.018
B.D.L.48	(-)	7	2.029 \pm 0.105	0.809 \pm 0.128	0.206 \pm 0.037	3.044 \pm 0.215	0.805 \pm 0.020
Linear	fat em.	6	1.725 \pm 0.232 ^{ps}	0.903 \pm 0.078 ^{pm}	0.267 \pm 0.063 ^{ps}	2.895 \pm 0.161 ^{ps}	0.746 \pm 0.043 ^{ps}
	saline	5	2.536 \pm 0.084	0.849 \pm 0.059	0.186 \pm 0.019	3.571 \pm 0.125	0.829 \pm 0.009
Transient	fat em.	5	2.375 \pm 0.171 ⁿ	0.756 \pm 0.067 ⁿ	0.168 \pm 0.028 ⁿ	3.299 \pm 0.154 ⁿ	0.834 \pm 0.019 ⁿ
	saline	3	2.527 \pm 0.148	0.819 \pm 0.046	0.186 \pm 0.046	3.532 \pm 0.090	0.831 \pm 0.021
Parabolic	fat em	4	2.727 \pm 0.233 ⁿ	0.636 \pm 0.094 ⁿ	0.151 \pm 0.018 ⁿ	3.514 \pm 0.329 ⁿ	0.868 \pm 0.010 ⁿ
	saline	3	2.511 \pm 0.315	0.625 \pm 0.060	0.160 \pm 0.036	3.336 \pm 0.323	0.857 \pm 0.021

Values given are means \pm SEM

fat em: fat emulsion

T.A.N.: total adenine nucleotides

t ($p < 0.01$), t' ($0.01 < p < 0.02$): compared with the T stagep ($p < 0.01$): compared with the P stages ($p < 0.01$), s' ($0.01 < p < 0.02$): compared with the saline infused group

n: not significant compared with the saline infused group

表3 Ketone body concentrations in arterial blood ($\mu\text{mol}/\text{ml}$)

Stage	infusion	n	AcAc/ β -OHB	AcAc+ β -OHB
Normal	(-)	23	0.932 \pm 0.087	79 \pm 7
B.D.L.48	(-)	7	0.738 \pm 0.132	141 \pm 35
Linear	fat em.	6	0.642 \pm 0.136 ^a	121 \pm 16
	saline	5	1.013 \pm 0.074	106 \pm 20
Transient	fat em.	5	0.946 \pm 0.332 ^b	115 \pm 18
	saline	2	0.628 \pm 0.217	125 \pm 11
Parabolic	fat em.	4	0.621 \pm 0.172 ^b	89 \pm 26
	saline	3	0.788 \pm 0.111	71 \pm 10

Values given are means \pm SEM

AcAc: acetoacetate

 β -OHB: β -hydroxybutyratea: $p < 0.01$ compared with the saline infused group

b: not significant compared with the saline infused group

れは閉塞性黄疸解除時よりさらに低い値であった。T stage に入って生食を注入した群では energy charge は 0.831にまで回復し、また、この stage に脂肪乳剤を注入した群でも、表に示したごとく各 adenine nucleotide および energy charge において、同じ stage における生食投与群との間に有意差はみられなかった。P stage に入ってから生食を注入した群では energy charge は 0.857にまで回復した。またこの stage に脂肪乳剤を注入した群でも各 adenine nucleotide および energy charge において、生食投与群との間に有意差がないのみならず、正常群との間にも有意差は認められなかった。

実験終了時に採取した動脈血中のケトン体について、ケトン体比 (acetoacetate/ β -hydroxybutyrate), およびケ

トン体総量 (acetoacetate+ β -hydrobutyrate) を表3に示した。総胆管結紮後48時間目にケトン体比は0.738にまで低下傾向を示し (not significant) ケトン体総量は 0.085 $\mu\text{mole}/\text{ml}$ から 0.141 $\mu\text{mole}/\text{ml}$ にまで増加した ($p < 0.05$)。胆道減圧後、生食を注入した群では、いずれの stage においてもケトン体比は正常群と有意差はなかったが、脂肪乳剤投与群のケトン体比は L stage において生食投与群より低く ($p < 0.05$)、T stage および P stage では両群に有意差はないものの、P stage では生食投与群に比して低い傾向を示した。ケトン体総量は BDL 48 群、L および T stage で生食投与群、脂肪乳剤投与群共に、正常より高値を示したが P stage では両群共に正常群と有意差はなかった。またケトン体総量は各 stage 共に、生食投与群と脂肪乳剤投与群の間には有意差はみられなかった。

図5, 6, 7はおのおの、サンプリング時の血漿中のコリンエステラーゼ活性、総コレステロール、 β リポ蛋白を測定したものである。図5のごとくコリンエステラーゼ活性は BDL 48時間後には0.31 ΔpH にまで低下した。胆道減圧後、生食投与群ではコリンエステラーゼ活性は、L stage において既に正常と有意差のない値にまで回復しているが、脂肪乳剤投与群ではLおよび T stage ではまだ活性は低く、正常への回復が遅れている。図6の総コレステロール値では、胆汁うっ滞に伴って BDL 48時間後には総コレステロール値は高値を示したものの、生食投与群では急速に回復し、T stage には既に正常値にまで回復したが、脂肪乳剤投与群では正常値

図5 Changes of plasma cholinesterase activity

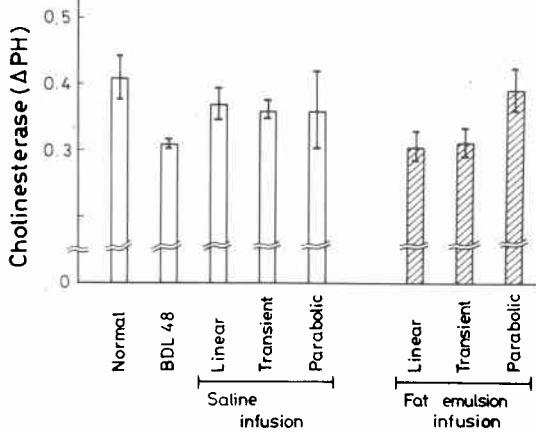


図7 Changes of plasma β-lipoprotein level

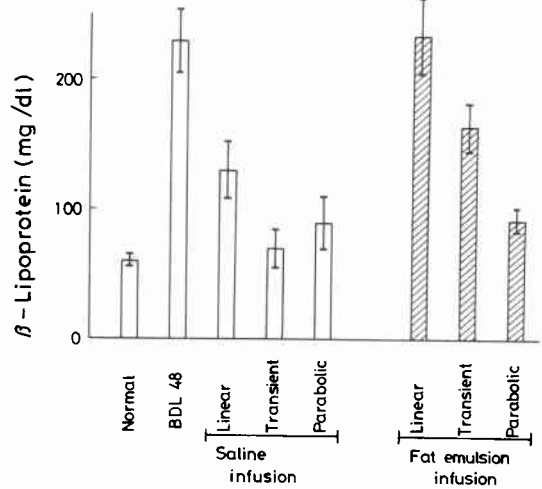
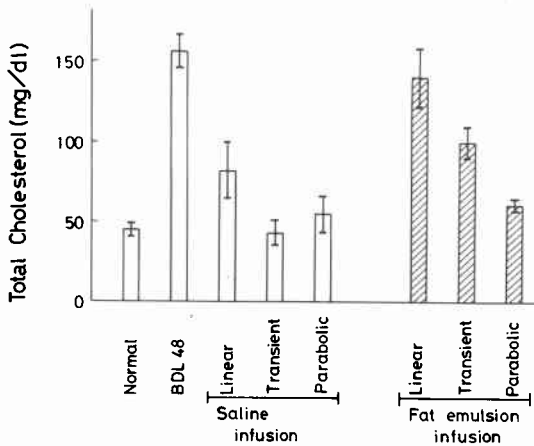


図6 Changes of plasma total cholesterol level



への回復が遅れている。βリポ蛋白はその構成成分としてコレステロールを50%含んでいるため、図7に示したごとく、図6の総コレステロール値とほぼ同じ傾向を示し、脂肪乳剤投与群では正常値への回復が大きく遅れている。

IV. 考 察

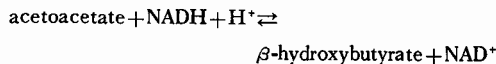
肝障害のある症例において術前、術中、術後を通じての管理上、肝の機能的予備力を把握することはきわめて重要である¹¹⁾¹²⁾。当教室においては従来より肝の機能的予備力を把握するために、術前には0-GTT pattern¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾、術中は肝 Cytochrome a 量¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾、術後には動脈血中ケトン体比²⁰⁾²¹⁾を指標として提唱し、臨床これらが適確に肝の機能的予備力を反映する事を報告して来

た²²⁾。血中ビリルビン値については、臨床例においても肝機能予備力を反映する指標としては不十分で、0-GTT pattern との間には解離がみられる²³⁾。家兎においては胆道減圧後48~72時間後には既にビリルビン値は正常に復するのに対し、この時期にはまだ肝の機能的予備力は不十分であり、両者の間の解離はさらに大きい。そこで、今回は0-GTT pattern によって胆道減圧後の肝の機能的予備力を時期分類し、各時期における脂肪乳剤投与が肝の adenine nucleotides やミトコンドリアの redox state に及ぼす影響を検討して、脂肪乳剤投与の是非を論じた。家兎に閉塞性黄疸を作成して0-GTT を施行すると、術後12時間目には一過性にミトコンドリアの機能亢進が起こるため、糖の利用能が高まり、0-GTT pattern は糖負荷前の低血糖と、その後も血糖値がほとんど上昇しない plateau pattern となった。24時間後にはミトコンドリアの機能低下と共に linear pattern に転じており、肝の機能的予備力が低下したことを示している。閉塞性黄疸作成後48時間目に胆道結紮を解除して胆道の減圧をはかったわけであるが、この時点ではさらに肝の機能的予備力が低下していると考えられ、0-GTT では当然 linear pattern になっているものと考えられる。

胆道減圧後1日目には0-GTT は linear pattern を示し、したがって L stage においては肝の機能的予備力は低下していると考えられ、一方、9日目の0-GTT では parabolic pattern を示すため、P stage においては肝の機能的予備力は十分に回復しているものと考えられ、これは表1の死亡率にも反映されている。L stage

において生食を注入した群では、胆道減圧時よりも energy charge は高く、L stage といえども肝の機能的予備力は回復しつつあることを示しているが、この時期にはまだ肝の機能的予備力が不十分であるため、この時期に脂肪乳剤を投与すると、ATP, energy charge の減少がみられ、脂肪乳剤投与によってエネルギー産生反応よりもエネルギーの消費反応が優勢になることを示した。T および P stage に入ると生食群と脂肪乳剤群の間に各 adenine nucleotide とともに差はなく、P stage では正常値とも差がなく、energy charge においては、むしろ脂肪乳剤投与群の方が高値を示す傾向もみられ、肝の機能的予備力が十分に回復した P stage では脂肪乳剤は有効に利用されているものと考えられた。

さて、肝ミトコンドリアにおけるエネルギー産生は酸化的磷酸化によっているわけであるが、ミトコンドリアの酸化還元状態がエネルギーの産生、および細胞内のエネルギー代謝に密接に関係することが明らかにされている^{20) 24) 25)}。この酸化還元状態、すなわち NAD system の redox state は、free NAD⁺/NADH であらわされる。一方、acetoacetate と β -hydroxybutyrate はそのほとんどが肝において生成され、肝組織中のこれらのケトン体は肝のミトコンドリア内膜に局在する酵素 β -hydroxybutyrate dehydrogenase により触媒される次の式のごとく平衡関係にある



したがってこの反応の平衡定数を K とすれば

$$\frac{\text{NAD}^+}{\text{NADH}} = \frac{\text{acetoacetate}}{\beta\text{-hydroxybutyrate}} \times \frac{1}{K}$$

の関係が成り立つため、肝組織中のケトン体比は肝ミトコンドリア分画の redox state に比例することが従来より明らかにされている²⁶⁾。ところで、これらのケトン体は肝でのみ生成され、さらに肝細胞膜を自由に通過して血中であらわれてくるため、脳、心、腎などの末梢組織において消費されることの少ない動脈血中においては、これらのケトン体比の変化は肝組織中のケトン体比の変化を反映すると考えられる。従って動脈血中のケトン体比を測定する事によって肝ミトコンドリアの free NAD⁺/NADH 比の動きを知ることができ、またミトコンドリアの free NAD⁺/NADH 比は酸化的磷酸化に密接に関係することから、動脈血中ケトン体比によって肝の energy charge を推測することが可能と考えられた²⁷⁾。実験的に作成した肝障害モデルにおいても、閉塞性黄

疸をはじめ、出血性ショック²⁷⁾や肝切除後の残存肝においても²¹⁾高い相関係数をもって、動脈血中ケトン体比と energy charge が相関することが報告された²²⁾。また一方、ミトコンドリアの free NAD⁺/NADH 比は脂肪酸の β 酸化が亢進している場合に、過剰の NADH のために還元状態に傾くことが明らかにされており²⁸⁾、動脈血中ケトン体比は低下してくる。L stage に脂肪乳剤を投与した群では動脈血中ケトン体比が有意に低下しているが、これは energy charge が低下している事実からも、ミトコンドリアの機能障害のために電子伝達系が順調に働かなくなったことを反映しているものと解釈できる。肝の機能的予備力が十分に回復した P stage においても、脂肪乳剤投与群では生食投与群にくらべてケトン体比が低下する傾向が認められた。しかし、このケトン体比の低下は、正常値にまで回復した energy charge に照らして考えると、脂肪酸化の亢進を示しているものと解釈される。これらの事実からも L stage における脂肪乳剤投与は禁忌であると考えられるが、P stage に入ると脂肪乳剤は十分利用されると考えられる。また表3のケトン体総量 (acetoacetate + β -hydroxybutyrate) は、脂肪酸化の結果亢進する Ketogenesis を現わしているわけであるが、脂肪乳剤が有効に利用されていないと考えられる stage においてケトン体総量が増加し、P stage においてむしろ減少しており、この点についてはさらに検討を要するが、肝機能予備力の不十分な stage においては電子伝達と酸化的磷酸化の共軛が loose coupling の状態にあるためではないかと考えられる。

閉塞性黄疸においてビリルビンがミトコンドリアに与える影響としては、ビリルビンが電子伝達と酸化的磷酸化の間の uncoupler であること、ビリルビンが cytochrome oxidase, succinate oxidase, NADH oxidase を阻害することによって電子伝達を阻害する、すなわちミトコンドリアの呼吸を阻害すること、さらにビリルビンは細胞膜の脂質に結合してミトコンドリアの膜透過性に変化を来し、その結果、イオンがエネルギーを消費してミトコンドリア内に入り、これに伴って浸透圧によって水もミトコンドリア内に移動するため、非可逆的な swelling をきたすこと、などが考えられる^{29) 30)}。

コリンエステラーゼ活性、総コレステロール、 β -リポ蛋白値の各 stage における脂肪乳剤投与による影響を図6, 7, 8に示したが、これらはいずれも、L stage において脂肪乳剤を投与することによって、閉塞性黄疸によって生じた異常値が正常範囲へ回復するのが遅れる

ことを示しており、また P stage に入ってから脂肪乳剤を投与してもこれらの値に影響が出ないことから、L stage における脂肪乳剤投与が禁忌であり、P stage に入れば脂肪乳剤投与も可能であることを支持している。したがって黄疸軽減術後、コリンエステラーゼ活性、総コレステロール値および β -リポ蛋白値が正常値に回復した場合には脂肪乳剤投与が可能であろうと考えられ、これらの値を脂肪乳剤投与の是非を判定する指標として採用することも可能であろうと考えられる。

V. 結 論

以上の結論として黄疸軽減術後の脂肪乳剤投与の是非について、0-GTT pattern により肝の機能的予備力を判定して、次のように分類することが可能であると考えられる。

黄疸軽減術後の経口糖負荷試験において

1) Linear pattern を示す場合には、脂肪乳剤投与は禁忌と考えられる。

2) Transient pattern を示す場合には、必須脂肪酸欠乏等、脂肪乳剤投与が望ましい場合に限って、投与量は控え目に投与すべきである。(具体的には10%脂肪乳剤であれば、500ml を週1回、あるいは200ml を週2、3回投与することで必須脂肪酸欠乏は防ぐことができる。)

3) Parabolic pattern を示す場合には、肝の機能的予備力は十分に回復しており、脂肪乳剤は効率のよい燃料として十分に利用され得るものと考えられる。

文 献

- 1) Dudrick, S.J., et al.: Long-term total parenteral nutrition with growth, development, and positive nitrogen balance. *Surgery*, **64**: 134—142, 1968.
- 2) Fleming, C.R., et al.: Essential fatty acid deficiency in adults receiving total parenteral nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **29**: 976—983, 1976.
- 3) Goodgame, J.T., et al.: Essential fatty acid deficiency in total parenteral nutrition: Time course of development and suggestions for therapy. *Surgery*, **84**: 271—277, 1978.
- 4) 中谷寿男, 他: Hyperalimentation における三大栄養素の代謝利用能を示す指標について. *新薬と臨床*, **26**: 1717—1725, 1977.
- 5) Atkinson, D.E.: Enzymes as control elements in metabolic regulation. in Boyer, P.D. (edited): *The enzymes*. Academic Press, New York, 1970. pp461—489.
- 6) Jaworek, D., et al.: Adenosine-5'-diphosphate

and Adenosine-5'-Monophosphate. in Bergmeyer, H.U. (edited): *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press, New York, 1974. pp 2127—2131.

- 7) Lamprecht, W., et al.: Adenosine-5'-triphosphate, Determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. in Bergmeyer H.U. (edited): *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press, New York, 1974. pp2101—2109.
- 8) Mellanby, J., et al.: Acetoacetate. in Bergmeyer H.U. (edited): *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press, New York, 1974. pp1840—1843.
- 9) Williamson, D.H., et al.: D-(-)-3-Hydroxybutyrate. in Bergmeyer H.U. (edited): *Methods in enzymatic analysis*. Academic Press, New York, 1974. pp1836—1839.
- 10) Hultman, E.: Rapid specific method for determination of aldolaccharide in body fluids. *Nature*, **183**: 108—109, 1959.
- 11) 小沢和恵: 肝障害—肝の代償性からみた肝の機能的予備力の把握—。外科, **36**: 1092—1098, 1974.
- 12) 小沢和恵, 他: 肝障害とくに黄疸者における肝の機能的予備力の把握. 手術, **29**: 411—420, 1975.
- 13) 高三秀成, 他: 糖負荷試験からみた手術適応および治療へのアプローチ. 手術, **30**: 1185—1196, 1976.
- 14) Yamada, T., et al.: Two distinct patterns of glucose intolerance in icteric rats and rabbits. Relationship to impaired liver mitochondria function. *J. Lab. Clin. Med.*, **86**: 38—45, 1975.
- 15) Ozawa, K., et al.: Significance of glucose tolerance as prognostic sign in hepatectomized patients. *Am. J. Surg.*, **131**: 541—546, 1976.
- 16) Ozawa, K., et al.: Control of phosphorylative activity in human liver mitochondria through changes in respiratory enzyme contents. *Clin. Sci. Mol. Med.*, **48**: 75—82, 1975.
- 17) Ozawa, K., et al.: Clinical application of cytochrome a (+a₃) assays of mitochondria from liver specimens. *Ann. Surg.*, **180**: 868—876, 1974.
- 18) Yamaoka, Y., et al.: Clinical application of cytochrome A assay of liver specimens for operative indication in critically ill patients with liver failure. *Bulletin de la Société Internationale de Chirurgie*, **3**: 221—228, 1974.
- 19) Ozawa, K., et al.: Relation of phosphorylative capacity of liver mitochondria to cytochrome a (a₃) content. *Am. J. Surg.*, **127**: 306—309, 1974.

- 20) Tanaka, J., et al.: Significance of blood ketone body ratio as an indicator of hepatic cellular energy status in jaundiced rabbits. *Gastroenterology*, **76**: 691—696, 1979.
 - 21) Ukikusa, M., et al.: Biological significance of changes in blood ketone body ratio after major hepatic resection. *Arch. Surg.* in press.
 - 22) 小沢和恵, 他: 代謝動態からみた肝切除の適応決定. *日消外会誌*, **13**: 84—89, 1980.
 - 23) Ozawa, K., et al.: Glucose tolerance predicting surgical risk and survival in patients with pancreatic carcinoma. *Am. J. Surg.* in press.
 - 24) Veech, R.L., et al.: Equilibrium relations between the cytoplasmic adenine nucleotide system and nicotinamide adenine dinucleotide system in rat liver. *Biochem. J.*, **117**: 499—503, 1970.
 - 25) Yamamoto, M., et al.: Significance of acetoacetate/ β -hydroxybutyrate ratio in arterial blood as an indicator of the severity of hemorrhagic shock. *J. Surg. Res.* in press.
 - 26) Williamson, D.H., et al.: The redox state of free nicotinamide adenine dinucleotide in the cytoplasm and mitochondria of rat liver. *Biochem. J.*, **103**: 514—526, 1967.
 - 27) 山本正之, 他: 動脈血ケトン体比の意義. *医学のあゆみ*, **109**: 267—269, 1979.
 - 28) Batenburg, J.J., et al.: Regulation of Pyruvate dehydrogenase by fatty acid in isolated rat liver mitochondria. *J. Biol. Chem.*, **251**: 1364—1370, 1976.
 - 29) Cowger, M.L., et al.: Mechanism of bilirubin toxicity on tissue culture cells: Factors that affect toxicity, reversibility by albumin, and comparison with other respiratory poisons and surfactants. *Biochem. Med.*, **5**: 1—16, 1971.
 - 30) Mustafa, M.G., et al.: Effects of bilirubin on mitochondrial reactions. *J. Biol. Chem.*, **244**: 6403—6414, 1969.
-