

肝再生に関する実験的研究 —閉塞性黄疸解除後の肝切除ラットについて—

名古屋大学医学部外科学第1講座 (指導: 弥政洋太郎教授)

向山 憲 男

EXPERIMENTAL STUDIES ON REGENERATION IN PARTIALLY HEPATECTOMIZED RATS AFTER RELEASE OF OBSTRUCTIVE JAUNDICE

Norio MUKOYAMA

The First Department of Surgery, Nagoya University School of Medicine

(Director: Prof. Yohtarō Iyomasa)

ラットで閉塞性黄疸を作製し、1週間後に減黄、減黄6および24時間後に70%肝切除を行い減黄群とした。無処置ラットを対照群とし、同様の肝切除を行った。H³-thymidineを投与し、DNA合成をラジオオートグラフィで検索した。両群ともDNA合成ピークは肝切除24時間後にみられ、ピーク時の値は減黄群が対照群より有意に低かった。血液生化学値は減黄後24時間で正常域にもどった。黄疸持続2週間で減黄後、肝切除をした群も同様の方法で検索したが、DNA合成は1週間黄疸群に比べ有意に低かった。血液生化学値は黄疸2週間群では減黄後48時間で正常域にもどった。減黄後の切除肝の再生が対照より低いことは臨床でも留意すべきであると考えた。

索引用語: 閉塞性黄疸, 黄疸解除術, 肝切除, 肝再生, 肝予備能

I 緒 言

肝部分切除後、肝の再生肥大が起こることは広く認められていることであり、部分切除後の肝再生に関する実験的研究ははなはだ多い。正常肝では70~80%の切除が可能であり、切除直後の代謝負荷を残留肝の機能的予備能で克服し、一定期間後には旧に復することが確認されている^{1)~8)}。

臨床医学においても、近年、麻酔学、手術手技、手術前後の管理の進歩により、肝切除に起因する直接の障害は克服されつつあり、肝葉切除がより安全に行われるようになってきた^{9)~11)}。一方、閉塞性黄疸患者の手術例では非黄疸患者に比較して手術合併症が多く、手術などの侵襲に対して抵抗力が低下していることが指摘されている¹²⁾¹³⁾。最近では閉塞性黄疸症例に対して Gleen¹⁴⁾, Shaldan¹⁵⁾, Armer¹⁶⁾, 高田¹⁷⁾により報告された経皮経肝胆管ドレナージ法 (以下 PTCD と略す) がとり入れられ、手技、方法、器具等に工夫が加えられた。本法は操

作も簡単で患者への侵襲の少ない胆汁ドレナージ法として確立された。その結果、開腹術前に黄疸が軽減されるようになり、閉塞性黄疸を伴った肝門部癌などに対する広範肝切除の手術成績も向上してきた。しかし機能予備力や再生力に障害のない正常肝の場合と同じ量的切除が病態肝に適應できるか否かは問題である。肝の再生量は切除量によってことになってくるが、同一切除量でも切除時の肝の状態によりことになってくると考えられる。

今回、ドンリュウラットを用い、閉塞性黄疸を作製し、一定期間後に減黄して肝切除を施行した群 (減黄群) と無処置ラットに肝切除を施行した群 (対照群) の肝再生について比較検討した。肝切除後の肝再生の量的な程度を測る指標には細胞分裂、蛋白および RNA 合成または諸種酵素の活性の変化などがある。肝再生はまず DNA 合成、つづいて細胞の分裂と増殖を生じて復旧する。この DNA 合成の状態を検討することは肝の再生状態を知る指標として重要な意義をもつものである¹⁸⁾。肝

切除後の肝再生はその早期に急速な変化がみられるので、減黄群と対照群の間における肝再生力の差をみるには、その早期における比較検討が適当であると考え、肝切除後18~48時間の期間について検討した。肝組織構成の細胞成分には、肝実質細胞、胆管上皮および類洞細胞の3種類があり、肝切除後にはそれぞれ異った細胞増殖パターンを示す⁷⁾。今回は肝実質細胞（以下肝細胞と略す）について検討した。

検討の内容は、閉塞性黄疸の減黄後に約70%肝切除を行った時の残存肝細胞におけるDNA合成細胞の推移およびそれらの細胞の小葉内分布についての H^3 -thymidine（以下TDR- 3H と略す）を用いたラジオオートグラフィ（以下RAGと略す）による検索と血液生化学値の検索である。

II 検索材料および方法

1. 実験動物およびその管理

生後4~5カ月の雄性ドンリュウラット（日本ラットK, Kより購入）を用いた。オリエンタル製固型飼料（MF）を用い、水とともに自由に摂取させた。各ラットは実験に供する前に2カ月間空調室で飼育した。

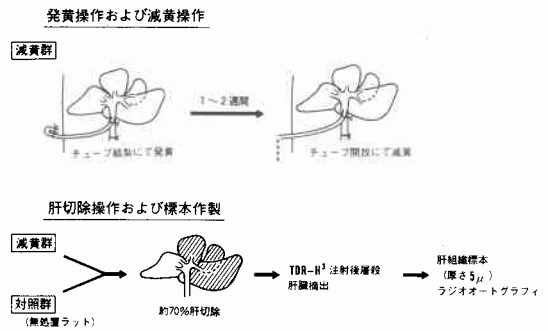
2. 発黄, 減黄操作および肝切除操作

無麻酔下に正中線切開開腹後、左主膵管が総胆管に合流する部より肝側の総胆管に外径1.0mm, 内径0.5mm（八光電機製作所製）のビニール管を挿入、固定した。この操作で胆汁はビニール管を通して排泄される。ビニール管挿入部に近接した十二指腸側総胆管を結紮閉鎖した。他方、腹腔外に誘導した端を結紮して完全閉塞性黄疸を作った。黄疸の成立は毎日テストテープ（ベリンガーマンハイムジャパン K, K 製造, BM テスト Bu）を使用し、尿中ビリルビン値が経時的に上昇すること、尿中ウロビリノーゲン値が証明されないことにより確認した。発黄操作1週間後および2週間後にビニール管の結紮を開放して外胆汁瘻をつくり減黄した。肝部分切除はHiggins-Anderson¹⁾の術式に従って、無麻酔下に前回と同じ手術創を切開開腹後、左葉および中葉をできるだけその根部で親糸結紮し肝を切除した。肝切除は午前9時~11時の間に行い、減黄操作はこれにあわせるよう時間を調整した（図1）。

3. 実験方法

a) 発黄操作後1週間で減黄操作を行い、24時間および6時間後に肝切除を行った。肝切除18時間後、以後6時間毎に48時間までの標本を作製し、それぞれを減黄24時間群、減黄6時間群とした。

図1 各種操作および標本作製

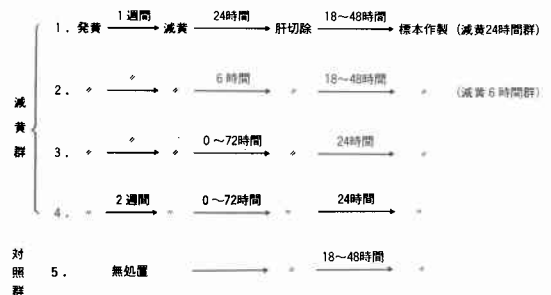


b) 発黄操作後1週間で減黄操作を行い、減黄直後、減黄6, 12, 18, 24, 36, 48, 72時間後に肝切除を行い、肝切除24時間後の標本を作製した。

c) 発黄操作後2週間で減黄操作を行い、減黄直後、減黄24, 48, 72時間後に肝切除を行い、肝切除24時間後の標本を作製した。

d) 対照群として、無処置ラットを用い、減黄群と同様の肝切除を行った（図2）。

図2 実験方法



e) a)~c) で肝切除前に減黄効果をみるため採血を行った。

各群は4~5匹とした。

4. 検索項目

(1) DNA合成細胞

TDR- 3H (Specific Activity: 20~25Ci/mmmole, 1mCi/1ml) を生理食塩水で5倍に稀釈し、体重(1g)あたり、0.2~0.4 μ Ciを大腿静脈より投与した⁷⁾¹⁹⁾²⁰⁾。TDR- 3H 投与2時間後に屠殺し、肝を摘出し、10%ホルマリン固定、パラフィン包埋後、厚さ5 μ の肝組織切片標本を作製した。RAGは標本検体を完全に脱パラフィン後、小西六工業製のNR-M₂感光乳剤を使用し、dippingを行い、7日目、10日目にそれぞれためし現像を行った。

後、14日目で現像、定着後、H-E 後染色を行った。

TDR-³H 取込み陽性細胞 (DNA 合成細胞) などの比率に関する検索は正方形 scale 付接眼レンズを用い、400倍拡大下で無差別に肝小葉辺縁および中心部を10視野づつ観察算出した。

肝再生時における DNA 合成細胞の分布については、肝小葉を40倍顕微鏡写真で構築し、同一視野における400倍顕微鏡観察を行い、写真上にマークして検討した。

(2) 血液生化学検査

総ビリルビン、直接ビリルビンは Jendressik-Grof 変法、総蛋白は Biuret 法、アルブミンは BCG 法、GOT、GPT は Wroblewski-Karmen 法、LDH は Cabaud 法、Al-P は Kind-King 法、総コレステロールは酵素法によって測定した。

(3) 再生率の測定

再生率は Fishback²¹⁾ による計算式すなわち残存肝重量を Higgins-Anderson¹⁾ による推定全肝重量で除した値 (%) を用いた。

$$\text{再生率 (\%)} = \frac{\text{再生肝重量}}{\text{(切除時推定全肝重量)}} \times 100$$

$$\text{推定全肝重量 (gram)} = 0.02423 \times (\text{切除時体重}) + 2.10$$

(4) 病理組織学的検索

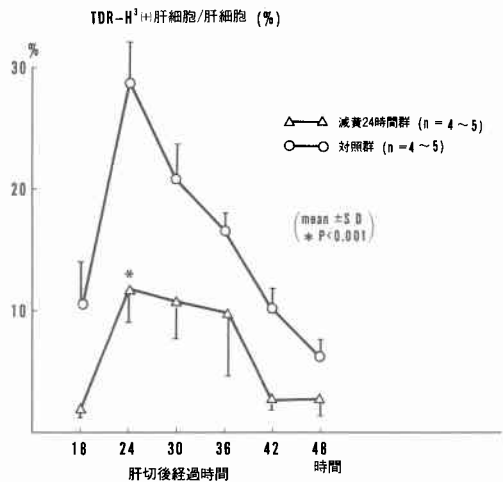
摘出した肝組織を10%ホルマリンで固定し、パラフィン包埋後、厚さ 5μ の切片標本を作製し、H-E 染色を施行し鏡検した。

III 成績

(1) DNA 合成細胞

図3は減黄24時間群と対照群との比較で肝切除18時間後から6時間ごとに48時間後までの再生肝細胞中 TDR-³H 取込み細胞すなわち DNA 合成細胞の比率を%で示したものである。縦軸に%，横軸に肝切除後経過時間を示す。両群とも DNA 合成ピークは肝切除24時間後にみられた。DNA 合成ピーク時の値は減黄24時間群で11.7 ± 2.9%，対照群で28.6 ± 3.4%であり、両者間に有意差 (p<0.001) を認めた。肝細胞における DNA 合成の推移は、対照群では18時間後より急峻な上昇を示し、24時間後でピークを示したあと急激な減少をした。一方、減黄24時間群は18時間後から24時間後にかけて対照群と同様急峻な上昇を示すが、24時間後から36時間後までピークが持続し、36時間以後急激に減少した。すなわち、減黄24時間群の肝切除後における DNA 合成は、対照群の推移が肝切除後24時間を境にして上昇下降が急激であるのに比し、ピーク値が有意に低く、かつピーク時間が延

図3 DNA 合成細胞比率 (減黄24時間群と対照群)



長した (図3)。

減黄24時間群と対照群の間で肝切除24時間後のピーク値に有意差が認められたので、両者の DNA 合成細胞を紙上に dot して小葉内分布について検討した。減黄24時間群は対照群に比し、DNA 合成細胞が少なかった。小葉内分布をみると、対照群は小葉辺縁部に dot のかたよりがみられたが、減黄24時間群は dot が小葉全体に散在し、かたよりがみられなかった。小葉辺縁部における肝細胞あたりの DNA 合成細胞の比率は対照群で50.9 ± 1.3%，減黄24時間群で12.6 ± 2.7%であった (図4、5)。

図6は減黄6時間群と対照群の比較である。両群とも DNA 合成ピークは肝切除24時間後にみられ、ピーク時の値は減黄6時間群では5.2 ± 1.6%で対照群のピーク値と有意差 (p<0.001) を認めた。減黄6時間群の DNA

図4 DNA 合成細胞分布図 (減黄24時間群)
g : Glisson capsule c : Central vein



図5 DNA合成細胞分布図(対照群)
g: Glisson capsule c: Central vein

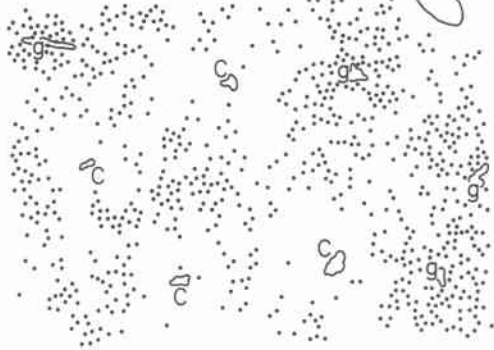


図7 減黄時間と肝再生

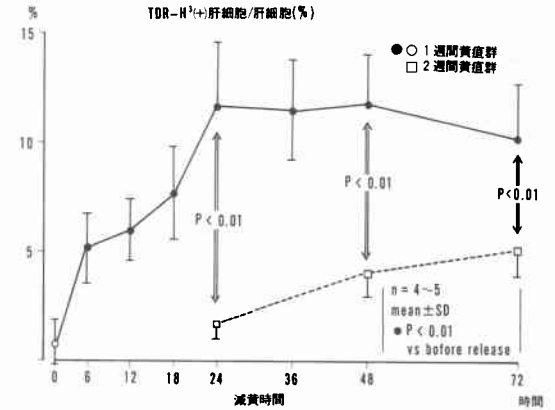


図6 DNA合成細胞比率(減黄6時間群と対照群)
TDR-H²+肝細胞/肝細胞(%)

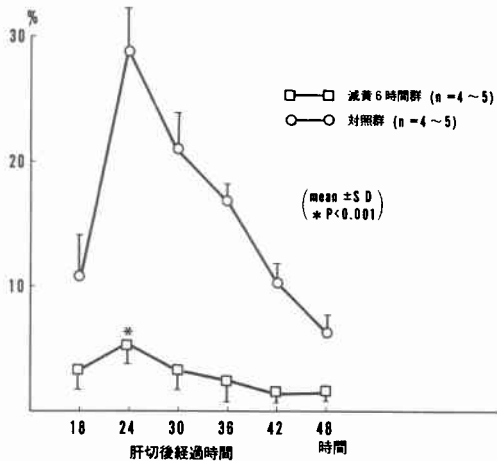
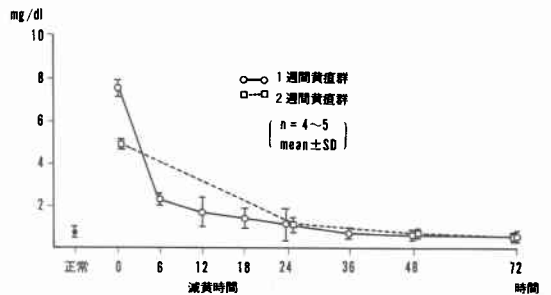


図8 T. bilirubin



間とすすむにつれ DNA 合成は次第に増加したが、1週間黄疸群に比べ有意 ($p < 0.01$) に低かった (図7)。

(2) 血液生化学的变化

総ビリルビン値は1週間の胆管閉塞で平均7.5mg/dlであり、減黄後6時間で平均2.3mg/dlとなり、その後次第に低下し、24時間で正常域にもどった。2週間の胆管閉塞では平均4.9mg/dlとなり減黄時間とともにその値は低下し24時間で正常域にもどった (図8)。GOTは1週間の胆管閉塞で平均234u、2週間の胆管閉塞で平均440u、GPTは1週間の胆管閉塞で平均64u、2週間の胆管閉塞で平均101uであった。減黄とともにそれぞれの値は次第に低下し、GOTは1週間黄疸群において減黄24時間で正常域にもった。GPTは1、2週間黄疸群とも減黄24時間で正常域にもどった。総蛋白、Al-P、LDH、総コレステロールに関しては、発黄、減黄操作にかかわらず値は変化しなかった (図9、10)。

(3) 再生率

DNA 合成がピークを示す肝切除24時間後の標本で検討した。再生率は減黄6時間群で74.4±6.1%、減黄24

合成推移は肝切除24時間後でピークを示すものの全般的に低値を示した。また減黄24時間群と減黄6時間群のピーク値の間にも有意差 ($p < 0.01$) を認めた。このことは、6時間という減黄効果が不十分な時期に肝切除を行うと、肝再生が低いことを示している (図6)。

図7は減黄時間と肝再生の関係を見たものである。横軸に減黄時間、縦軸に DNA 合成細胞の比率を%で示す。1週間黄疸群では減黄直後から減黄24時間後まで減黄時間がすすむにつれ、DNA 合成は次第に増加した。しかし、24時間以後は DNA 合成の増加はみられず、24時間後の時とはほぼ同じ値を示した。2週間黄疸群では減黄直後に肝切除をした群で全例が死亡してデータを得ることができなかった。減黄6、12、18時間後に肝切除をした群の検索は行わなかった。減黄時間が24、48、72時

図9 GOT

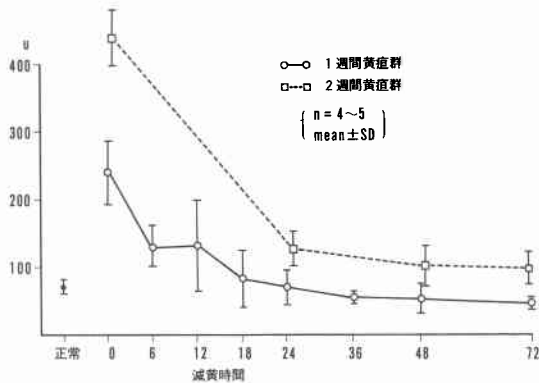
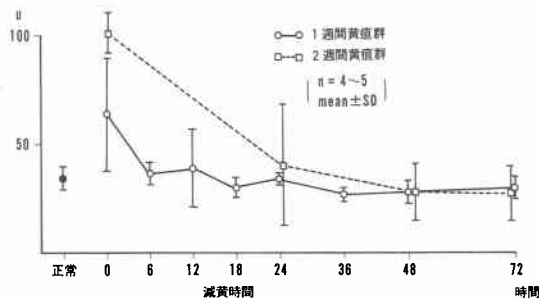


図10 GPT



時間群で77.0±6.4%, 対照群で64.7±3.1%であった。減黄24時間群と対照群の間で有意差 (p<0.01) を認めた。すなわち、重量による算定では対照群よりも減黄群において再生率が高い成績が得られた。

(4) 病理組織学的検索

DNA 合成がピークを示す肝切除24時間後の標本を鏡検した。

減黄群、対照群とも肝細胞に形態的な差異はなかった。胆栓はみられなかった。肝細胞の大きさを比較検討するため、正方形 scale 付接眼レンズを用い400倍拡大下で無差別に肝小葉辺縁および中心部を10視野づつ肝細胞を算定した。減黄6時間群では平均91.4±3.8, 減黄24時間群では平均91.0±6.0, 2週間黄疸減黄24時間では平均93.0±5.0, 対照群では平均91.2±4.3で互いに推計学的有意差を認めなかった。

グリソン鞘では水腫, fibrosis, 細胆管増生の程度が減黄群において明らかに多い傾向を認めた。細胆管増生は1週間黄疸群よりも2週間黄疸群においてやや旺盛な傾向があった。リンパ球などの炎症性細胞浸潤像はごく軽度であり各群間に差異は認められなかった(表1)。

表1 組織学的所見

	グリソン鞘における水腫	グリソン鞘におけるfibrosis	細胆管増生
1週間黄疸群			
減黄6時間	(+)	(-)	(+)(-)
“ 24 “	(+)	(+)	(+)
“ 72 “	(+)(-)	(+)	(+)
2週間黄疸群			
減黄24時間	(+)	(+)(-)	(+)(-)
“ 72 “	(+)(-)	(+)(-)	(+)(-)
対照群	(-)(-)	(-)	(-)

組織学的所見では、肝細胞の形態に差異はなく、グリソン鞘部における細胞増生像が対照群に比べ減黄群において多く認められたが、減黄各群間では明瞭な差異はみられなかった。

IV 考察

ラットの肝の再生現象について、肝部分切除後の肝細胞は、肝切除後のごく早期(ほぼ24時間)にまず核や核小体が大きくなり、また細胞質も脂肪浸潤により大きくなり、肝肥大が細胞数増加に先行することが指摘されている²²⁾。この肝切除後24時間に、残された肝葉の中でいろいろの生化学的変化がおきるが、主としてそれは細胞分裂につながる核酸や蛋白質、酵素の合成であろう。mononucleotide²³⁾, ATPの合成²⁴⁾が増し、messenger-RNA, ribosomal-RNA, transfer-RNAも増加してくる。またアルブミンやフィブリノーゲンなどの蛋白質も合成される。

再生肝でのDNA合成は肝の部分切除後24時間目ぐらいに最初のピークがみられる。それでは、肝部分切除後24時間まではどうしてDNA合成が起ってこないのだろうか。それはおそらくDNA合成には準備期間が必要なことと何らかの抑制機構が働いているからであろう。DNA合成は正常細胞では抑制状態にあり、再生肝ではこの抑制が再生20時間前後ではずされるという見方もある。

肝の再生はどのようにしておこなうのか、またどのような機構で肝組織の一部が失われたことを知るのか、という疑問に対して数多くの研究がある。

1) 肝部分切除によって特別な増殖促進物質が、局所あるいは全身に生じるとする考え方。

2) 正常な成熟動物には何か肝細胞の増殖を抑制する物質、あるいは機構があって、ふだんは肝細胞が増殖するのを止めているが、肝細胞の一部が失われると、この増殖抑制のブレーキがはずされるという考え方。

この増殖促進物質あるいは増殖抑制物質が肝内に生じ

るのか、あるいは肝外でつくられるのかについても数多くの議論がある。

近年、胆嚢癌、肝門部癌などで高度の閉塞性黄疸を合併した症例では、黄疸軽減をはかった上で積極的に肝切除が行われるようになったが²⁵⁾²⁶⁾、閉塞性黄疸を解除してから肝切除後肝再生についての研究は報告されていない。

従来、閉塞性黄疸についてはいろいろな実験動物を使って、多くの検索がなされている²⁷⁾²⁸⁾。しかし、一般に実験的閉塞性黄疸を解除して再疎通させることは困難である。岩月²⁹⁾が報告しているようにダイコクネズミの総胆管に外径0.5mmのビニール管を挿入し胆汁流路を変更させ、この管を閉塞することにより閉塞性黄疸を作り、一定期間後にビニール管を切断し、他端を空腸内に入れて減黄する方法は一つの新しい実験手段と考えられる。

臨床面では閉塞性黄疸症例に対して、まずPTCDを施行し黄疸軽減をはかる。著者は胆汁が欠乏し、脂肪の吸収障害がある生体での減黄された肝を実験モデルとして作製する必要があると考え、ビニール管を総胆管に挿入し他端を結紮することにより1週間または2週間閉塞性黄疸状態を持続した後、減黄操作として体外に誘導したビニール管を切断して外胆汁瘻をつくるよう実験モデルを考案した。またビニール管は外径1.0mm、内径0.5mmの管を使用し、減黄効果を高めるよう改善した。その結果、1週間黄疸の場合、減黄操作をして総ビリルビン値が正常域に復するのには岩月のモデルでは10~15日間を要したが、著者のモデルでは1~2日間を要したにすぎなかった。

Grisham⁷⁾によるSprague-Dowleyラットを用いた実験では、約70%肝切除約22時間後に残存肝細胞のDNA合成は最大になると報告している。今回の著者の実験では6時間ごとの検索により、減黄群と対照群とも肝切除24時間後に最大との結果を得た。肝切除後24時間前後でさらに細かく時間を区切った検討を今回は行っていないが、使用した動物がドンリュウラットであることや、使用した年齢のちがいなどが関与しているのかもしれない。

DNA合成の推移の検討では、減黄24時間群において、肝切除24時間後におけるDNA合成比率は $11.7 \pm 2.9\%$ 、30時間後で $10.6 \pm 3.0\%$ 、36時間後で $9.8 \pm 5.2\%$ であり、三者の間の値では推計学的有意差はなく、24時間後から36時間後にかけてDNA合成のピークが持続する。一

方、対照群では肝切除24時間後で $28.6 \pm 3.4\%$ 、30時間後で $20.6 \pm 3.0\%$ 、36時間後で $16.6 \pm 1.4\%$ で、そのピークにおけるDNA合成比率は減黄24時間群において有意な低下と時間的なずれがある。いいかえれば、減黄24時間群では肝切除後早期における肝再生(DNA合成)の減弱と反応の遅延がある点が重要な特徴であるといえる。

減黄群では、減黄早期において胆汁を体外に排出させ腸管への流入を停止させるため、外因性脂肪の消化管での吸収障害を生じ、それに付随する種々の障害が全身状態の悪化およびvitalityの低下につながると考えられる。vitalityの低下の一因として外胆汁瘻による電解質喪失、とくに Na^+ の喪失が $\text{Cass}^{31)}$ らによって示され、acidosisを惹起させることが一般状態を悪化させる原因とされた。

一方、外胆汁瘻がもたらす大きな影響として、脂質の吸収障害および代謝の変化があげられる。脂質の消化吸収障害の機序としては、抱合胆汁酸塩の欠如によるミセル形成障害がもちろん主たるものであるが、さらにこれに加えて胆汁の胆汁リパーゼ作用に対する影響、腸粘膜細胞でのトリグリセライド再合成に対する影響、腸内細菌叢に対する影響なども検討を要する点であるが、なお未解決の問題も多い。

著者の実験モデルも胆汁を体外に流出させているため脂質の吸収障害および代謝の変化がおきていると考えられ、それがDNA合成低下の1つの要因になっていることも考えられる。

また肝再生の低下の原因の1つとして、対照群は肝切除という1回の手術操作であるのに比べ、減黄群は発黄、減黄および肝切除と多くの手術操作をうけているため、その侵襲の大きさにより肝のDNA合成が低下しているとも考えられる。

肝の基本構造を論ずる時、血流をまったく考慮に入れない静止的なKiernan(1833年)の六角形標本を肝小葉単位として多くの学者が使用している。すなわち、小葉の中心に中心静脈を配し、小葉辺縁には門脈系および動脈系の終末枝、細胆管、リンパ管、神経を包含するグリソン鞘を配す。しかし、Kiernanの小葉構造が少なくとも機能単位でないことは、肝細胞は終末肝静脈枝(中心静脈枝)の周囲で機能するのではなく、圧勾配によって肝動脈枝や終末門脈枝から終末肝静脈枝に注ぐ微小循環の道筋に沿って機能しているからである³²⁾。Sabourin(1888年)、Rappaport(1975年)³³⁾が述べているように

肝動脈枝, 終末門脈枝, リンパ管, 胆管, 神経を包含する1つの最小グリソン鞘を軸とし, 2つあるいはそれ以上の終末静脈枝(中心静脈)の間に介在して種々の大きさと形をなす肝実質細胞の集塊が1つの機能単位といえる。Rappaport³⁴⁾³⁵⁾はこれを simple liver acinus とよんでいる。simple liver acinus は球根の層のように軸構造を取り囲む3つの微小循環帯に識別され, それぞれ zone 1, 2, 3 とよばれる。zone 1 は栄養血管と近接し, zone 3 は栄養血管からもっとも遠く終末肝静脈枝周辺に位置し, 微小循環動態からは末梢に相当する。Grisham⁷⁾によれば肝切除後18時間から36時間までの肝小葉辺縁帯, 中間帯および中心帯における DNA 合成細胞分布をみると, 明らかに 辺縁帯に DNA 合成がつよく, とくに18~24時間において DNA 合成細胞の85~95%が辺縁帯と中間帯に局在し, 中心静脈周囲の中心帯における DNA 合成細胞比率は2~3%にすぎないという。著者は減黄群と対照群で肝切除後の肝再生でどのような差異がみられるかについて検討した。肝細胞における DNA 合成ピークが認められた肝切除24時間後の標本において, 減黄24時間群と対照群とを比較した。減黄24時間群では血液生化学値はすべて正常域に復していた。肝小葉辺縁部における DNA 合成細胞の比率は減黄24時間群で $12.6 \pm 2.7\%$, 対照群で $50.9 \pm 1.3\%$ であった。写真上の dot での比較でも, DNA 合成細胞は, 対照群においては小葉辺縁部に主として局在し, 減黄24時間群では小葉全体に散在し局在が認められなかった。すなわち減黄群では小葉辺縁部における DNA 合成の抑制が確認された。一方, 秋田³⁶⁾はドンリュウラットを用いて若年群(生後4~5カ月齢)と老年群(生後22~24カ月齢)の両者に, Higgins-Anderson¹⁾の術式による約70%肝切除を行った後, 残存肝の DNA 合成細胞の小葉内分布について比較検討した。若年群では著者の対照群と同じく小葉辺縁部に局在がみられたが, 老年群では小葉全体に散在する傾向があると報告した。秋田の報告している老年群と著者の減黄群で, とともに DNA 合成細胞が小葉全体に散在し, 小葉辺縁部での DNA 合成の低下がみられたのは, 両群において肝の予備能が低下しているためであると考えられる。いいかえれば, 小葉辺縁部の肝細胞が肝の予備能をよく表わすものといえることができる。このことは, 将来, 小葉辺縁部細胞と小葉中心部細胞を各々に分離することが可能となれば, 小葉辺縁部細胞だけを詳細に検討することにより肝の予備能を正確に把握することができるであろうことを示唆させる。

佐藤³⁷⁾らはラットの実験成績から, 黄疸がつづくときミトコンドリアの ATP 生成量も減少し, 肝不全状態にあるといえようが, 肝機能検査では黄疸持続1~2週でビリルビン値, GOT, GPT, Al-P などはずべてプラトーとなり, さらに6週でこれらの値が低下する傾向がみられるなど, 検査成績からは肝障害の程度は推定しきれないとしている。また小沢³⁸⁾は肝障害時に肝の機能的予備力を把握することが重要であることを強調し, 従来から GOT, GPT, ビリルビン値など主に血清学的変化によってある程度, その相関が求められてきているが^{39)~42)}, これらの変動は障害の度を反映するもので, その残存肝細胞の機能的予備力を適確に示すものではない。ミトコンドリアの機能亢進が肝再生における DNA 合成に必須であり, ミトコンドリアに由来する代償性機能亢進の発現が, 肝の機能的予備力の維持にもっとも重要な仕組みであると述べている。著者の実験結果でも, 黄疸軽減操作後血液生化学値が正常域にもどった時点で肝切除を行ったにもかかわらず, 対照群に比べ明らかに DNA 合成が低いことは, 血液生化学値が肝障害の程度, また肝障害からの回復の程度を適確に示していないためであると考えられた。黄疸のある肝を減黄し, 肝切除を行う場合, 血液生化学値だけを肝切除手術の時期決定指標としないで, ミトコンドリアの機能, とくにできうれば肝小葉辺縁部細胞のミトコンドリア機能を測定し, 機能亢進が出現した時期に肝切除を行うことがのぞましいと考える。

肝再生の程度の指標として, 残存肝の重量の上でどのくらい旧に復したかを示すいわゆる再生率, および肝切除後早期の再生を特徴づける肝細胞の DNA 合成について, DNA への³Hとりこみを測定し, 組織像と対比検討した。これらの指標はそれぞれ長短を有し, 再生過程の一面を表現しているにすぎないために総合的に検討することが必要である。再生率では減黄24時間群で $77.0 \pm 6.4\%$, 対照群で $64.7 \pm 3.1\%$ であり, 有意差($p < 0.01$)をもって減黄24時間群が高値を示すという一見矛盾する成績が得られた。DNA 合成率では減黄24時間群が $11.7 \pm 2.9\%$, 対照群が $28.6 \pm 3.4\%$ であり, 対照群の方が有意($p < 0.001$)に高値を示した。組織学的検索によると減黄24時間群ではグリソン鞘に水腫や細胞成分の増生がみられたが, 対照群ではこれらの所見はほとんどみられないことが大きな差異であった。肝実質細胞数は同じであった成績から考えると, 減黄24時間群の再生肝重量が重いのはグリソン鞘における水分量の増加, グリソン鞘

細胞成分の増加によるもので、その結果、重量から測定した再生率では減黄24時間群の方が高値を示す成績になったと考えられる。このことは肝切除後の残存肝再生を考える場合、肉眼的観察のみで“肝が大きいから再生が良好である”とはいえないことを示している。

V 結 語

ドンリュウラットを用い、黄疸軽減後の肝切除群（減黄群）と無処置ラット肝切除群（対照群）の肝再生について比較検討を行った。

1) 約70%肝切除後早期における肝細胞のDNA合成比率は、両群とも24時間目にピークがあり、減黄群が対照群より有意($p < 0.001$)に低値を示した。DNA合成の推移は対照群で上昇および下降の急峻なピークを示したのに対し、減黄群ではピーク時間の延長がみられ肝再生(DNA合成)の減弱と反応の遅延が認められた。

2) 肝再生ピーク時における減黄群と対照群のDNA合成細胞の小葉内分布は、対照群では小葉辺縁部に局在する傾向を示し、減黄群では小葉辺縁部に偏らず、小葉全体に散在する傾向がみられた。すなわち、減黄群におけるDNA合成の低下は小葉辺縁部においてとくに著明に認められた。

3) 発黄操作後1週間で減黄して肝切除をした群のDNA合成は減黄24時間後にピークを示した。しかし、減黄時間をこれ以上延長しても、DNA合成は増加しなかった。

4) 発黄操作後2週間で減黄して肝切除をした群のDNA合成細胞比率は、発黄操作後1週間で減黄して肝切除をした群のDNA合成細胞比率に比して有意($p < 0.01$)に低値を示した。

5) 肉眼的観察(重量測定)で、肝切除後の残存肝が大きく、再生率が大であっても肝再生(肝実質細胞におけるDNA合成)は必ずしも旺盛であるとはいえないことが分った。

6) 減黄後、血液生化学値が正常域に復した時点で肝切除を行ったにもかかわらず、減黄群の肝再生が対照群より有意($p < 0.001$)に低いことは臨床上でも留意すべきであると考えられる。

本稿の要旨は、第22回日本消化器病学会秋季大会(1980年10月、鹿児島)で発表した。

稿を終るに臨み、ご指導、ご校閲をいただいた弥政洋太郎教授に深甚なる感謝の意を表す。また、終始ご指導をいただいた名古屋第一赤十字病院外科部長服部竜夫博士、名古屋保健衛生大学福慶外科三浦馥助教授、名古屋

屋大学医学部中央検査室病理部中島伸夫博士、名古屋第二赤十字病院秋田昌利博士に深謝する。あわせてご協力ご援助をいただいた腫瘍研究室の諸先生方にお礼申し上げます。

文 献

- 1) Higgins, G.H. and Anderson, R.M.: Experimental pathology of the liver. I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch. Pathol.*, **12**: 186—202, 1931.
- 2) Simpson, D.P.: Hepatic regeneration and hyperplasia. *Med. Clin. North. Amer.*, **47**: 765—777, 1963.
- 3) Bucher, N.L.R., et al.: An experimental view of hepatic regeneration. *Johns Hopkins Med. J.*, **125**: 250—257, 1969.
- 4) Mac Donald, R.A., et al.: Regeneration of the liver; Relation of regenerative response to size of partial hepatectomy. *Lab. Invest.*, **11**: 544—548, 1962.
- 5) Bucher, N.L.R., et al.: The rate of incorporation of labelled thymidine into the deoxyribonucleic acid of regenerating rat liver in relation to the amount of liver excised. *Cancer Res.*, **24**: 1611—1625, 1964.
- 6) Aronsen, K.F., et al.: Metabolic changes following partial hepatectomy in dogs. *Acta Chir. Scand.*, **134**: 282—286, 1968.
- 7) Grisham, J.W.: A morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in thymidine- H^3 . *Cancer Res.*, **22**: 842—849, 1962.
- 8) Marshak, A., et al.: The use of regenerating liver as a method of assay. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **59**: 200—202, 1945.
- 9) Mays, E.T.: Bursting injuries of the liver. *Arch. Surg.*, **93**: 92—106, 1966.
- 10) Achroyd, F.W., et al.: Massive hepatic resection in the treatment of severe liver trauma. *Am. J. Surg.*, **117**: 442—448, 1969.
- 11) Pinkerton, J.A., et al.: A study of the postoperative course of the hepatic lobectomy. *Ann. Surg.*, **173**: 800—811, 1971.
- 12) 石川浩一ほか: 黄疸の治療—外科的—。内科, **34**: 448—455, 1974.
- 13) Ozawa, K., et al.: Primary course of decreased functional reserve in the liver of icteric patients and rats. *Surg. Gynec. Obstet.*, **139**: 358—362, 1974.
- 14) Gleen, F., et al.: Percutaneous transhepatic cholangiography. *Ann. Surg.*, **156**: 451—462, 1962.

- 15) Shaldan, S., et al.: Percutaneous transhepatic cholangiography. *Gastroenterology*, **42**: 371—379, 1962.
- 16) Arner, O., et al.: Percutaneous transhepatic cholangiography: Puncture of dilated and nondilated bile ducts under roentgen television control. *Surgery*, **52**: 561—571, 1962.
- 17) 高田忠敬: 影像下直達法による経皮的胆管ドレナージの研究. *日消外会誌*, **9**: 791—803, 1976.
- 18) 高橋忠雄: 肝臓—構造, 機能, 病態生理, 798—815, 医学書院, 東京, 1976.
- 19) Messier, B., et al.: Preparation of coated radioautography by dipping sections in fluid emulsion. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **96**: 7—10, 1957.
- 20) Fabrikant, J.I.: Size of proliferating pools in regenerating liver. *Exp. Cell. Res.*, **55**: 277—279, 1969.
- 21) Fishback, F.C.: A morphologic study of regeneration of the liver after partial removal. *Arch. Path.*, **7**: 955—977, 1929.
- 22) Wilson, M.E., et al.: Cytological changes in regenerating mouse liver. *Cancer Res.*, **13**: 86—92, 1953.
- 23) Bucher, N.L.R. et al.: Rate of incorporation of [6-¹⁴C] orotic acid into uridine 5'-triphosphate and cytidine 5'-triphosphate and nuclear ribonucleic acid in regenerating rat liver. *Biochem. Biophys. Acta*, **108**: 551—567, 1965.
- 24) Ove, P., et al.: Adenosine triphosphate in liver after partial hepatectomy and acute stress. *J. Biol. Chem.*, **242**: 4963—4971, 1967.
- 25) 岩崎洋治ほか: 肝門部胆管癌の切除例について(硬化性胆管炎疑診の1例を含む). *日消外会誌*, **8**: 28—36, 1975.
- 26) 都築俊治ほか: 上部胆管癌の進展形式と死因からみた手術術式の検討. *日外会誌*, **78**: 1—12, 1977.
- 27) Cameron, G.R., et al.: Liver necrosis following obstruction of the common bile-duct. *J. Path. Bact.*, **74**: 327—333, 1957.
- 28) Ohlsson, E.G., et al.: Changes in partial circulation after biliary obstruction in dogs. *Am. J. Surg.*, **120**: 16—22, 1970.
- 29) 岩月 淳: 肝外閉塞性黄疸時および閉塞解除後の肝細胞ミトコンドリア機能に関する研究. *日消外会誌*, **9**: 622—630, 1976.
- 30) Cass, M.H., et al.: Electrolyte losses with biliary fistula: The postcholedochostomy acidotic syndrome. *M.J. Australia*, **1**: 165—169, 1955.
- 31) Rappaport, A.M., et al.: Subdivision of hexagonal liver lobules into a structural and functional unit; role in hepatic physiology and pathology. *Anat. Rec.*, **119**: 11—34, 1954.
- 32) Rappaport, A.M.: Anatomic consideration. In: *Diseases of the Liver*. 4th ed. ed. by L. Schiff. 1—50, Lippincott, Philadelphia, 1975.
- 33) Rappaport, A.M.: The microcirculatory hepatic unit. *Microvasc. Res.*, **6**: 212—228, 1973.
- 34) Rappaport, A.M.: The microcirculatory acinar concept of normal and pathological hepatic structure. *Beit. Path.*, **157**: 215—243, 1976.
- 35) 秋田昌利: 肝切除後の肝再生の年令差に関する実験的研究. *名医学*, **101**: 85—96, 1979.
- 36) 佐藤寿雄ほか: 閉塞性黄疸の病態生理—肝障害を中心として—. *外科*, **36**: 426—433, 1974.
- 37) 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.
- 38) Longmire, W.P., et al.: Clinical experience with major hepatic resections. *Ann. Surg.*, **154**: 460—474, 1961.
- 39) Stone, H.H., et al.: Physiologic considerations in major hepatic resections. *Amer. J. Surg.*, **117**: 78—84, 1969.
- 40) Pack, G.T., et al.: Metabolism before and after hepatic lobectomy for cancer. *Arch. Surg.*, **80**: 685—692, 1960.
- 41) Gilsdorf, R.B., et al.: Factors influencing morbidity and mortality in pancreatoduodenectomy. *Ann. Surg.*, **177**: 332—337, 1973.