

肝切除後脂肪乳剤静注ラットの肝脂質代謝に関する研究

近畿大学医学部第2外科 (主任: 久山 健教授)

神鋼病院外科 (主任: 端野博康院長)

北 見 義 輝

SUTUDIES ON THE LIPID METABOLISM IN THE LIVER OF RATS WITH INTRAVENOUSLY INJECTED FAT EMULSION AFTER PARTIAL HEPATECTOMY

Yoshiteru KITAMI

Second Department of Surgery, Kinki University, School of Medicin

(Director: Prof. Takeshi Kuyama)

Department of Surgery, Shinko Hospital

(Director: Hiroyasu Hashino)

2/3肝切除ラットについて、切除初期の再生肝における脂質代謝とそれに及ぼす脂肪乳剤(10ml/kg)静注の影響を、血清脂質分析、肝内脂質分析および新しく考案した組織化学的証明法を用いて、検討してみた。

1) 正常または sham 手術ラットに脂肪乳剤を静注しても、肝への脂肪集積は見られない。2) 65%肝切除ラットでは、脂肪乳剤静注3時間で再生肝の肝細胞および類洞内に、中性脂肪および cholin 含有燐脂質の増加があるが、総コレステロールは増加しない。3) 肝切除後生理食塩水を静注したラットでも時間的には遅れるが、同様の脂肪集積をみとめる。すなわち脂肪乳剤静注は、再生肝の脂肪集積の開始時期を早める作用を示した。

索引用語: 脂肪肝, 脂肪乳剤, 肝切除後の脂質代謝, 脂質の組織化学, 肝再生

緒 言

肝切除後の脂肪乳剤の投与は肝再生という面からも重要課題の一つである。一般に肝切除の場合、再生肝に脂質の集積(脂肪症)が見られるが^{1)~4)}、これを電顕的にみても、肝切除後1時間で再生肝に多量の脂肪が存在する⁵⁾。肝内脂肪量は、肝切除後20時間前後まで増加し、その後有糸分裂の開始と共に急速に減少する²⁾⁴⁾⁵⁾。このような再生肝への脂肪の集積は、肝切除量と血中脂肪酸濃度⁶⁾⁷⁾、再生肝の酵素活性⁸⁾、脂肪酸の取込率⁷⁾⁹⁾、リポ蛋白の合成、分泌能⁷⁾¹⁰⁾¹¹⁾などが関与するとされている。

一方、大豆油、卵黄 lecithin, glycerol を組成とする脂肪乳剤 (Intralipid, Intrafat など) 投与の場合、その血中からの消失率や代謝は chylomicron と同様で、

種々のストレス下でも十分代謝されうるとされている¹²⁾。しかし、肝切除後の脂肪乳剤投与の場合については不明の点も多く、中谷ら¹³⁾は、70%肝切除した家兎においては、残存肝の mitochondria におけるエネルギー産生は、主として脂肪酸酸化によるとし、芳田¹⁴⁾は、肝切除後24時間のラットでは脂肪乳剤投与後のエネルギー代謝は、正常ラットと差がないとしている。また、西松ら¹⁵⁾は肝切除後のラットで外因性脂肪利用の低下をみとめると報告している。

そこで、肝切除後に投与された脂肪乳剤が、肝内での様な動態を取るかを、著者が考案した組織化学的方法¹⁶⁾を用いて組織化学的に検討してみた。

方法および材料

1) 実験動物

Wistar 系雄ラット (生後10週, 体重250~300g) を、オリエンタル酵母 MF (脂肪含有量5.1%) を飼料として一定期間飼育したのち実験に用いた。

II) 脂肪乳剤

市販の10%脂肪乳剤(大豆油10w/v%, glycerin 2.5 w/v%, 卵黄磷脂質1.2w/v%を含む Intrafat : 大五栄養 KK)を用いた。この脂肪乳剤には、62mg/100ml の cholesterol が含まれる¹⁷⁾。

III) 実験操作

前日より16~19時間絶食(水は自由摂取)した後に実験に供した。肝切除は、ether 麻酔下、Higgins & Anderson の方法¹⁸⁾で、平均65.0±3.6% (n=12) の肝を切除した(以下切除肝と略す)。

肝切除群は、直後に脂肪乳剤を投与した群(以後 HF 群と略記)18例と、生理食塩水を投与した群(以後 HS 群と略記)18例とに分けた。さらに、無処置脂肪乳剤投与群(以後 F 群と略記)18例、sham 手術脂肪乳剤投与群(以後 SF 群と略記)18例、および無処置対照群(以後 C 群と略記)6例をも設定した。脂肪乳剤と生理食塩水は、10ml/kg を ether 麻酔下に股静脈より1分間で静注した。これらの群では経時的に各6例づつ、30分、3時間、6時間目に ether 麻酔下に開腹し、大動脈より全採血した後、直ちに残存肝(再生肝)または全肝を摘出(以後摘出肝と略記)した。

切除肝および摘出肝は、Baker 液(formalin-calcium 液)にて固定し、採血した血液は、血清を分離し測定まで冷蔵保存した。

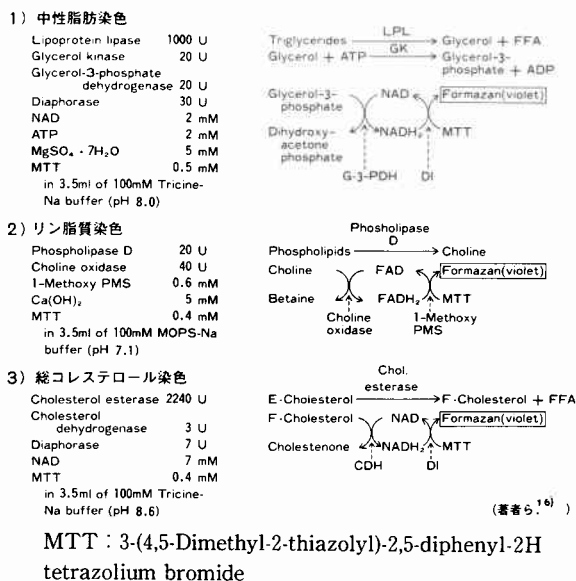
IV) 肝内脂質の組織化学的染色法

厚さ5~10μm の凍結切片を作り、従来の sudan black B 染色(SBB 染色と略記)を実施するとともに、著者が考案した方法¹⁶⁾を用いて、triglycerides (以後 TG と略記)、phospholipids (以後 PL と略記)、total cholesterol (以後 T-ch と略記)の特殊分別染色を実施した。著者らの酵素 formazan 法の染色原理と染色試薬は、図1のとおりである。本法は、光顕レベルでの各脂質の特異的証明に有用であり、いずれも各脂質の存在部位に一致して、赤紫色の formazan 着染として証明される。この場合、PL としては、cholin 含有磷脂質のみを証明することができる。肝臓の凍結切片を、それぞれの反応液(37℃)中に、TG 染色は15~25分、PL および T-ch 染色は25分間浸漬後、0.1N 塩酸に10分間浸漬して反応を止め、水洗30分後 glycerin 封入して鏡顕した。なお、肝切除群では Harkness の方法¹⁹⁾に従って、摘出肝の対照として切除肝を用いることにした。

V) 血清脂質の定量

血清 TG および T-ch の測定には、日立自動分析装

図1 脂質の組織化学的分別染色のための原理と試薬



置762型、PL には、ABBOTT Bichromatic analyser 100 (アボット社)、血清 free fatty acid (以後 FFA と略記)には、日立自動分析装置7050型を用いた。また、試薬には、それぞれトリグリセライド G-AR(和光純薬 KK 製)、TC キット-K(日本商事 KK 製)、PL ギイム(栄研化学 KK 製)、FFA ギイム-S 栄研(同上)を用いた。測定値は、平均±SDmg/dl(TG, T-ch, および PL)または、平均±SDμeq/l (FFA) で示した。

VI) 肝組織の脂質分析

F, SF, HF, および HS 群の Baker 液固定の肝組織で、6時間群の右臓側葉と、切除肝の横隔葉、および C 群の右臓側葉から、それぞれ約1g を用いて脂質分析を行った。組織片を半日水洗後、Folch らの方法¹⁹⁾に準じて総脂質を抽出した。純化は行っていない。抽出液から適量を取り、N₂ガス下に chloroform を留去して検体とし、各脂質を次の方法で測定した。TG 測定には、酵素法(トリグリセライドテストワコー：和光純薬 KK 製)を用いた。PL 測定は、酵素法(ホスホリピド B テストワコー：同上)、および Allen の改良法²⁰⁾によった。前者は磷脂質中の cholin 量から定量するが、後者は molybden 青比色定量法で、全磷量から定量する。T-ch 測定は、Liebermann-Burchard 反応によった。これは、検体に酢酸2ml、無水酢酸3ml、硫酸 0.5ml を順次加え、速やかに攪拌発色させ濾過して、30分後640nm で吸光度を測定した。各測定値は、平均±

SDmg/g liver weight で示した。おのおのの測定値の検定には、Student's-t test を行ってみた。

成績

I) 血清脂質の分析所見

肉眼的に血清は脂肪乳剤投与後、F および SF 群では3時間後に乳びはほぼ見られなくなるが、HF 群では3時間後でも、ほとんどの例で明らかに乳びがみとめられた。

血清 TG, PL, T-ch および FFA の分析値は脂肪乳剤投与群のいずれの群でも、投与30分後に、最高値と

なった。血清 TG, T-ch および FFA は F 群および SF 群においては3時間後対照レベルにまでもどるが、HF 群では対照レベルへのもどり方が遅れた。血清 PL 値は肝切除の有無にかかわらず、ほぼ同じような傾向で漸減した。ただし、HS 群のみは TG, PL, T-ch および FFA の増加はみとめられなかった(表1)。

II) 肝組織脂質の分析所見

肝切除後、または脂肪乳剤投与後6時間の肝組織内の脂質濃度を比較してみると、表2のようになる。C, F, および SF 群間では independent Student's t-test でみると、TG, PL および T-ch とともに、それぞれ差は認められなかった。

HF および HS 群について、切除肝と再生肝の間で dependent Student's t-test を行ってみた。HF 群では TG の著大な増加をみとめ、PL も酵素法による定量では軽度の増加を示したが、モリブデン青比色定量法では差はみられなかった。また、T-ch はわずかに増加の傾向を示した。HS 群では推計学上有意の増加はないが、個々の症例についてみると、TG または PL で著大な増加を示すものがあつた。T-ch の増加はみとめられなかった。

III) 肝臓内脂質の組織化学的所見

染色結果を評価するために、肝小葉を門脈域、中間帯、中心静脈域の3区域に大まかに分け、肝実質細胞および類洞内の脂肪顆粒の分布を比較観察してみた。

1) 肝実質細胞内の脂肪顆粒の分布

a) SBB 染色所見：SBB 染色でみると(表3, 図2), C 群においては多くの例で、門脈域から中間帯にかけて脂肪顆粒が陽性であった。脂肪乳剤投与後30分では、F 群では主に門脈域に、SF 群ではそれよりやや小範囲の傾向にあつたが、3時間以後は両者に差がなく、主に門脈域に脂肪顆粒が分布していた。

HF 群の SBB 染色では脂肪乳剤投与後30分で、再生肝の実質細胞内に脂肪顆粒の増加傾向がみとめられたが、F および SF 群とは明かな差を認めえなかった。しかし、脂肪乳剤投与3時間後には HF 群の全例に明確な脂肪顆粒の分布の増加をみとめ、内4例は肝小葉全体に瀰漫性に脂肪顆粒が証明された。投与6時間後には、全例で小葉全体に瀰漫性の脂肪沈着がみとめられた。

HS 群では、生理食塩水投与30分後、ほとんど変化を示さないが、3時間後には脂肪顆粒の分布は増加傾向を示し、6時間後でさらに増加し、内3例は小葉全体に、瀰漫性に脂肪顆粒がみられるようになった。

表1 血清脂質濃度の経時的変動

中性脂肪 (mg/dl)	30分	3時間	6時間
F	1059.7±222.3 ¹⁾	57.2±16.0	52.0±18.4
SF	1375.8±410.0 ²⁾	92.2±33.4	55.7±30.0
HF	1623.5±352.8 ¹⁾	263.0±141.4 ⁴⁾	122.8±67.8
HS	45.8±4.7*	44.5±13.6	37.2±4.2
C		60.2±24.5	

リン脂質 (mg/dl)	30分	3時間	6時間
F	307.0±29.8 ¹⁾	149.5±26.6 ²⁾	143.0±34.4 ⁴⁾
SF	339.3±53.5 ¹⁾	139.8±30.3 ⁴⁾	125.2±39.1
HF	356.8±22.7 ¹⁾	183.0±54.9 ³⁾	147.3±32.8 ⁴⁾
HS	88.8±5.4*	92.2±17.4	110.7±25.8
C		97.2±7.9	

総コレステロール (mg/dl)	30分	3時間	6時間
F	74.2±8.4 ²⁾	60.7±10.7	58.8±16.5
SF	75.2±11.6 ²⁾	59.0±9.4	57.2±6.7
HF	72.8±5.9 ²⁾	83.8±19.3 ²⁾	77.3±12.1 ²⁾
HS	42.4±2.9 ⁴⁾	42.2±9.5	48.2±11.4
C		53.3±8.4	

遊離脂肪酸 (μeq/l)	30分	3時間	6時間
F	1799.5±30.9 ¹⁾	696.0±155.8	646.2±68.2
SF	1850.2±53.3 ¹⁾	833.5±120.6	699.3±122.3
HF	1893.2±123.1 ¹⁾	1439.7±331.1 ³⁾	1086.0±171.9 ²⁾
HS	804.4±119.9*	796.7±69.2	797.2±68.8
C		712.3±95.6	

平均±SD. * n=5, 他はすべて n=6. C 群との比較: 1) p<0.001, 2) p<0.01, 3) p<0.02, 4) p<0.05

表2 肝組織内の脂質濃度

	C 群 (n=5)	F 群 (n=6)	SF 群 (n=6)	HF 群 (n=6)		HS 群 (n=6)	
				切除肝	再生肝	切除肝	再生肝
TG	5.0±2.3	4.4±2.1	3.9±2.3	2.2±1.2	29.7±10.9 ¹⁾	3.4±1.6	11.6±8.8
PL(1)	20.3±2.5	19.0±2.7	20.8±3.5	22.7±2.3	27.9±2.4 ²⁾	23.7±1.5	26.0±3.1
PL(2)	28.5±4.4	31.5±5.6	31.2±1.2	30.9±5.6	34.3±1.9	31.5±6.2	33.4±2.3
T-ch	5.5±0.5	5.0±0.5	5.1±0.4	5.8±1.0	6.9±0.6 ²⁾	6.2±0.2	6.8±0.7

平均±SDmg/g wet formalin fixed liver. 6時間後の肝組織における脂質濃度の比較。C, F および SF 群間では、independent Student's t test, HF および HS 群においては、切除肝と再生肝の間で, dependent Student's t test にて検定した。1) : p<0.01, 2) : p<0.05. TG: トリグリセライドテストワコー, PL(1)ホスホリピド B テストワコー, PL(2)モリブデン青比色法, T-ch: Liebermann-Burchard 反応

表3 肝組織内脂質顆粒の分布, 組成および経時的変化

	C群		F群		SF群		HF群				HS群						
	肝細胞		類洞内		肝細胞		類洞内		切除肝		再生肝		切除肝		再生肝		
	SBB	TG, PL & T-ch	SBB	TG, PL & T-ch	SBB	TG, PL & T-ch	SBB	TG, PL & T-ch	SBB	TG, PL & T-ch	SBB	TG, PL & T-ch	SBB	TG, PL & T-ch	SBB	TG, PL & T-ch	
30分	1	++++	----	±	±	++++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+++	---	+	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+++	---	+	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+++	---	+	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5	+++	---	+	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6	+++	---	+	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3時間	1			+++	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2			+++	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3			+++	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4			+++	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5			+++	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6			+++	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6時間	1			++++	+	++++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2			++++	+	++++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3			++++	+	++++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4			++++	+	++++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5			++++	+	++++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6			++++	+	++++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

SBB: ズダンブラック B 染色, TG, PL & T-ch: TG, PL & T-ch 特殊染色, -: 脂肪顆粒陰性, ±: 全視野の一部に少量の脂肪顆粒陽性, +: 門脈域に脂肪顆粒陽性, ++: 門脈域~中間帯に脂肪顆粒陽性, +++: 肝小葉全体に脂肪顆粒陽性, (V): 血管内脂肪陽性

b) TG, PL および T-ch の特殊分別染色所見: SBB 染色による脂肪顆粒の分布所見を, TG, PL および T-ch 特殊染色で染め分け比較検討してみた(表3, 図2). C, F, SF 群および切除肝からの切片では, SBB 染色にはほぼ対応して, ほぼ同一部位に TG, PL および T-ch がみとめられた. HF および HS 群では, SBB 染色での脂肪顆粒の分布に応じて, TG および PL の分布が, 経時的に増加しているが, T-ch の分布には増加をみとめず, 切除肝の所見と大差なかった.

図3<左例>には, SBB 染色陽性の脂肪顆粒が, 肝小葉の門脈域から中間帯にみられ, 同様部位に TG および PL 特殊染色で陽性に, T-ch 特殊染色でもわずかに陽性に染まる例を示した.<右列>には, 肝小葉に瀰漫性に SBB 染色陽性脂肪顆粒をみとめ, TG および PL 特殊染色でも瀰漫性に陽性であるが, T-ch 特殊染色のみはほとんど陰性である例を示した.

2) 肝類洞内の脂肪顆粒分布

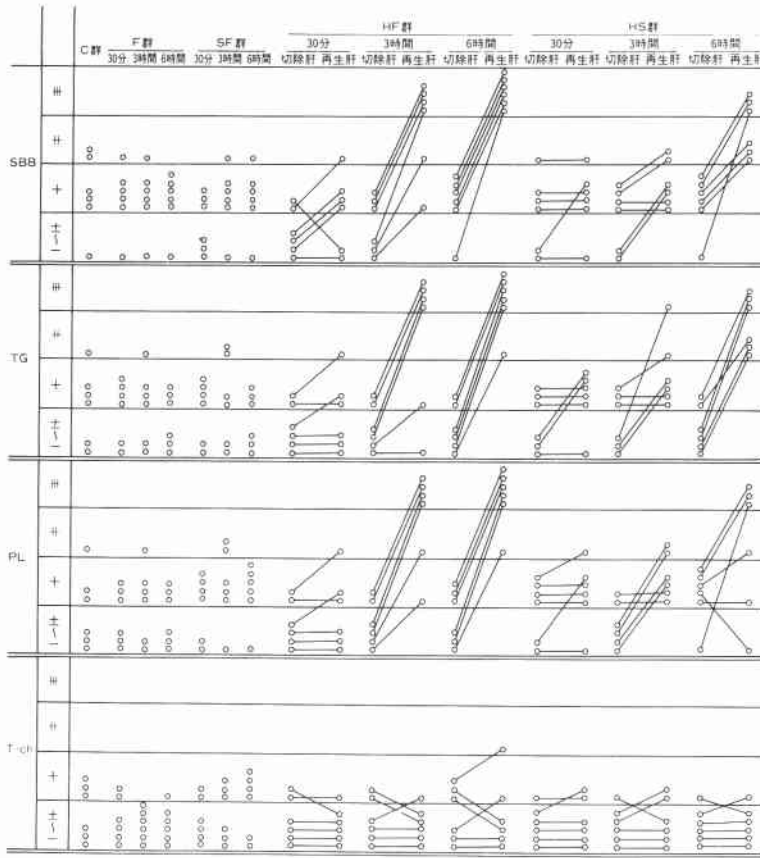
a) SBB 染色所見: SBB 染色における類洞内の脂肪顆粒の分布をみると(表3), C 群では陰性例が多いが, 一部の例では広範囲にみとめられるものも

あった. F 群では脂肪乳剤投与30分後, 脂肪顆粒が中間帯にまで広がるが, 3時間以後になると門脈域にとどまるものが多くなる傾向にあった. SF 群では, 30分後, 脂肪顆粒はむしろ類洞内に少ないが, 3時間後には中間帯にまで広がり, 6時間後には門脈域にのみ分布する傾向になる. HF および HS 群の再生肝ではどちらの群も, 経時的に脂肪顆粒の分布が増加する傾向にあるが, HF 群の方がより早く中心静脈域にまで増加する傾向にある(図4). なお, HF 群で30分後の肝類洞内脂肪顆粒の分布は, F 群および SF 群の場合と大差がなかった.

類洞内の脂肪顆粒は通常微細であるが, 門脈域では脂肪乳剤投与後早期から, 凝集塊状の脂肪沈着がみられる部位があった. この様な脂肪沈着は HS 群でも後期には認められた.

なお, 類洞内脂肪顆粒のすべてが, 星細胞内に存在するとは言えず, 細胞外に遊離しているものもあった. また, 脂肪染色陰性の星細胞も多いが, HF および HS 群ではどちらも投与後時間の経過とともに, 脂肪染色陽性の星細胞が増加する傾向にあった.

図2 肝細胞内脂肪顆粒分布の経時的変化



SBB, TG, PL & T-ch および ~ ~ # : 表3を見よ.

b) TG, PL および T-ch の特殊染色所見: 類洞内の脂肪を, SBB 染色と TG, PL および T-ch 特殊染色とで比較してみると, TG および PL 特殊染色では SBB 染色陽性部位に大体合致して陽性であるが, T-ch 特殊染色は常に陰性であった (表 2).

なお, 小血管内にも脂肪乳剤投与後には SBB 染色, TG および PL 特殊染色陽性の脂肪がみとめられた (図 3). F および SF 群では 30 分後には全例に陽性であるが, 3 時間後には著しく減少した. HF 群では消失の時間がさらに遅れ, 3 時間でも陽性のものが多かった.

考 察

肝切除ラットの再生肝における脂質代謝と, それにおよぼす脂肪乳剤投与 (10ml/kg) の影響を, 血清脂質および肝内脂質の生化学的分析値と, 新しく考案した肝内脂質の組織化学的証明法を用いて検討してみた.

肝切除後脂肪乳剤を投与すると, 投与後早期の再生

肝では肝細胞内でも類洞内でも, 脂肪顆粒の増加傾向がみとめられ, 類洞内では凝集塊状の脂肪もみとめられた. 凝集塊状の脂肪は肝の小血管内の脂質と同じと推定されることから, それが類洞内にそのまま捕獲されたものであろうと考えられる. これらの脂質は組織化学的には TG と cholin 含有磷脂質が主であった.

このように, 脂肪乳剤の投与による一時的な高脂血症の発現は投与 3 時間後には再生肝への脂肪集積 (脂肪症) を引き起こしていることが考えられる. しかし, 肝切除後に生理食塩水を投与したラットでは高脂血症がないにもかかわらず, 同様の脂肪症が肝内に生じている. 両者の差は時間的なものであるだけで, その脂質はどちらも組織化学的に TG と cholin 含有磷脂質であり, 構成脂質に差はなかった. したがって, 肝切除後に生じる再生肝の脂肪症は脂肪乳剤投与により, その出現が早められるだけであると解される.

文献的にみると, 静脈内に投与された脂肪乳剤の処

図3 SBB染色, TG, PLおよびT-ch特殊染色の対応性. <左列>門脈域-中間帯にSBB染色陽性の肝細胞内脂肪顆粒は, TGおよびPLが陽性, T-chでもわずかに陽性. この例では血管内にもTG, PLが陽性. <右列>脂肪顆粒は, SBB染色, TG, PL特殊染色で肝小葉に瀰漫性に陽性, T-ch特殊染色では陰性, ×200

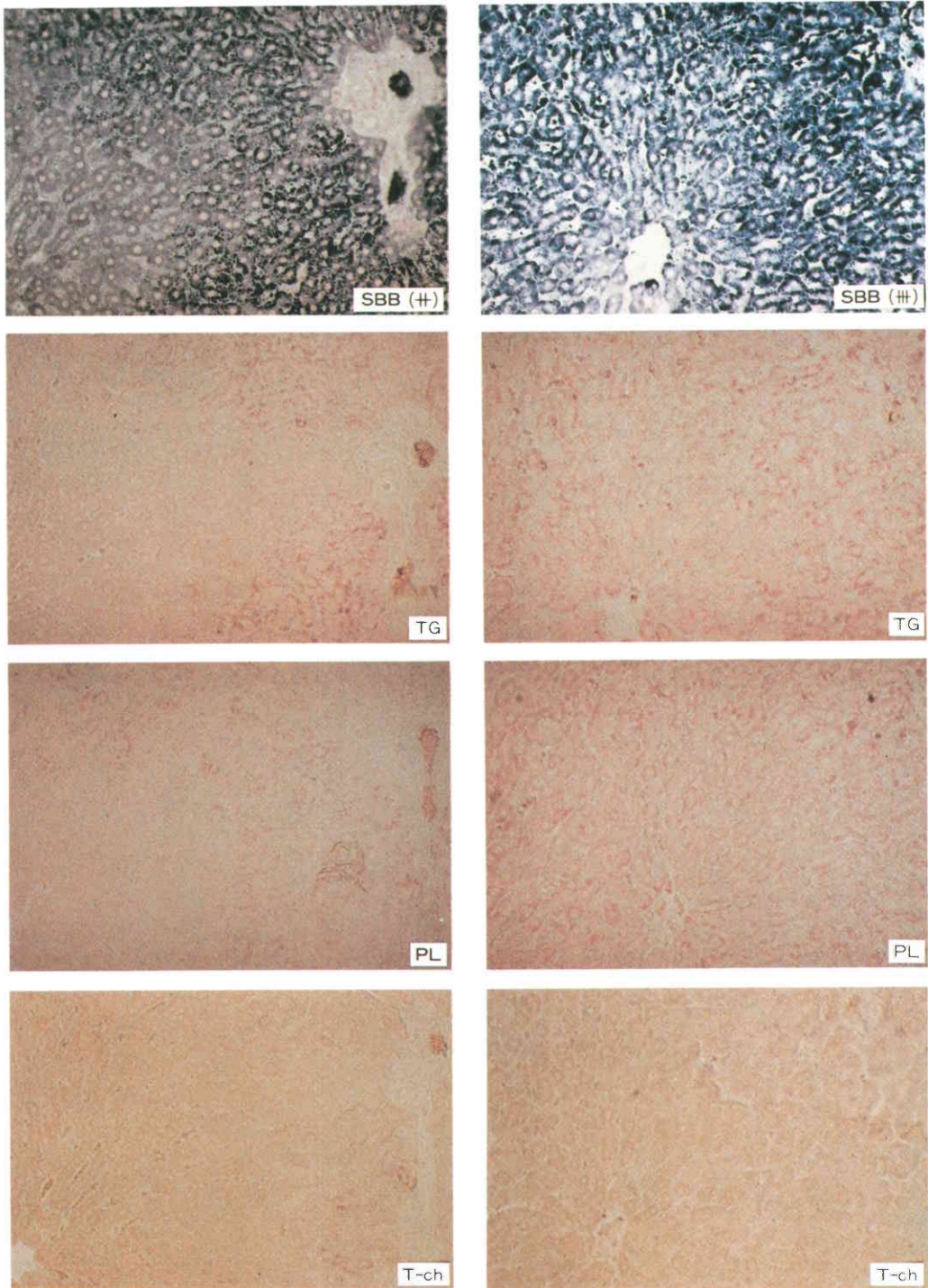
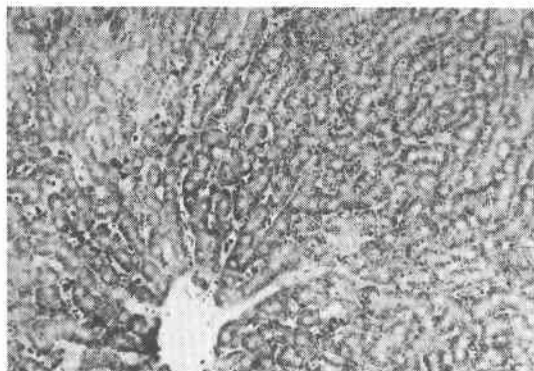


図4 肝細胞および類洞内脂肪顆粒。HFおよびHS群で3～6時間後の肝小葉。中心静脈域まで脂肪顆粒を認める。SBB染色，×200，白黒。



理には、肝では星細胞が重要との意見^{21)~26)}と反対の意見^{12)27)~29)}とがある。電顕的には脂肪粒子サイズの大きい場合には星細胞に取り込まれるとされている³⁰⁾³¹⁾。著者の成績によれば、星細胞内脂肪は肝切除後には脂肪乳剤を投与しなくても増加したから、肝切除後脂肪乳剤投与の場合のそれは必ずしも星細胞の食作用には関係しない。すなわち多くはそこで合成されたものとも考えられる。

一般に、著者の成績のごとく正常動物に脂肪乳剤を投与すると、血清TG、T-ch、PLおよびFFAなどは一過性に高値となる²⁵⁾²⁶⁾³²⁾。脂肪乳剤は血管内でchylomicronと同様の代謝をうけるとされており¹²⁾、この場合、投与された脂肪乳剤TGはlipoprotein lipaseによりFFAに水解され、FFAはエネルギー源や貯蔵脂肪となり、肝臓にも取り込まれる。肝臓に到達した脂肪粒子TGは肝実質細胞のmicrosome内にあるとされている肝triglycerid lipaseにより水解されて、同様の代謝をうけるとされている³³⁾。

正常ラットに標識脂肪乳剤を静注した実験では静注後放射能活性の肝および脾への急速な集積と、血中TGの急速な低下が認められている¹⁷⁾³²⁾³⁴⁾³⁵⁾。この場合、肝に集積した脂肪は水解されることなく類洞内に沈着した脂肪乳剤TGであると考えられている³⁴⁾³⁵⁾。そして横山ら³²⁾は脂肪乳剤10ml/kg投与ラットにおける経時的な肝脂肪濃度の測定から、脂肪乳剤静注後1時間目でのみ、TGが一過性に増加するが、PLおよびT-chの増加はないとしている。組織化学的な実験報告では、正常動物への脂肪乳剤10ml/kgの投与後には肝細胞への瀰漫性の脂肪集積はみられていな

い²⁵⁾²⁶⁾。これらの報告は著者の実験結果を支持すると考えられる。

一方、70%以上の肝切除を行ったラットでは、有糸分裂に先立って再生肝に、主にTG濃度の増加による脂肪の集積があり³⁾⁴⁾⁷⁾⁹⁾、肝内PLおよびT-ch濃度の増加は認められていない³⁾。しかし、PLへの脂肪酸の急速な組み込みは認められている⁴⁾。Johnsonら²⁾は肝切除ラットの18時間後の再生肝で、TG濃度の増加とacetate C¹⁴のinositol phosphateおよびsphingomyelinへの組み込みの増加をみとめたが、総磷脂質の増加を認めなかった。著者の成績では、2/3肝切除6時間後の再生肝で、組織化学的にTGおよびcholin含有磷脂質の増加を証明したが、T-chの増加は認められなかった。これは、脂肪質の分析結果でも同様であった。

このような、肝切除後の再生肝への脂肪集積は70%以上の肝切除の場合にのみ生じ、30%肝切除やsham手術ラットにはみられないという報告がある⁶⁾⁷⁾。これは大幅に容積の減少した肝の代謝上の過剰負荷によるものであろうと考えられている⁹⁾。この脂肪集積はリポ蛋白合成分泌能の荒廃にはよらない⁷⁾¹⁰⁾¹¹⁾。TG合成酵素活性の増加が関与するとの意見⁸⁾と、無関係とする意見³⁶⁾とがある。Bartschら³⁷⁾はTG移送の変化によるものであろうと結論している。すなわち、肝切除後には残存肝組織血流量の増加が認められており³⁸⁾、末梢組織から動員されたFFAの取り込みの増加と、肝脂肪への組み込みの増加とが再生肝の脂肪症を引き起こすと考えられている⁴⁾⁷⁾⁹⁾。一方、肝切除ラットではchylomicronを静注した場合、血清脂質の正常化が遅れている³⁹⁾⁴⁰⁾。また、正常ラットに脂肪乳剤10ml/kgを静注した時、血清FFAと肝脂肪中のFFA濃度は1時間後にのみ一過性に著増している³²⁾。これらの報告から著者の成績をみると、肝切除後の脂肪乳剤投与ラットにおける血清FFAの高値持続が再生肝の脂肪症の発現を早めていることが考えられる。

文献的には電顕上、2/3肝切除後自由に摂食させたラットでは、肝細胞内に血漿中からの脂肪顆粒の吸入作用が認められており⁵⁾、脂肪乳剤でもchylomicronでも微小な脂肪粒子は肝細胞に直接取り込まれる³⁰⁾³¹⁾。また、肝はchylomicron remnantsを、レセプターを介して取り込むことができる⁴¹⁾。さらに、単層培養肝細胞はchylomicronおよびそのremnantを競合的に取り込むことができるとされている⁴²⁾。同様のことが脂肪乳剤投与後の再生肝の脂肪集積に際して起こ

りうることも考えられよう。

以上、本研究では正常ラットの2/3肝切除直後に、脂肪乳剤10ml/kgを急速に1回静注すると、再生肝の脂質代謝にはさしたる異常を認めず、時間的に肝への脂肪集積が促進されるという結果であった。

この研究の発展の立場からみると、もし再生肝における脂肪集積が有糸分裂に必要なエネルギーと細胞の素材を提供するものであるならば、脂肪乳剤投与は肝再生に合目的な意味を持っていると言えるだろう。肝切除は臨床上種々の肝疾患の治療のために行われているものである。脂肪乳剤はまた、重要な静脈栄養源として治療に利用されているものである。今後さらに、肝切除後の脂肪乳剤投与に際して、その投与方法、肝機能や網内系への影響、障害肝切除後の投与の影響、高脂血症の意味などについて研究することが必要である。

結 語

65%肝切除ラットの再生肝における肝内脂質の変化を、新しいTG、PLおよびT-ch特殊分別染色法を用いて、組織化学的に検討した。

1) SBB染色でみると、再生肝には3時間目より脂肪顆粒が増加し、6時間目で半数の例で肝小葉に瀰漫性(脂肪症)となった。

2) 10%脂肪乳剤の投与(10ml/kg)は再生肝における脂肪症の出現を早め、6時間目では全例の肝小葉で瀰漫性となった。

3) 再生肝に増加した脂肪の構成は脂肪乳剤投与の有無に関係なく、組織化学的にみると、主にTGおよびcholin含有磷脂質であり、T-chの増加はほとんど無かった。

4) 脂肪乳剤投与後の再生肝における脂肪症の促進は、血清TGおよびFFAの高値持続が関与すると考えられた。

5) 肝組織内脂質濃度の分析値は、組織化学的な成績を支持すると考えられた。

稿を終えるに臨み、組織化学的検索に対して、終始ご指導を頂いた神戸常盤短期大学宮崎吉平教授に、謹んで感謝の意を表します。

また、肝組織内脂質の抽出定量に際し、多大なるご援助を頂いた大五栄養化学株式会社研究所伊夫丈文雄氏に、感謝の意を表します。

なお、本論文の脂質分別染色法に関する部分の要旨は第32回日本臨床病理学会総会(1985年9月、松本)にて発表した。また、肝切除と脂肪乳剤代謝に関する部分の要旨は第29

回日本消化器外科学会総会(1987年2月、名古屋)にて発表した。

文 献

- 1) Harkness RD: Changes in the liver of the rat after partial hepatectomy. *J Physiol* 117: 267—277, 1952
- 2) Johnson RM, Albert S: Glycerol-and acetate-C¹⁴ incorporation into lipids of tissues undergoing cell division. *J Biol Chem* 235: 1299—1302, 1960
- 3) Bengmark S, Olsson R, Svanborg A: Fat infiltration after partial hepatectomy. Changes in glycerides, cholesterol and phospholipids in the residual liver of the rat. *Acta Hepatosplen (Stuttgart)* 11: 276—285, 1964
- 4) Glende EA, Morgan WS: Alternation in liver lipid and lipid fatty acid composition after partial hepatectomy in the rat. *Exp Mol Pathol* 8: 190—200, 1968
- 5) Jordan SW: Electron microscopy of hepatic regeneration. *Exp Mol Pathol* 3: 183—200, 1964
- 6) Camargo ACM, Cornicelli J, Cardoso SS: Alternation in lipid content of the liver in the rat after partial hepatectomy. *PSEBM* 122: 1151—1154, 1966
- 7) Girard A, Roheim PS, Eder HA: Lipoprotein synthesis and fatty acid mobilization in rats after partial hepatectomy. *Biochim Biophys Acta* 248: 105—113, 1971
- 8) Stein TA, Burns GP, Tropp BE et al: Hepatic fat accumulation during liver regeneration. *J Surg Res* 39: 338—343, 1985
- 9) Fex G, Olivecrona T: The metabolism of ³H oleic acid in the partially hepatectomized rat. *Biochim Biophys Acta* 152: 237—243, 1968
- 10) Fex G, Olivecrona T: Secretion of triglyceride by the liver after partial hepatectomy. *Biochim Biophys Acta* 164: 424—426, 1968
- 11) Delahunty TJ, Rubinstein D: Accumulation and release of triglycerides by rat liver following partial hepatectomy. *J Lipid Res* 11: 536—543, 1970
- 12) Wretling A: Complete intravenous nutrition. Theoretical and experimental background. *Nutr Metabol* 14: 1—57, 1972
- 13) 中谷寿男, 小沢和恵, 浅野元和ほか: 肝切除後のエネルギー基質の変化に関する実験的研究. *日消外会誌* 14: 1420—1426, 1981
- 14) 芳田一宏: 脂肪乳剤のエネルギー代謝に関する実験的研究. *日外会誌* 83: 709—722, 1982
- 15) 西松信一, 大柳治正, 笠原 宏ほか: 硬変肝切除前後の代謝の変動について. *静脈経腸栄養研究会誌* 1: 34—35, 1986
- 16) 北見義輝, 西川裕子, 井上健三ほか: 酵素法による中性脂肪, 総コレステロールおよびリン脂質の組

- 織化学的証明法, 病理と臨 5: 237-241, 1987
- 17) 日笠頼則, 谷村 弘, 里村紀作: 静脈内に投与された脂肪の代謝. 総合臨 25: 1257-1267, 1976
 - 18) Higgins GM, Anderson RM: Experimental pathology of the liver. I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. Arch Pathol 12: 186-202, 1931
 - 19) Folch J, Lees M, Stanley SGH: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 226: 497-509, 1957
 - 20) Allen RJL: The estimation of phosphorus. Biochem J 34: 858-865, 1940
 - 21) Murray RG, Freeman S: The morphologic distribution of intravenously injected fatty chyle and artificial fat emulsion in rats and dogs. J Lab Clin Med 38: 56-69, 1951
 - 22) Izukura T: Histochemical studies on intravenously administered fat emulsion. With special reference to differences in the metabolic process of various infused fatty substances. Arch Jpn Chir 26: 215-235, 1957
 - 23) 中村庸一: 開腹術後早期の脂質吸収に関する研究. 日消病会誌 61: 1-16, 1964
 - 24) 平澤博之, 小林 進, 伊藤 靖ほか: 細網内皮系 (RES) 食食能検査とその臨床上の意義. 救急医 9: 811-820, 1985
 - 25) 木村信良, 山田栄一: 静注用脂肪乳剤 (Intrafat) に関する研究. 第3報. Intrafat 補給後の各臓器の組織化学的検索. 診断と治療 58: 123-130, 1970
 - 26) 久保宏隆: 経静脈的脂質補給の生体に与える影響に関する実験的ならびに臨床的研究. 慈恵医大誌 92: 58-76, 1977
 - 27) Waddell WR, Gayer RP, Clarke E et al: Function of the reticuloendothelial system in removal of emulsified fat from blood. Am J Physiol 177: 90-94, 1954
 - 28) Scow RO: Transport of triglycerides: Its removal from blood circulation and uptake by tissue. Edited by Meng HC and Law DH: Parenteral Nutrition. Springfield, Ill. Thomas, 1970, p294-337
 - 29) 森 寛司, 入山圭二, 寺西 正ほか: 脂肪乳剤 (intrafat) を用いた網内系機能検査に関する一考察. 外科 44: 418-419, 1982
 - 30) Aschworth CT, DiLuzio NR, Riggi SR: A morphologic study of the effect of reticuloendothelial stimulation upon hepatic removal of minute particles from the blood of rats. Exp Mol Pathol 1: 83-103, 1963
 - 31) Rahman YE, Cerny EA, Patel KR et al: Differential uptake of liposomes varying in size and lipid composition by parenchymal and Kupffer cells of mouse liver. Life Sci 31: 2061-2071, 1982
 - 32) 横山和正, 大柳治正: 静注用脂肪乳剤イントラリポス10%の代謝. イントラリポス文献集. 大阪, 医学書房, 1981, p2-8
 - 33) 藤井節郎, 池田康行: カイロミクロン (Chylomicron) 代謝における肝リパーゼと LPL の役割. 藤井節郎, 山本 章編. 高脂血症, リポ蛋白代謝とその異常. 東京, 医歯薬出版, 1982, p164-183
 - 34) Belfrage R, Edgren B, Olivecrona T: The tissue distribution and metabolism in the rat of intravenously injected labeled fat emulsions. Acta Physiol Scand 62: 344-351, 1964
 - 35) Yokoyama K, Okamoto H, Tsuda Y et al: Metabolism of intravenously injected fat emulsions. Acta Chir Scand 466: 54-55, 1975
 - 36) Mangiapane EH, Lloyd-Davies KA, Brindley DN: A study of some enzymes of glycerolipid biosynthesis in rat liver after subtotal hepatectomy. Biochem J 134: 103-112, 1973
 - 37) Bartsch GG, Gerber GB: Incorporation of acetate-1-¹⁴C into lipids by the perfused liver of normal, X-irradiated, or partially hepatectomized rats. J Lipid Res 7: 204-209, 1966
 - 38) Menyhárt J, Simon L: Circulatory events accompanying liver regeneration following partial hepatectomy. Acta Physiol Acad Sci Hung 30: 169-174, 1966
 - 39) Olivecrona T, George EP, Borgstrom B: Chylomicron metabolism. Fed Proc Fed Am Soc Exp Biol 20: 928-933, 1961
 - 40) Belcher JD, Rudel LL, Waite M: Metabolism of radiolabelled chylomicron lipids in intact and hepatectomized rats. Comp Biochem Physiol 81B: 87-96, 1985
 - 41) Brown MS, Goldstein JL: Lipoprotein receptors in the liver. Control Signals for plasma cholesterol traffic. J Clin Invest 72: 743-747, 1983
 - 42) Nilsson Å, Ehnholm C, Florén CH: Uptake and degradation of rat chylomicron remnants, produced in vivo and in vitro, in rat hepatocyte monolayers. Biochim Biophys Acta 663: 408-420, 1981