日消外会誌　22（7）：1778～1782，1989年

ラット90%肝切除後の残存肝におよぼす内因性エンドトキシンの影響に関する実験的研究

琉球大学第1外科
川崎　康彦　宮良球一郎　伊佐　勉
本馬　周淳　武藤　良弘
同　検査部
戸田　隆義

INFLUENCE OF ENDOGENOUS ENDOTOXIN ON THE RESIDUAL LIVER FUNCTION FOLLOWING 90% HEPATECTOMY IN RATS

Yasuhiko KAWASAKI, Kyuichiro MIYARA, Tsutomu ISA, Kaneatu HONMA, Yosihiro MUTOU and Takayosi TODA*
The First Department of Surgery and *Clinical Laboratory
Ryuukyuu University, School of Medicine

90%肝切除後の残存肝におよぼす内因性エンドトキシンの影響を検討するために，ラットを用い硫酸ポリミキシンB投与群と非投与群に分け肝切除を行った．1週以上生存率は，投与群は90%であったが，非投与群は71.4%であった．血中エンドトキシン量は肝切除1日後が最高で，投与群は16.0±3.3pg/ml，非投与群30.8±8.9pg/ml（$p<0.05$）であった．動脈血中ケトン体比は，肝切除3日後に投与群0.43±0.06，非投与群0.29±0.09（$p<0.05$）であった．残存肝では組織学的に，3日目に小葉中心性凝固壊死を多数みとめ，非投与群に著明であった．この成績より，内因性エンドトキシンによる残存肝障害が示唆された．

索引用語：90%肝切除後肝再生，内因性エンドトキシン，シュワルツマン反応，血中ケトン体比

はじめに

現在では，ヒト非硬変肝は3区域まで安全に切除できるようになったが，1975年 Starzle ら[1]の85～90%肝切除を行った1例報告以来，3区域より広範囲の超拡大肝切除の安全性は確立されてなく，現実的には80%以上肝切除は不可能であると考えられている．しかし，一方では超拡大肝切除を可能にすることは肝癌の根治性を高めるためには重要であると考える．このような考えで筆者らは，実験的にラットを用いて超拡大肝切除（90%肝切除）に取り組んで来た．

肝切除後の肝不全発生原因として，エンドトキシン（以下ETと略す）による臓器性 Shwartzman 反応の関与[2]が報告されているが，超拡大肝切除では残存肝が極めて少ないために，腸管内に存在する内因性ETが残存肝単位重量当りに流入する量は著増し，高ET状態になることが考えられる．そこで，超拡大肝切除後の肝不全発生原因の1つとして内因性ETの関与の有無を検討する目的で下記の実験を行った．

＜1989年3月8日受理＞別刷請求先：川崎　康彦
〒903-01　沖縄県中頭郡西原町字上原207　琉球大学医学部第1外科

実験および方法

実験I

90%肝切除後の生存率を内因性ETを硫酸ポリミキシンB（以下PLと略す）にて抑制した場合と抑制しなかった場合とで比較するため次の実験を行った．

Wistar 系雄性ラット（体重220～283g）を，PL非投与群（A群，平均体重245±18g, n=21），投与群（B群，247±18g，n=20）の2群に分けた．

A, B群とも術前夜より絶食とし，20%ブドウ糖液を自由に飲水させた．B群では，ブドウ糖液内にPL 6.25万単位/匹/日を混入した．翌日午後エーテル麻酔下に

90%（89.1±0.9%，n=9）肝切除を行い，術後3日間は20%ブドウ糖液と固形飼料（日本クレアCE-2）を与えた．この間，B群ではPL 6.25万単位/匹/日をブドウ糖液内に混入した．両群とも術後4日目以降はブドウ糖液を中止し，水と固形飼料を投与し，B群ではPLの投与を中止した（図1）．

90%肝切除はエーテル麻酔下に約6cmの腹部正中切開を加え，Gaubらの方法[3]に従い尾状葉だけを残した．手術操作に伴う外因性ETの影響をなくすためセフォペラゾンナトリュウム50mgを蒸留水1mlに溶解し，腹腔内に散布後閉腹した．

実験II

90%肝切除後の血中ET量および残存肝障害の程度を経時的に観察するために，次の実験を行った．

実験Iと同様に，A群（平均体重254±18g，n=28），B群（245±13g，n=28）に90%肝切除を行った．術前後処置も実験Iと同様に行った．A, B群の他に，control群として，C群（260±14g，n=24）に70%肝切除を行った．C群は手術前夜絶食とし水を飲水させ，翌日午後Higgins & Andersonの70%肝切除[4]後，腹腔内にセフォペラゾンナトリュウム50mgを散布した．術後は水と固形食を投与した（図1）．

A, B, C群とも，それぞれ肝切除前および肝切除1，2，3，5，7日後，4～5匹ずつエーテル麻酔下に再開腹し，腹部大動脈より4mlヘパリン採血を行った．

図1　実験方法

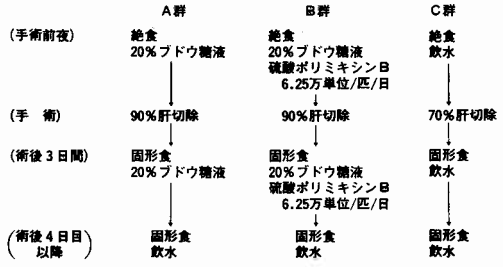
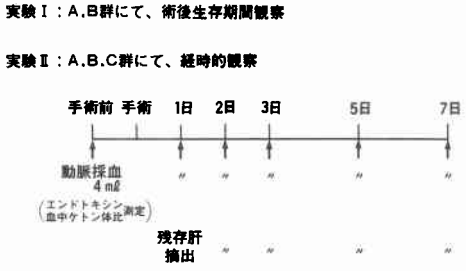


図2　実験計画



採取した血液はET量測定に1ml，ケトン体比測定に3ml供した．残存肝を摘出し，10%ホルマリン液にて固定した（図2）．

ET量はトキシカラーテスト（生化学工業株式会社）を使用し，比色法にて測定した．ケトン体比はケトレックス三和（三和化学研究所）にて測定した．残存肝は10%ホルマリン液固定後HE染色を行い，光顕にて観察した．

測定値はMean±SDで示し，t検定，χ^2検定にて統計学的検討を行った．

結　果

実験1

生存率は，90%肝切除後A群では3日以内に28.6%のラットが死亡し，1週間以上生存率は71.4%であった．B群では5日以内に10%が死亡し1週間以上生存率は90%であった．しかし，両群の生存率に有意差は認めなかった（図3）．

実験2

動脈血中ET量の経時的変化は，肝切除前および1，2，3日後それぞれ，A群4.0±1.1pg/ml，30.8±8.9

図3　90%肝切除後生存率

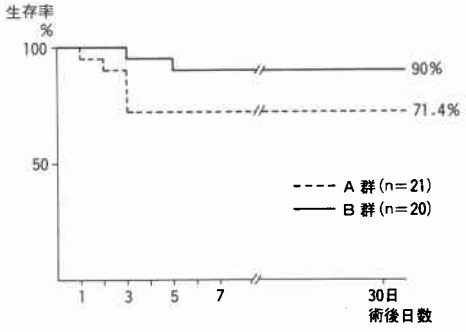
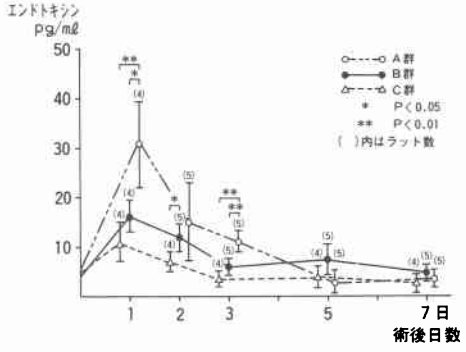


図4　血中エンドトキシン量の術後変動



pg/ml, 15.0±8.4pg/ml, 10.7±2.1pg/ml, B群3.7±1.4pg/ml, 16.0±3.3pg/ml, 11.7±2.7pg/ml, 5.8±1.3pg/mlで，肝切除1日後（$p<0.05$）および3日後（$p<0.01$）に，A群がB群より有意に高値であった．C群はPL非投与にもかかわらず，肝切除後血中ET量はA群B群よりも低く，肝切除1日後11.0±4.2pg/ml（対A群 $p<0.01$），2日後6.8±1.8pg/ml（対B群 $p<0.05$），3日後3.5±1.6pg/ml（対A群 $p<0.01$）であった．3群とも肝切除1日後が最もET量は高く，以後漸減している．PL中止後，ET量は逆にB群がA群より高い傾向を示した（図4）．

動脈血中ケトン体比の経時的変化をみると，肝切除前および1，2，3日後それぞれ，A群：0.80±0.01, 0.42±0.15, 0.48±0.09, 0.29±0.09, B群：0.83±0.11, 0.57±0.14, 0.58±0.10, 0.43±0.06で，A群はB群より低く3日後に有意差（$p<0.05$）を認めた．両群とも動脈血中ケトン体比は肝切除3日後が最も低く，また，PL中止後はA群がB群より高い傾向を示した．C群では，肝切除後動脈血中ケトン体比の変動は少なく，術前および術後1，2，3日後はそれぞれ0.84±0.1, 0.80±0.17, 0.83±0.15, 0.72±0.1と，A, B群より有意に高値を示した（図5）．

残存肝の組織像は肝切除3日後に明瞭な変化が認められた．壊死は小葉中心部から中間帯にかけて凝固壊死が多数見られ(図6)，壊死部およびその辺縁に出血を伴っているものも認められた．3日目に死亡した症例では小葉中心性凝固壊死の程度が高度で，範囲が広く，門脈細枝に血栓を形成しているものが認められた（図7）．生存例でも程度は軽いものの同様の所見が認められ，また，PL非投与例により高度に認められた．肝切除5日後の残存肝は一部に肝壊死像が限局して残っていた．

図5　動脈血中ケトン体比の術後変動

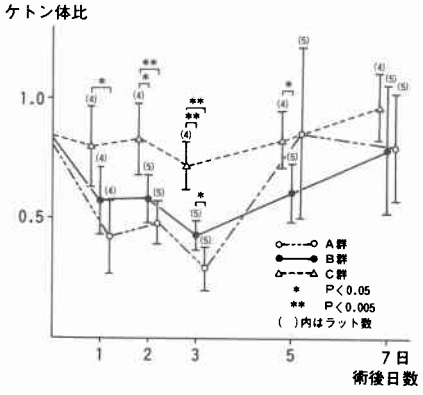


図6　肝凝固壊死像．中心性凝固壊死像が広範囲にみられる．（上：HE×10，下：HE×50）

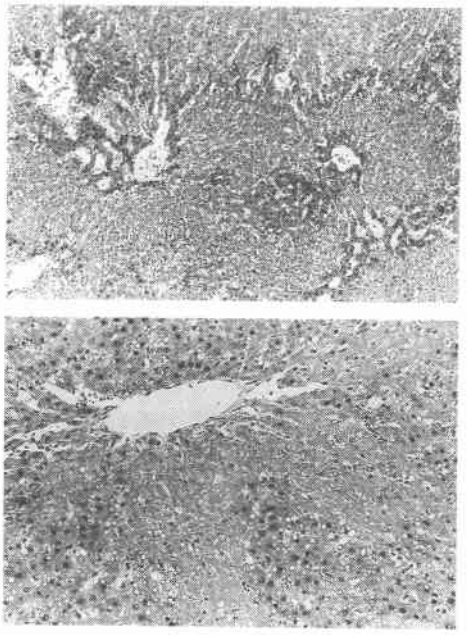
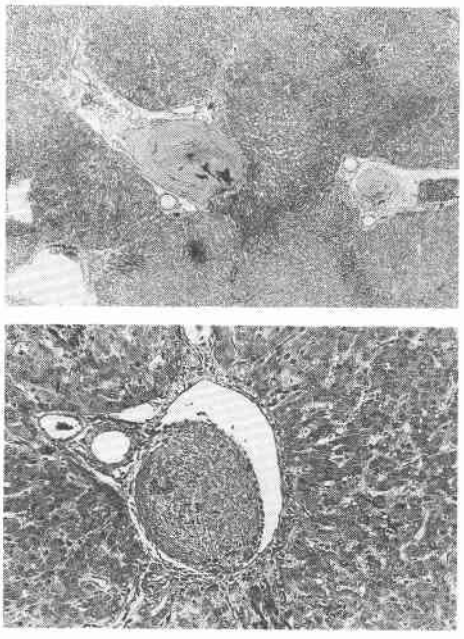


図7　肝血栓像．門脈枝に血栓形成がみられる．（上：HE×10，下：HE×50）



考　察

動物実験での超拡大肝切除については，1971年 Tuc-

zek ら[5]がラットで90%肝切除を行い，40時間以内に残存肝は再生を生じることなく全例死亡したと報告している．その後，1982年 Gaub らはラットの90%肝切除後，ブドウ糖を投与しないと急速に低血糖になり，24時間生存率は30%にしか過ぎないが，20%ブドウ糖を自由に与えると86%生存したと報告し，さらに，1982年 Vic ら[6]がラットで90%肝切除前にテストステロンを投与すると80%が40時間以上生存し，50%が長期生存したと報告している．これらの実験成績により，ラットでは10%の残存肝で再生が生じ，生存しえることが示された．

肝再生は再生を促進する因子と抑制する因子の両方の作用を受けるが，ET や残存肝の overwork などの肝障害因子も再生抑制因子として作用する．残存肝が極めて少量になると，これら肝再生抑制因子の作用が増強されることになり，肝再生を生じえなくなると考えられる．肝再生抑制因子と考えられる内因性 ET は，通常腸内に存在し，正常では全く問題とならないが[7]，残存肝が10%となると，単位肝重量当たりに流入して来る内因性 ET 量は著増することになり，この結果肝障害が引き起こされると想定される．今回筆者らが行った肝切除で，70%肝切除では肝切除1日後に動脈血中 ET 量は11.0±4.2pg/ml であったが，肝切除量を90%に増加すると ET は，30.8±8.9pg/ml と有意に上昇した（$p<0.01$）．しかし，グラム陰性桿菌に殺菌的に作用し，界面活性効果にて ET も不活化するといわれている PL を投与した群では[8]，90%肝切除であっても肝切除1日後の ET 量は16.0±3.3pg/ml と，70%肝切除と有意差を認めなかった．

この ET 量による残存肝障害の差をみるために，肝障害の程度を肝細胞の energy charge と良く相関すると考えられている動脈血中ケトン体比にて検討してみると[9)~11]，70%肝切除では肝切除後常に0.7より高い値を示していた．一方，90%肝切除では70%肝切除に比べ，著明な血中ケトン体比の低下を認め，術後3日目が最低値を示した．同じ90%肝切除でも PL を投与したB群では術後3日目に血中ケトン体比0.43±0.06であるのに比べ，PL 非投与のA群では0.29±0.09と有意（$p<0.05$）の低下を認め，これにより90%肝切除では内因性 ET によって残存肝障害を生じることが示唆された．90%肝切除B群では肝切除4日目から PL を中止したが，5日目ではB群がA群よりも動脈血中 ET 量が高く，また，これに呼応して動脈血中ケトン体比は低下傾向を示していた．これは，PL 中止後吸収される内因性 ET 量が増加したための rebound と考えられる．

ET の肝障害機序について臓器型 Shwartzman 反応[2]や，Kupffer 細胞より産出される superoxide が関与することが[12)13]報告されている．90%肝切除後，経時的に残存肝を摘出して光顕的に観察してみると，肝切除3日目に小葉中心性の凝固壊死が多数散在し，壊死部およびその辺縁に出血を伴い，死亡例では壊死が高度かつ広範囲に認められ，門脈細枝に血栓を認めた症例もあった．この肝病変の像は Shwartzman 型肝壊死像と一致するものであった．他方，PL 投与例は，これらの所見が非投与例に比べ軽度であった．肝壊死の所見が肝切除3日後に最も著明であることは，肝切除3日後に動脈血中ケトン体比が90%肝切除では最低値を示し，また，術後死亡が術後3日目に最も多かったのと一致している．Zieve ら[14]は，67～78%肝切除では細胞分裂は24時間後にピークを示すが，80～90%肝切除では4日後にピークを示したと報告している．この細胞分裂がピークに達するまでの期間は障害を受けやすく，今回の実験で，90%肝切除後3日目が最も死亡率が高く，小葉中心性壊死が高度であったことと一致していた．

以上の実験成績より，90%肝切除では，内因性 ET による残存肝障害が示唆された．

結　語

ラットを用いて残存肝におよぼす内因性エンドトキシンの影響を検討するために90%肝切除を施行し，下記の結果を得た．

（1）肝切除1日後に動脈血中エンドトキシン量は最高値を示し，硫酸ポリミキシンB非投与群では30.8±8.9pg/ml，硫酸ポリミキシンB投与群では，16.0±3.3pg/ml と有意差（$p<0.05$）を認めた．

（2）90%肝切除後3日後に，動脈血中ケトン体比は最低値を示し，硫酸ポリミキシンB非投与群では0.29±0.09，投与群では0.43±0.06と有意差（$p<0.05$）を認めた．

（3）90%肝切除後3日目に，残存肝に小葉中心性の凝固壊死像を多数認めた．門脈細枝に血栓を形成した症例も認められた．

稿を終えるに臨み，御指導を賜った琉球大第1外科正義之名誉教授に深謝の意を捧げます．

文　献

1) Starzl TE, Putnam CW, Groth CG et al: Alopecia, ascites, and incomplete regeneration

after 85 to 90 per cent liver resection. Am J Surg 129：587—590, 1975

2) 白井睦訓, 志賀淳治, 森　亘ほか：肝部分切除後の急性肝壊死発生機序に関する実験的検討. 肝臓 26：1465—1471, 1985

3) Gaub J, Iversen J：Rat liver regeneration after 90% partial hepatectomy. Hepatology 4：902—904, 1984

4) 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

5) Tuczek HV, Rabes H：Verlust der Proliferationsfahigkeit der Hepatozyten nach subtotalen Hepatektomie. Experientia 27：526, 1971

6) Vic P, Saint-Aubert B, Astre C et al：Complete liver regeneration in one-stage 90% hepatectomized rats treated with testosterone. Hepatology 2：247—248, 1982

7) 多羅尾和郎：エンドトキシンと肝障害. 医のあゆみ 136：1158—1163, 1986

8) 多羅尾和郎：腸内細菌とエンドトキシン. 肝胆膵 12：587—593, 1986

9) Ozawa K, Fujimoto T, Nakatani T et al：Changes in hepatic energe charge, blood ketone body ratio, and indocyanine green clearance in relation to DNA-synthesis after hepatectomy. Life Sci 31：647—653, 1982

10) Ukikusa M, Ozawa K, Shimahara Y et al：Changes in blood ketone body ratio Their significance after major hepatic resection. Arch Surg 116：781—785, 1981

11) 小澤和恵：肝臓外科における Redox 理論の提唱とそれに準じた治療対策の確立. 日外会誌 84：753—757, 1983

12) Keller GA, West MA, Cerra FB et al：Current research review macrophage-mediated modulation of hepatic function in multiple-system failure. J Surg Res 39：555—563, 1985

13) 有井滋樹, 門田一宣, 板井茂行ほか：クッパー細胞とフリーラジカル. 肝胆膵 16：223—230, 1988

14) Zieve L, Anderson WR, Lindblad S：Course of hepatic regeneration after 80% to 90% resection of normal rat liver Comparison with two-lobe and one-lobe hepatectomy. J Lab Clin Med 105：331—336, 1985