日消外会誌　26（2）：193～202，1993年

原　著

In vivo 低温肝灌流後の肝阻血障害に対する Co-enzyme Q_{10} ならびに Ulinastatin の細胞保護効果に関する検討

兵庫医科大学第1外科
古川　一隆　　山中　若樹　　岡本　英三

Co-enzyme Q_{10}（CoQ_{10}），Ulinastatin（U）の肝冷阻血障害に対する細胞保護効果を，雑種成犬を用いた生体内肝低温灌流モデルを用いて検討した．対照群（薬剤非投与 n＝7），CoQ_{10}群（阻血1時間前10mg/kg iv，n＝5），U群（阻血1時間前5万 U/kg iv，n＝5）の3群間で，肝機能および形態的変化を比較した．血行再開後 Glutamic oxaloacetic transaminase 値，β-glucuronidase の逸脱酵素の上昇は3群間で差はなかったが，mitochondrial GOT 値の上昇はU群で抑制された（$p<0.05$）．$ICGR_{15}$は，再灌流6時間後はCoQ_{10}群，とくにU群（$p<0.05$）で改善が認められた．形態的にもCoQ_{10}群，とくにU群で再灌流後の肝細胞質，mitochondria 面積の増加，類洞内皮細胞の配列の乱れおよび Disse 腔側微絨毛の減少が抑制されていた．以上より，CoQ_{10}ならびに Ulinastatin 阻血前投与は冷阻血障害に対する細胞保護効果を有すると結論できる．

Key words: liver ischemia, cold perfusion, cytoprotection, co-enzyme Q_{10}, ulinastatin

はじめに

移植肝の早期 viability を左右する主要因子には，手術手技上の問題を除外すると，摘出前の donor 肝機能，摘出から移植後血行再開までの阻血障害，血行再開後の再灌流障害があげられる．これらは移植肝に10％の割合で発生する primary non-function の要因を形成している[1]．この阻血中から血行再開後に発生する一連の虚血障害を軽減する手段には，阻血時間を短縮することのほかに阻血耐用性を増すべく細胞保護剤を投与することが考えられる．移植モデルを用いた場合，早期移植肝機能には手技的な問題，保存時間，拒絶反応などの要素が交錯して影響するため，阻血に対する薬剤による細胞保護効果のみを個別にとりあげて検討することは困難である．本研究は，肝摘出から血行再開に至るまでの冷阻血障害および再灌流障害に対する細胞保護効果を上記した種々の因子の修飾を排除すべく，生体内選択的肝低温灌流モデルを用いて，Co-enzyme Q_{10}（以下 CoQ_{10}）および Ulinastatin の阻血障害に対する細胞保護効果を検討した．

I．対象および方法

1．実験動物

実験動物は，24時間絶食した体重15～20kg の雑種成犬を用い，ketamine hydrochloride 30mg/kg 筋注後，調節呼吸下に以下の実験を行った．

2．手術手技

大腿動脈血圧のモニター下に開腹した．Y 字型連結管を用い左頸静脈と左股静脈ならびに脾静脈間に遠心ポンプ（Bio-pump® Bio-Medicus, Inc）を設置しバイパスを作成した．次いで小網ならびにすべての肝靱帯を切離し，固有肝動脈，門脈おのおのにテープをかけ，さらに横隔膜直下肝上部下大静脈，肝下部下大静脈にテープをかけた．門脈本幹には腸間膜静脈経由で灌流用チューブを左右門脈分岐部直前に留置した．まず，バイパスを作動（流量40ml/kg/min）し，肝血行を肝下部下大静脈，肝上部下大静脈の順に遮断し，4℃ lactate Ringer 液で肝冷却灌流しつつ，60分間の肝阻血を行った．なお肝下部下大静脈にはチューブを挿入し灌流液の排液経路とした．4℃ lactate Ringer 液は1,500ml を80cmH_2O の落差圧で灌流した．阻血中の肝深部温は，左内側葉に針型温度計を1cm 穿刺し連続的にモニターした．血行再開直前には sodium bicarbonate（7w/v％）20ml，methylprednisolone sodium succinate 25mg を静注し，肝動脈，門脈，下大静脈の順に血行を再開させた．

3．実験群

＜1992年11月11日受理＞別刷請求先：古川　一隆
〒663　西宮市武庫川町1－1　兵庫医科大学第1外科

阻血中の肝深部温が20℃前後まで低下し，かつ肝全域が均等に灌流された症例のみを灌流良好例とし，それを以下の3群に分けた．すなわち阻血前細胞保護剤無投与例をcontrol群（以下C群n=7），CoQ_{10}（エーザイ株式会社，東京）を阻血1時間前に10mg/kg静注したものをCoQ_{10}群（n=5），Ulinastatin（持田製薬株式会社，東京）を阻血1時間前に5万単位/kg静注したものをUlinastatin群（以下U群n=5）とした．

4．検査項目

1）生化学検査

ICG検査（0.5mg/kg 15分停滞率$ICGR_{15}$）は開腹時，血行再開後1および6時間まで，Glutamic oxaloacetic transaminase（GOTIU/l），Glutamic pyruvic transaminase（GPT IU/l），m-GOT（IU/l），β-glucuronidase（U/dl以下β-gl.），総胆汁酸（NMOL/ml），乳酸（mg/dl）はさらに経時的に1週まで測定した．CoQ_{10}群では，広島らの方法[2]でCoQ_{10}組織内濃度を投与前後で測定した．

なおICG 15分停滞率は比色法，GOT，GPTはUV法，総胆汁酸は3α-HDS比色法，m-GOTはprotease法，β-gl.は延永変法[3]，総胆汁酸は3α-HDS比色法，乳酸は酵素法にて測定した．

2）形態学的検査

肝生検を阻血前と血行再開後1時間において右中葉で施行し，光顕および電顕材料に供した．画像解析装置Quantimet 720 system 20（Cambridge）ならびにCIR-300（IBAS）を用い以下に述べる形態計測を行った．

光顕計測は，250倍率のHE染色標本を用い1標本当たり計500個（各群約2,500個）の細胞面積を阻血前後おのおのにおいて無作為に計測した．電顕は検体をglutaraldehyde・osmium tetroxideで二重固定し，uranium・鉛で二重染色後，類洞並びに肝細胞を観察した．さらに，肝細胞mitochondriaについては1万倍の倍率写真を用い，1標本あたり計400個（各群2,000個）のmitochondria面積を電顕計測した．形態学的検索はすべて肝小葉Zone 2を対象として行った．

3）統計学的分析

得られた結果は平均値（M）±標準偏差（SD）で表し，有意差検定はStudent's t testを用い，危険率5％以下をもって有意とした．

II．成　　績

1．肝深部温度の推移

左内側葉で測定した肝深部温は，灌流前の38℃から灌流開始後25分で，平均19℃にまで低下し，以後20℃前後で推移した（**Fig. 1**）．

2．CoQ_{10}肝組織内濃度

CoQ_{10}組織内濃度は，投与前では平均0.63±0.19μg/mg protein，投与後1時間で約2倍以上の平均1.63±

Fig. 1　Time course of liver tissue temperature during cold perfusion.

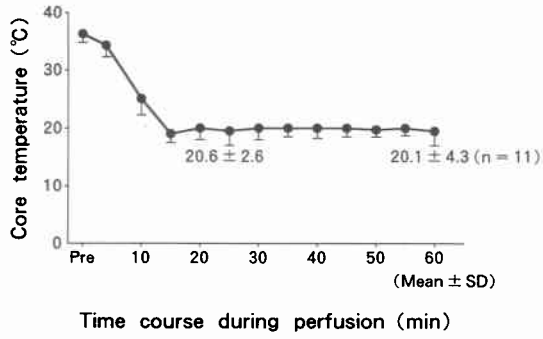


Fig. 2　Changes in the CoQ_{10} concentrations in the liver tissue after intravenous administration of CoQ_{10}.

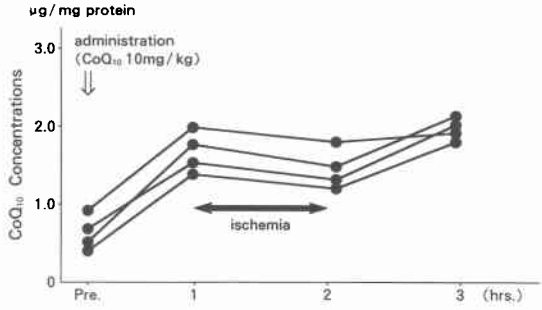
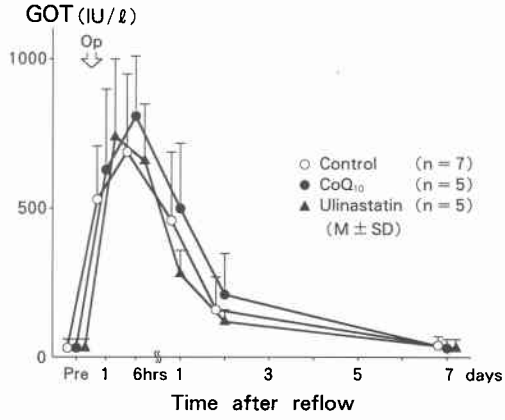


Fig. 3　Changes in serum GOT after ischemia.



0.21μg/mg protein に上昇し，さらに投与後2時間の血行遮断中においても低下は認められなかった（**Fig. 2**）.

3. 逸脱酵素，総胆汁酸，乳酸の推移

GOT 値は，C群では再灌流後6時間で最高値696±287IU/l に達し1週で前値に復した．CoQ_{10}群，U群では，C群と同様に1～6時間後に最高値を示し，1週でほぼ前値に復した．3群間の最高値に有意差は認められなかった（**Fig. 3**）．Mitochondria 由来の逸脱酵素である m-GOT は，C群では1病日に最高値85±33 IU/l を示し，以後低下し1週で前値に回復した．CoQ_{10}群では最高値に達した時期はC群より早く再灌流後6時間であったが，最高値はC群との間に有意差は認められなかった．一方，U群はCoQ_{10}群と同様再灌流後6時間で最高値を示したが，その値は57±17 IU/l と他の2群に比べて有意($p<0.05$)に低値を示した（**Fig. 4**）.

Lysosome 逸脱酵素である β-gl. は，C群では再灌流後6時間で最高値4,114±803U/dl に達し，以後2病日に最低値1,774±976U/dl となりその後再び増加した．CoQ_{10}群，U群ともにC群と同様の推移を示し，いずれの時期においても3群間に有意差は認められなかった（**Fig. 5**）.

血中総胆汁酸は，3群ともに再灌流後1時間で最高値を示し，ほぼ第1病日に前値に復した．最高値はC群で41±5mg/dl と最も高く，次いでU群，CoQ_{10}群の順であった．C群とCoQ_{10}群間には最高値に有意差($p<0.05$)がみられ，さらに6時間後ではU群がより良好な回復を示した（**Fig. 6**）.

乳酸は，3群ともに再灌流後1時間で最高値に達し，以後低下し第1病日に前値に復した．最高値はC群，

Fig. 4 Changes in mitochondrial GOT after ischemia.

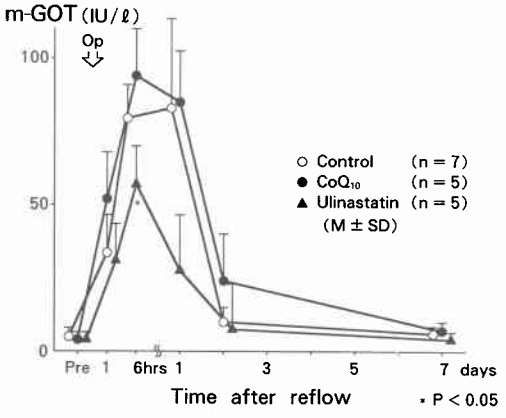


Fig. 5 Changes in β-glucuronidase after ischemia.

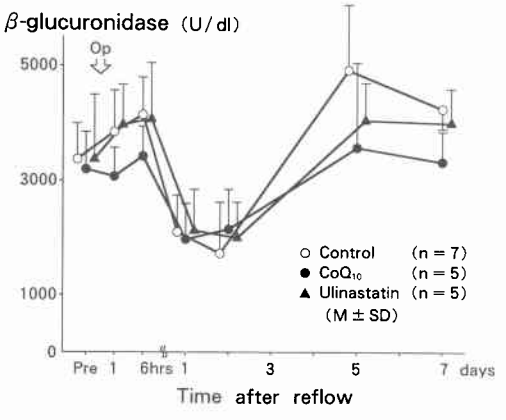


Fig. 6 Changes in total bile acid after ischemia.

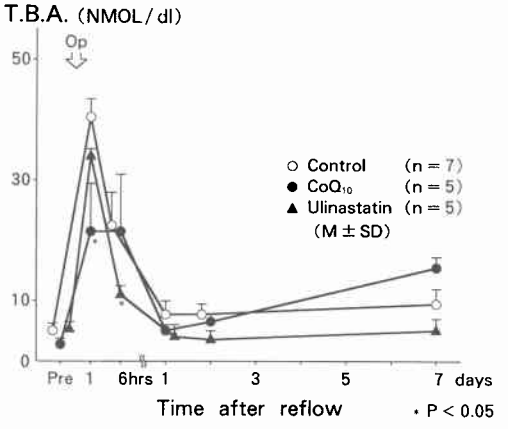
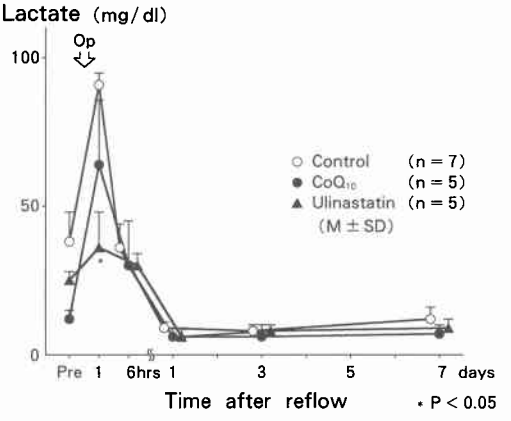


Fig. 7 Changes in Lactate after ischemia.

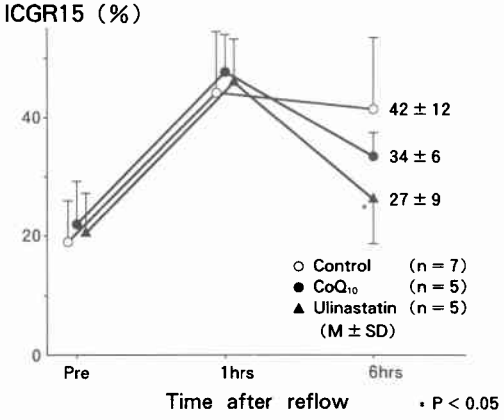


CoQ_{10}群，U群の順に高く，C群とU群間には有意差（$p<0.05$）がみられた（**Fig. 7**）.

4. $ICGR_{15}$の推移

$ICGR_{15}$は，C群は前値20±7％に対し，再灌流後1時間で44±12％と悪化し，6時間後でも42±12％と改善は認められなかった．CoQ_{10}群は前値23±8％に対し，再灌流後1時間は47±6％とC群と同程度に悪化したものの，6時間後には34±6％と有意差はないがC群に比較し改善を認めた．U群は再灌流後1時間では47±7％と他の2群と同様に悪化したが，6時間後では27±9％とC群に比較して有意（$p<0.05$）に改善した（**Fig. 8**）.

Fig. 8　Changes in Indocyanine green retention rate after ischemia.



5. 光顕像

光顕像では，阻血前に対し再灌流後1時間後のC群では肝細胞索の乱れ，細胞質の淡明化および腫大を認め，また空胞化も散見され，CoQ_{10}群でも，その程度はやや軽いもののC群と同様の所見であった．一方，U群ではC群およびCoQ_{10}群に比較して，肝細胞構築や個々の細胞形態はよく保たれていた（**Fig. 9**）.

6. 肝細胞面積

肝細胞面積の分布曲線を3群間で比較した（**Fig. 10**）．縦軸は細胞数，横軸は細胞面積（μm^2）である．C群では，阻血後は阻血前に比べ細胞面積の増大した細胞が増加し分布曲線は右方へ移動した．CoQ_{10}群では，分布曲線は右方へ移動したが，C群に比較するとその程度はやや軽度であった．一方，U群では，阻血後における右方への分布曲線の移動は他の2群に比べて明らかに少なかった．阻血前と阻血後の細胞面積の平均値を3群で比較すると，CoQ_{10}群ではC群に比べ，U群はC群，CoQ_{10}群に比べて，細胞面積の増加は有意（$p<0.01$）に抑制されていた（**Table 1**）.

7. 電顕像

阻血前では，類洞内皮細胞は整然と配列し，細胞相

Fig. 9　Histological findings of the liver before and after 1 hour ischemia. (HE×100)

A. Preischemia. B. Control group after 1 hour ischemia. C. CoQ_{10} group after 1 hour ischemia. D. Ulinastatin group after 1 hour ischemia.

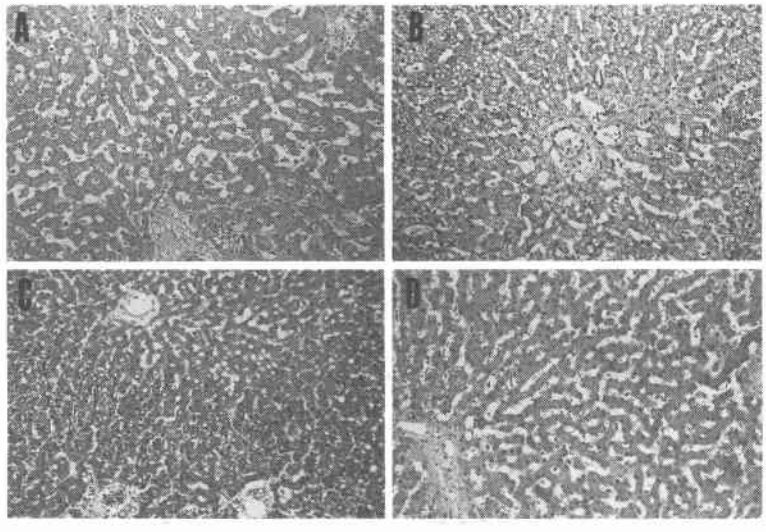


Fig. 10 Distribution curve of the size of hepatocytes before and after 1 hour ischemia.

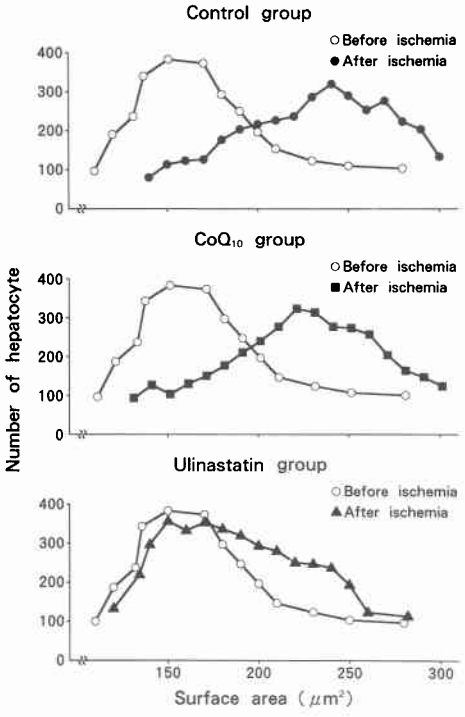


Table 1 Mean size of hepatocytes before and after 1 hour ischemia

Group	Cell size (μm^2)	
	Preischemia	1 hr after reflow
C	187±19.4	256±24.9 **
CoQ_{10}	192±21.6	231±26.1 **
U	190±18.1	196±17.4

** $p<0.01$

互間の小孔の開大は認められず，Disse 腔には肝細胞の微絨毛が無数に認められた(**Fig. 11A**)．C 群の阻血後 1 時間では，類洞内皮細胞の配列の乱れおよび断裂がみられ，小孔は開大し，類洞内皮細胞の肥厚が認められた．さらに Disse 腔では微絨毛の減少が認められた(**Fig. 11B**)．CoQ_{10}群の阻血後では，類洞内皮細胞の配列の乱れおよび類洞内皮細胞の肥厚は軽度であり，また，小孔の開大および微絨毛の減少も軽微であった(**Fig. 11C**)．U 群の阻血後では，CoQ_{10}群同様に類洞内皮細胞および微絨毛の形態変化は軽微であった(**Fig. 11D**)．

肝細胞は C 群の阻血後 1 時間では，阻血前（**Fig. 12A**）と比較して，粗面小胞体の拡張ならびに mitochondria の腫大が認められた(**Fig. 12B**)．CoQ_{10}群で

Fig. 11 Ultrastructure of the hepatic sinusoidal cells before and after 1 hour ischemia.（×10,000）
A. Preischemia. B. Control group after 1 hour ischemia. C. CoQ_{10} group after 1 hour ischemia. D. Ulinastatin group after 1 hour ischemia.

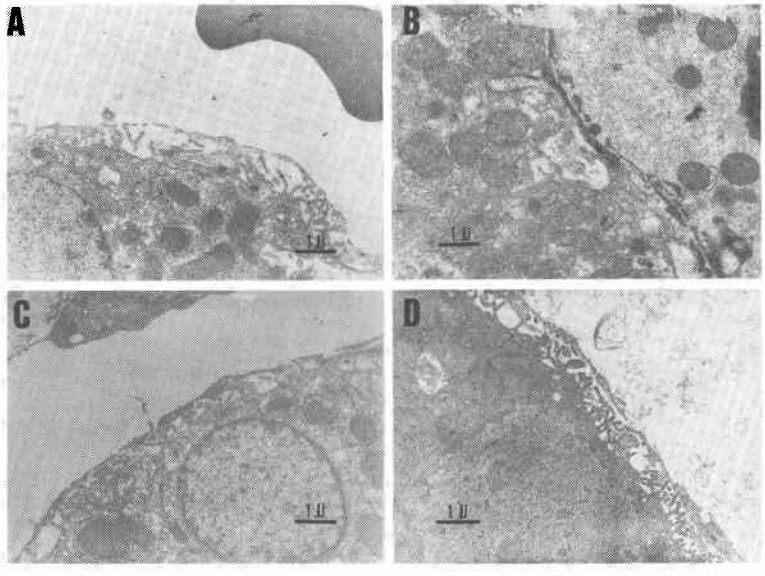


Fig. 12 Ultrastructure of mitochondrias before and after 1 hour ischemia. (×10,000)
A. Preischemia. B. Control group after 1 hour ischemia. C. CoQ_{10} group after 1 hour ischemia. D. Ulinastatin group after 1 hour ischemia.

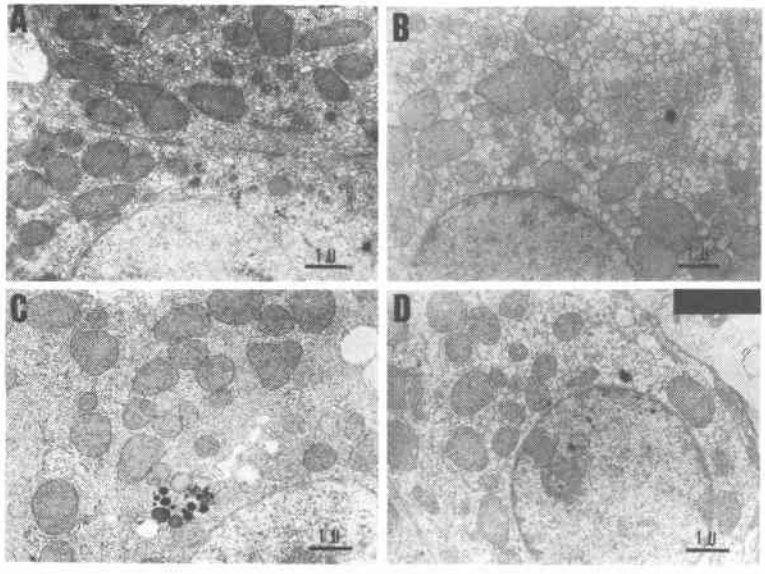
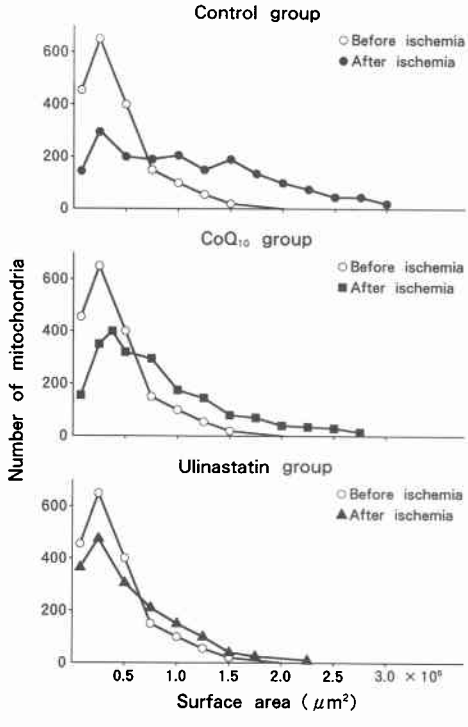


Fig. 13 Distribution curve of the size of mitochondrias before and after 1 hour ischemia.



は，粗面小胞体の拡張は認められないものの，mitochondriaの腫大を軽度認めた（**Fig. 12C**）．U群ではいずれの変化も軽微であった（**Fig. 12D**）．

8．肝細胞mitochondria面積

肝細胞のmitochondria面積を横軸に，個数を縦軸にしたmitochondria面積分布曲線を**Fig. 13**に示す．C群では阻血前に対して阻血後では，腫大したmitochondriaが増加し，分布曲線は右方へ移動し平坦化した．CoQ_{10}群では，C群に比べて右方への移動がやや少なかった．U群では分布曲線の右方への移動は他の2群に比べて少なく，阻血後のmitochondria腫大の抑制は顕著であった．

各群のmitochondria面積の平均値をみると，C群に対しCoQ_{10}およびU群ではmitochondriaの阻血後

Table 2 Mean size of mitochondrias before and after 1 hour ischemia

Group	Mitochondrial area (μm^2)		
	Preischemia	1 hr after reflow	
C	0.34±0.22	1.20±0.87	**
CoQ_{10}	0.35±0.42	0.77±0.49	**
U	0.32±0.38	0.38±0.26	

** $p<0.01$

の腫大が有意に($p<0.01$)抑制されていた(**Table 2**).

III. 考　察

肝細胞保護効果は細胞培養系，灌流装置，あるいは小動物を用いて検討されてきたが，細胞保護剤の臨床応用の可否をみるためには，臓器単位でしかも大動物を対象に，単に阻血中に引き起こされる低酸素障害のみならず血液自身による再灌流障害の病態をも含めて検討することが重要である．

生体内選択的肝灌流モデルは，肝組織温の阻血障害に及ぼす影響[4]あるいは肝血行再開後のdeclamp shockの病態を検討するモデル[5]として用いられ，臨床的には肝切除の補助手段として応用されているが[6]，同モデルを用いて冷阻血障害に対する薬剤の細胞保護効果を検討した報告はない．

さて，阻血中の臓器温，阻血時間および阻血範囲などの阻血条件は報告者により異なるものの，種々の薬剤について肝細胞保護効果に関する研究がなされてきた．微小循環障害の軽減を目的に検討された薬剤には血管床の収縮抑制作用のあるisoproterenol[7]や交感神経遮断剤，血流増加作用のあるdopamin[8]およびprostaglandin(PGE_1[9], PGE_2[10], PGI_2[11])があげられる．細胞膜保護作用を有するものとしてはglucocorticoids[12], chlorpromazine[13]があり，また，エネルギー代謝の改善作用のあるものとして，Mg bound ATP[14], allopurinol[15]，本研究にも用いたCoQ_{10}があげられる．さらに最近では再灌流後の活性酸素による組織障害を軽減すべく，活性酸素消去作用を有するとされるsuperoxide dismutase (SOD)[17], CoQ_{10}[18], α-tocopherol[19], glutathion[20], catalase[21]，およびallopurinol[22]が注目されている．

本研究でわれわれが使用した薬剤はエネルギー代謝維持および抗酸化剤としての有用性が小動物を対象に検討されてきたCoQ_{10}[16)18)23]と，肝阻血障害に対する細胞保護効果に関してはいまだ検討されていないUlinastatinである．

本研究では諸家の手法に従い，CoQ_{10}を阻血前10 mg/kgの割合で静脈投与したが，投与後の肝組織濃度の推移からみる限り，CoQ_{10}は少なくとも3時間肝組織内に留まっていることが確認された[16)18)19]．

CoQ_{10}群ではC群に比べて，GOTのような肝細胞内逸脱酵素，lysosome逸脱酵素であるβ-gl. およびmitochondria逸脱酵素であるm-GOTの逸脱に抑制はみられなかった．しかしながら，肝障害度ならびに肝代謝機能を総合的に反映する総胆汁酸[24]，エネルギー代謝を間接的に反映する乳酸[25]の上昇は血行再開1時間後において抑制されていた．また，肝細胞機能のみならず肝微小循環機能をも反映する$ICGR_{15}$は，血行再開6時間でC群で比べ有意差はないものの回復傾向を示した．これら機能的に認められた細胞保護効果は以下に述べる形態的に観察された保護効果と符合している．

CoQ_{10}の細胞保護効果について形態計測に基づいた客観的分析は行われていないが，今回行った細胞計測によると，冷阻血後の細胞障害を最も端的に表現している細胞腫大[26]がCoQ_{10}阻血前投与により抑制されることが判明した．また，電顕的にも，C群に顕著にみられた類洞内皮細胞の小孔の開大，肝細胞の微絨毛の腫大および減少，mitochondriaの腫大が有意に抑制されていることが観察された．

冷阻血障害は，冷却保存中よりむしろ再灌流（あるいは再酸素化）後に，とくに類洞細胞において強く発現することが指摘されている[27)28]．この原因として，再灌流後において放出される類洞内皮細胞からの活性酸素あるいは好中球やKupffer細胞からの活性酸素やproteaseにより類洞内皮が障害されると報告されている[29)30]．外因性CoQ_{10}の効果発現機序は，1. mitochondriaの内因性CoQとともにATPの産生を助長する，2. 細胞の膜構造に対する保護効果，3. 過酸化脂質産生抑制による抗酸化効果，の3点とされている[16)18)19]．以上の作用機序を考慮すると，CoQ_{10}は，再灌流後に発生する活性酸素のひとつである過酸化脂質の産生を抑制することにより，肝細胞のみならず微小循環を調節している類洞からDisse腔にいたる構築の保持に対しても保護効果を示したと考えられる．CoQ_{10}で観察された保護効果は次に述べるUlinastatinにおいて一層顕著に認められた．

Ulinastatinはヒトの尿より分離精製された分子量約67,000の糖蛋白質である．生理学的意義については，trypsin, elastase, lypaseなどのlysosome酵素阻害作用，lysosome膜安定化作用があげられている[31]．肝lysosomeより逸脱したlysosome酵素は，細胞内小器官の破壊や機能抑制作用を有するため[32)~34]，Ulinastatinを阻血前投与することにより，阻血障害に対して何らかの細胞保護効果が期待できるのではないかと考え，本薬剤を使用した．なお，Ulinastatinは急速静脈内投与後，アイソトープを用いた組織内分布の検討では，投与4時間後も肝組織中に約60%の濃度で停滞するため[35]，急速静注投与法を採用した．

阻血後の肝細胞腫大の抑制，類洞構造の保持，肝細胞mitochondriaの腫大の抑制，ICG検査で示される肝微小循環機能の改善のいずれかの点においてもUlinastatinは阻血および再灌流障害に対して強い保護効果を示した．しかしながらCoQ_{10}群と同様，GOTの逸脱はC群と比べて抑制がみられなかった．また，Ulinastatinは細胞内lysosome膜の安定化[36]により，lysosome酵素の逸脱を抑制するとされているが，本研究では予想に反しlysosome逸脱酵素のひとつであるβ-gl.の逸脱の程度には3群間で差がみられなかった．

冷阻血障害は，再灌流後において放出される類洞内皮細胞からの活性酸素あるいは好中球やKupffer細胞からの活性酸素やproteaseの産生により細胞障害が一層増強される[30]．

この観点に立つと，Ulinastatinは好中球あるいはKupffer細胞から放出されたelastaseなどのlysosome酵素の活性抑制[37]，または活性酸素の放出抑制ならびに消去[38]作用に基づいて保護効果を示したと推察される．すなわち類洞内皮細胞を1次的に保護し，その結果，2次的に肝細胞に対しても保護効果を示し，mitochondriaの腫大抑制，m-GOTの逸脱抑制が得られたものとも考えられる．

肝移植術においては，donor手術の阻血前に，あるいはrecipient手術の血行再開前後にかけて細胞保護目的にPGE_1[39]，CoQ_{10}[40]など，各種薬剤の投与が試みられているが，本研究の成果から，Ulinastatinのような蛋白分解阻害剤の投与も臨床的に有用であると考えられる．また，肝移植術のみならず肝切除術に際しても，肝切離操作中にはしばしば肝血行遮断を行ったり，あるいは冷却灌流を加えることもある．したがって，肝切除時，術中操作に基づく阻血障害および再灌流障害から類洞内皮および肝細胞を保護する目的にも上記した細胞保護剤を阻血前に投与することは臨床的に有用であると結論できる．

稿を終えるにあたり，終始御助言御協力を戴いた，肝グループの諸兄に深謝いたします．

文　献

1) Starzl TE, Iwatsuki S, Van Thiel DH et al: Evolution of liver transplantation. Hepatology 2：614—636, 1982
2) 広島　修，山野嘉昭，高比良英雄ほか：Ferric chloride酸化と高速液体クロマトグラフィーによる生体試料中のユビキノンの迅速定量法．ビタミン　59：457—463, 1985
3) 延永　正：β-グルクロニダーゼに関する研究．第2報．p-Nitrophenylglucuronideを用いるβ-グルクロニダーゼの定量法—その血清並びに尿に就いての検討．福岡医誌　52：300-311, 1961
4) 小暮洋暉：肝保存に関する研究，特に生体内選択的肝低温灌流法による肝機能の変動を中心として．日外会誌　5：608-627, 1970
5) 川上隆彦：門脈バイパス，肝血行遮断の病態—酸・塩基平衡，血行動態，凝固線溶系，網内系の検索から—．秋田医　13：533-541, 1974
6) Fortner JG, Shin MH, Kinne DW et al: Major hepatic resection using vascular isolation and hypothermic perfusion. Ann Surg 180：644-652, 1974
7) Lambotte L: Use of hepatic cell membrane potential measurement to evaluate new method of liver preservation. Surgery 74：509-518, 1973
8) Raftery AT, Johnson RGW: Dopamin pretreatment in unstable kidney donors. Med J 87：522-531, 1979
9) Araki H, Lafer AM: Cytoprotective action of prostacyclin during hypoxia in the isolated perfused cat liver. Am J Physiol 238：176-181, 1980
10) Stachura J, Tarnawsky A, Ivey KJ et al: Prostaglandin protection of carbon-tetrachloride induced liver cell necrosis in the rat. Gastroenterology 81：211—215, 1981
11) Monden M, Fortner JG: Twenty-four- and 48-hour canine liver preservation by simple hypothermia with prostacyclin. Ann Surg 196：38-42, 1981
12) Miller CH, Alexander JW: Protective effect of methylpredonisolone against ischemic injury to the kidney. Transplantation 16：57—62, 1973
13) Chin KR, Abrams J, Pfar RG et al: Preservation by chlorpromazine of ischemia liver cell death. Am J Pathol 88：539—558, 1977
14) Chaudary IH, Ohkawa M, Clement MG: Improved mitochondrial function following ischemia and reflow by ATP-$MgCl_2$. Am J Physiol 252：799—804, 1984
15) Nodstroem G, Seeman T, Hasselgren PO: Benefical effect of alloprinol in liver ischemia. Surgery 97：679—683, 1985
16) Marubayashi S,J Dohi K, Ezaki H et al: Preservation of ischemia rat liver mitochondrial functions and liver via bility with CoQ_{10}. Surgery 91：631—637, 1982
17) Adkinson D, Hollwarth HE, Bonoit JN et al: Role of free radicals in ischemia-reperfusion injury to the liver. Acta Physiol Scand 548：101-107, 1986

18) Marubayashi S, Dohi Y, Yamada K et al: Changes in the levels of endogeneous coenzyme Q homologs, α-tocopherol, and glutathione in rat liver after heptic ischemia and reperfusion, the effect of pretreatment with coenzyme Q_{10}. Surgery 91 : 631—637, 1982
19) Marubayashi S, Dohi K, Ochi K: Role of free radicals in ischemia rat liver cell injury: Prevention of damage by α-tocopheraol administration. Surgery 99 : 184—192, 1984
20) Leiback FH, Fnteles MC, Pillion D et al: Glutathione in the isolation purfused rabbit kidney. J Surg Res 17 : 228—231, 1974
21) Bergsland J, LoBalsamo L, Lajos P et al: Post-anoxic hemodynamic performance. The effect of alloprinol and superoxide dismutase/catalase. Transplant Proc 14 : 4165—4611, 1987
22) Toled-Pereyra LH, Simmons RL, Najarian JS; Protection of ischemic liver by donor pretreatment before transplantation. Am J Surg 129 : 513—517, 1975
23) Crane FL, Hatefi Y, Lester RL et al: Isolation of a quinone from beef heart mitochondria. Biochem Biophys Acta 25 : 220—221, 1957
24) 新開泰司：急性肝不全における血中胆汁酸動態. 肝臓 29 : 494—499, 1988
25) 渡辺裕次：肝虚血による肝エネルギー代謝変動に関する研究, 特に虚血時肝冷却の効果に関して. 日外会誌 89 : 717—724, 1988
26) Marsh DC, Lindell SL, Fox LE et al: Hypothermic preservation of hepatocytes 1. Role of cell swelling. Cryobiology 26 : 524—534, 1989
27) Adkinson D, Hollwarth ME, Benoit JN et al: Role of free radicals in ischemia-reperfusion injury to the liver. Acta Physiol Scand 548 : 101—107, 1986
28) Caldwell-Kennel JC, Currin RT, Tanaka Y et al: Kupffer cell activation and endothelial cell damage after storage of rat liver: Effect of reperfusion. Hepatology 13 : 83—95, 1990
29) Metzger J, Dore SP, Lauterburg BH: Oxidant Stress during reperfusin of ischemic liver: No evidence for a role of xanthine oxicidase. Hepatology 8 : 580—584, 1988
30) Jaescheke H, Farhood A; Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. Am J Physiol 29 : 355—362, 1991
31) 大西治夫, 小雀浩司, 延原正弘：蛋白分解酵素阻害剤 Urinastatin (Miraclid[R]) の薬理. 応用薬理 31 : 663—675, 1986
32) Janoff A, Weissman G: Pathogenesis of experimental shock, Studies of lysosomes in normal and tolerant animals subjected to trauma and endotoxemia. J Exp Med 116 : 451—466, 1962
33) Mellors L, Tappel AL: Mitochondria swelling and uncoupling of oxidative phosphorylation by lysosomes. Biochem Biophys Acta 143 : 299—309, 1967
34) Blattberg B, Levy MN; Detection of reticuloendothelial depressing substance in shock. Am J Physiol 209 : 71—74, 1965
35) 大沢伸雄, 高橋康雄, 土屋徳弘ほか：Ulinastatin の生体内動態 (1) ラット, マウスおよびウサギにおける静脈内投与後の生体内動態. 薬物動態 5 : 739—753, 1990
36) 小田利通, 鮫島照子, 宮脇武徳ほか：ヒト尿中トリプシン阻害物質(MR-20)の抗ショック作用について. 麻酔 33 : 137—142, 1984
37) Ogawa M, Nishibe S, Mori T et al: Effect of human urinary trypsin inhibitor on granulocyte elastase activity. Res Commun Chem Pathol Pharmacol 55 : 271—274, 1987
38) 吉川敏一, 村上正志, 瀬戸 治ほか：疎白分解酵素阻害薬ウリナスタチンのエンドトキシンショック防御効果と酸素ラジカル消去作用. 麻酔 37 : 969—974, 1988
39) Greig PD, Woolf GM, Abecassis M et al: Treatment of priamry liver graft non-function with prostaglandin E_1. Transplantation 48 : 447—453, 1989
40) Sumitomo K, Inagaki K, Ito H et al: Ischemic damage prevention by co-enzyme Q_{10} treatment of the donor before orthotopic liver transplantation: Biochemical and histologic findings. Surgery 102 : 821—827, 1987

Cytoprotective Action of Co-enzyme Q_{10} and Ulinastatin on the Ischemic Damage of the Liver Following in Vivo Cold Infusion

Kazutaka Furukawa, Naoki Yamanaka and Eizo Okamoto
First Department of Surgery, Hyogo College of Medicine

We tested the hepatoprotective action of Coenzyme Q_{10} and Ulinastatin (urinary trypsin inhibitor) by using a in vivo hypothermic liver perfusion model. One-shot intravenous administration of these agents was performed one hour prior to ischemia. during a 1 hours ishcemic phase under a veno-venous bypass using a centrifugal pump, 4°C chilled lactate Ringer perfusion (1500 ml/hr) cooled the liver down to 20°C. Postperfusion elevation of plasma GOT and β-glucuronidase occurred at the same degree in the pretreated groups as in the control group, while the elevation of plasma mitochondria GOT was significantly suppressed in the Ulinastatin treated group. The rate of retention of indocyanine green dye for 15 min was elevated at one hour after reperfusion in all three groups, however, it returned to significantly lower levels by 6 hours in the pretreated groups, especially in the Ulinastatin group. Morphologic as well as morphometric studies by electron microscopy revealed that the cold ischemia-induced damage to liver cells and endothelial cells of the sinusoids was significantly suppressed in the pretreated groups, especially in the Ulinastatin groups. It was concluded from these data that pretreatment with Coenzyme Q_{10} or Ulinastatin may have a cytoprotective effect on liver damage induced by cold ischemia.

Reprint requests: Kazutake Furukawa　First Department of Surgery, Hyogo College of Medicine
1-1 Mukogawa-cho, Nishinomiya, 663 JAPAN