

低温肝灌流法による肝阻血後再灌流障害防止に関する実験的研究

東京女子医科大学附属第二病院外科

浅海 良昭

肝血行遮断時の低温肝灌流が再灌流後の肝循環動態, 肝酸素需給動態に及ぼす影響について実験的研究を行った。雑種成犬を用い, 60分間の全肝血行遮断を行い, 低温肝灌流の有無により非灌流群(n=8), 灌流群(n=10)の2群に分け, 再灌流後の変化を両群間で比較した。肝動脈および門脈血流量は再灌流後30分以降非灌流群では減少したのに対し, 灌流群では増加し有意差を認めた(p<0.01)。肝酸素供給量は肝血流量の推移を反映して再灌流後30分以降非灌流群では減少したが, 灌流群では増加し有意差を認めた(p<0.01)。肝酸素消費量は非灌流群では再灌流後30分以降増加を認めなかったが, 灌流群では増加しており有意差を認めた(解除後30分, 60分 p<0.01, 120分 p<0.05)。以上より, 低温肝灌流法には肝阻血後の再灌流障害による肝血流量減少を改善し, 逆に増加させることによって肝酸素供給量の増加をもたらすという利点があると考えられた。

Key words: hepatic low-temperature perfusion, hepatic hemodynamics, hepatic oxygen metabolism, hepatic surgery with interruption of hepatic blood circulation, reperfusion injury after hepatic ischemia

はじめに

近年, 肝臓外科は飛躍的な進歩を遂げ, 肝血行遮断下の肝切除術が行われるようになった。その際, 阻血による肝障害¹⁾²⁾が問題となるが, これを軽減させる目的で低温肝灌流法が用いられる。1974年, Fortnerら³⁾は肝血行遮断低温灌流法による無血下の大量肝切除法を報告した。最近, わが国でも肝血行遮断低温灌流法を用い, 従来は手術の適応外とされていた進行肝臓癌に対して拡大肝切除術⁴⁾⁵⁾が行われている。

肝血行遮断下の手術を安全に行うためには肝阻血中の肝細胞の保護のみならず, 血流再開後の肝阻血障害からの回復が大きな鍵を握っている。肝阻血障害は酸素供給の途絶によるエネルギー産生能の低下が主因とされており⁶⁾⁷⁾, その回復のため血流再開後は代償性に酸素需要が亢進するものと推定される。したがって肝阻血障害からの回復には血流再開後の肝酸素需給動態が大きく関与すると思われる。しかるに, 低温肝灌流法が肝阻血中のアノキシアによる肝細胞障害の軽減に対して有効であることは肝機能の推移や肝臓の組織学的所見よりすでに実験的研究が行われ証明されているが⁸⁾⁹⁾, 血流再開後の肝阻血障害からの回復に対してい

かに作用するかに関しては解明されていない。そこで今回, 著者は雑種成犬を用いた肝血行遮断低温灌流モデル³⁾⁸⁾¹⁰⁾を作製し, 肝阻血前後の肝機能の変化とともに, 遮断解除後の肝循環動態および肝酸素需給動態の変動, さらに低温肝灌流法がこれらに及ぼす影響について実験的研究を行った。

対象と方法

1. 実験動物

体重12~22kg (平均15.6kg) の雑種成犬18頭を用いた。

2. 実験モデルの作製法

ペントバルビタール静注 (25mg/kg) 麻酔下に気管内挿管し人工呼吸器に装着。100%酸素を吸入させ, 1回換気量150ml, 呼吸数15回/minの条件で調節呼吸を行った。実験中は左前腕静脈より血管を確保し乳酸加リンゲル液を30ml/kg/hrで補液した。まず右大腿動脈に23Gカテーテルを挿入留置し, 他端を圧トランスジューサーに接続して平均動脈圧を測定するとともに, 動脈血採取用に供した。つぎに上腹部正中切開で開腹し, 肝周囲の肝支持組織を切離した後, 遮断鉗子がかけられる程度に肝上下大静脈を剥離。副腎静脈を結紮した後, 肝下部大静脈を剥離しテープをかけた。さらに小網を可及的に切離し右胃動脈, 胃十二指腸動脈を結紮した後, 総肝動脈, 門脈を剥離しテープ

をかけた。続いて右大腿静脈-右頸静脈ならびに脾静脈-左頸静脈間にヘパリンコーティングした内径6 mm のシリコンチューブを用いバイパスを作製。また経腸間膜静脈的に ATOM 社製 8 号多用途チューブを挿入し、先端を門脈本幹におき、灌流液注入路とした。一方、左大腿静脈より同チューブを挿入し、先端を肝下部下大静脈におき、肝内血液および灌流液排出路とした。以上の操作を終えた後、総肝動脈、肝上部下大静脈を血管用遮断鉗子、門脈、肝下部下大静脈をテープで遮断しバイパスを作動させると同時に灌流液を注入する肝血行遮断低温灌流モデルを作製した (Fig. 1)。60分間の肝血行遮断を行った後、総肝動脈、門脈、下大静脈の順に血行を再開させ、バイパスを閉鎖した。血行遮断中、遮断解除後におけるアシドーシスに対しては、動脈血中の Base Excess (以下、BE) を30分ごとに測定し、必要に応じて7%重炭酸ナトリウム溶液を $BE (mEq/L) \times 体重 (kg) \times 0.3ml$ 静脈内投与して補正した。

3. 実験群

前記の肝血行遮断低温灌流モデルを用いて、次の2群に分け比較検討した。

非灌流群：バイパス下に60分間の肝血行遮断を行うのみで低温灌流しない群 (n=8)。

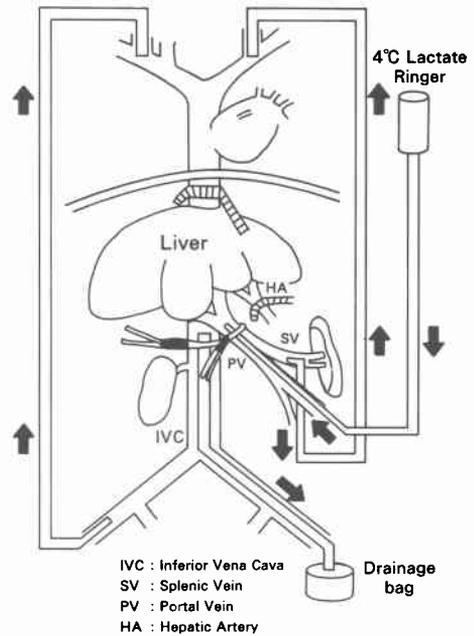
灌流群：バイパス下に60分間の肝血行遮断を行うと同時に灌流液注入路より4°C乳酸加リンゲル液1,500 ml/h 注入し低温灌流する群 (n=10)。

4. 検索項目

① 肝機能

一般肝機能としてGPT,肝ミトコンドリア機能としてミトコンドリア GOT(以下, m-GOT), 動脈血中ケトン体比(以下, AKBR)を測定した。採血は血行遮

Fig. 1 Schema of the hepatic ischemia and hypothermic perfusion model.



断前, 遮断解除直後, 解除後60分, 120分に行った。

② 平均動脈圧

平均動脈圧(以下, mBP)の測定は血行遮断前, 遮断後30分, 遮断解除直後, 解除後30分, 60分, 120分に行った。

③ 肝臓の肉眼的所見

血行遮断中, 遮断解除後の変化を観察した。

④ 肝臓の血行動態および酸素需給動態

右大腿動脈に留置したカテーテルより動脈血, 門脈に留置した多用途チューブより門脈血を採取。また経

Table 1 Calculation methods of total hepatic blood flow and hepatic oxygen metabolism

THF	: HAF+PVF	ml/min · kg
HDO ₂	: (C _a O ₂ × HAF + C _{pV} O ₂ × PVF) / 100	ml/min · kg
HV̇O ₂	: { (C _a O ₂ - C _{pV} O ₂) × HAF + (C _{pV} O ₂ - C _{hV} O ₂) × PVF } / 100	ml/min · kg
HO ₂ ER	: (HV̇O ₂ / HDO ₂) × 100	%
C _a O ₂	= S _a O ₂ × Hb × 1.34 / 100 + P _a O ₂ × 0.0031	ml/dl
C _{pV} O ₂	= S _{pV} O ₂ × Hb × 1.34 / 100 + P _{pV} O ₂ × 0.0031	ml/dl
C _{hV} O ₂	= S _{hV} O ₂ × Hb × 1.34 / 100 + P _{hV} O ₂ × 0.0031	ml/dl

C_aO₂: oxygen concentration in arterial blood, C_{pV}O₂: oxygen concentration in portal venous blood, C_{hV}O₂: oxygen concentration in hepatic venous blood, S_aO₂: oxygen saturation in arterial blood, P_aO₂: oxygen pressure in arterial blood, S_{pV}O₂: oxygen saturation in portal venous blood, S_{hV}O₂: oxygen saturation in hepatic venous blood, P_{pV}O₂: oxygen pressure in hepatic venous blood, P_{pV}O₂: oxygen pressure in portal venous blood

肝的に23G注射針で肝静脈を穿刺し、肝静脈血を採取。おのおの175型分析器 (Corning 社) を用いて血液ガス分析を行い、酸素分圧および酸素飽和度を測定。同時に血中ヘモグロビン濃度 (以下, Hb) を測定し各酸素濃度を算出した。また総肝動脈、門脈に電磁流量計プローブを装着し、ME-47血流量計 (日本光電) を用いて肝動脈血流量 (以下, HAF), 門脈血流量 (以下, PVF) を測定した。これらの測定値より、総肝血流量 (以下, THF), 肝酸素供給量 (以下, HDO₂), 肝酸素消費量 (以下, HVO₂), 肝酸素利用率 (以下, HO₂ER) を算出した (Table 1)。各測定は、血行遮断前、遮断解除後30分、60分、120分に行った。

5. 統計処理法

各肝機能検査および平均動脈圧は実測値で示した。また血行遮断前の肝臓の血行動態および酸素需給動態は実測値で、その経時的变化は遮断前の値を100%として変化率で示した。検査結果はすべて平均値±標準偏差で表し、各測定時間の値は paired t test を用いて血行遮断前の値と比較し、非灌流群と灌流群との比較は unpaired t test を用いて統計処理を行い、5%未満の危険率をもって有意差有り と判定した。

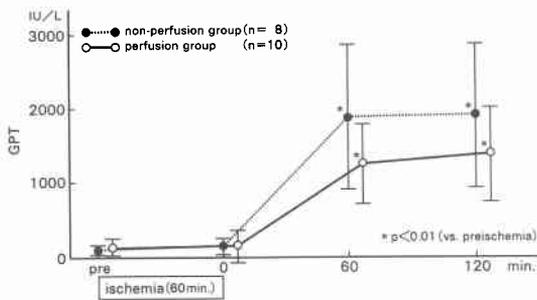
結 果

1. 肝機能

① GPT

GPT は非灌流群では血行遮断前160±46IU/L、遮断解除直後167±140IU/Lであったが、解除後60分には1,862±98IU/L (p<0.01), 120分には1,882±964IU/L (p<0.01) と著しく上昇した (Fig. 2)。灌流群でも血行遮断前158±141IU/L、遮断解除直後163±229IU/Lであったが、解除後60分には1,200±560IU/L (p<0.01), 120分には1,384±626IU/L (p<0.01) と著しく上昇した。両群を比較してみると解除後非灌流群のほ

Fig. 2 Changes in GPT after ischemia/reperfusion in non-perfusion and perfusion group



うが平均値で高い値を示したが、有意差は認めなかった。

② m-GOT

m-GOT は非灌流群では血行遮断前12.0±8.7IU/L、遮断解除直後9.8±7.5IU/Lであったが、解除後60分には49.2±19.5IU/L (p<0.01), 120分には65.6±26.3IU/L (p<0.01) と上昇した (Fig. 3)。灌流群でも血行遮断前7.8±4.7IU/L、遮断解除直後5.7±4.1IU/Lであったが、解除後60分には34.5±16.9IU/L (p<0.01), 120分には52.2±25.9IU/L (p<0.01) と上昇した。両群を比較してみると解除後非灌流群のほうが平均値で高い値を示したが、有意差は認めなかった。

③ AKBR

AKBR は非灌流群では血行遮断前0.93±0.19であり、遮断解除直後には0.19±0.09 (p<0.01) と著明に低下したが、解除後60分には0.91±0.11, 120分には0.88±0.17と再び上昇した (Fig. 4)。灌流群でも血行遮断前0.93±0.13であり、遮断解除直後には0.28±0.13 (p<0.01) と著明に低下したが、解除後60分には

Fig. 3 Changes in m-GOT after ischemia/reperfusion in non-perfusion and perfusion group

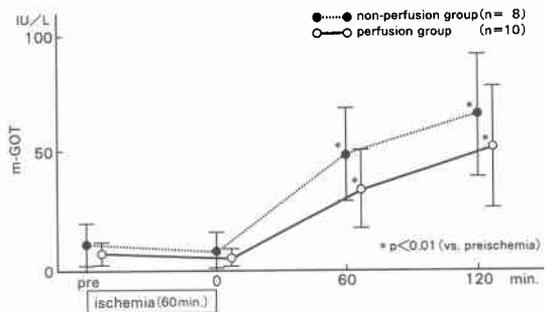


Fig. 4 Changes in AKBR after ischemia/reperfusion in non-perfusion and perfusion group

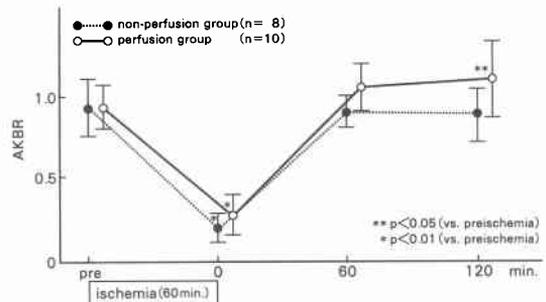
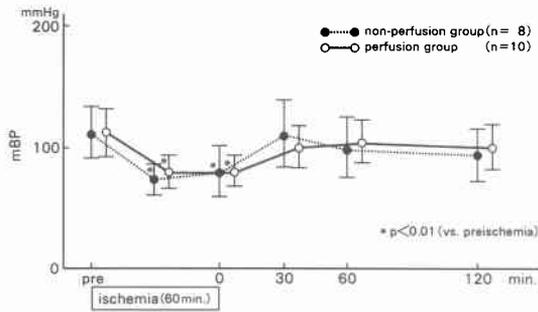


Fig. 5 Changes in mBP during and after ischemia/reperfusion in non-perfusion and perfusion group



1.05±0.16, 120分には1.10±0.24 (p<0.05) と再び上昇した。両群を比較してみると非灌流群では遮断解除後60分以降も遮断前値を下回っていたのに対し、灌流群では遮断前値以上の回復を示したが、有意差は認めなかった。

2. 平均動脈圧

mBPは非灌流群では血行遮断前110.4±22.5 mmHgであり、遮断後30分、遮断解除直後には71.3±12.5mmHg (p<0.01), 78.8±21.0mmHg (p<0.01) と低下した (Fig. 5)。解除後30分には108.8±27.0 mmHg と遮断前値まで回復したものの、解除後60分は96.3±24.5mmHg, 120分は91.3±21.7mmHg と徐々に低下する傾向を示していた。灌流群でも血行遮断前110.8±19.3mmHgであり、遮断後30分、遮断解除直後には78.5±12.9mmHg (p<0.01), 79.5±13.4mmHg (p<0.01) と低下した。解除後30分は99.5±16.1 mmHg, 60分は101.5±18.0mmHg, 120分は97.5±18.4mmHg と上昇したものの、遮断前値まで十分には回復しなかった。全経過を通じて両群間には有意差を認めなかった。

3. 肝臓の肉眼的所見

非灌流群では血行遮断中肝臓は暗赤色となり、遮断解除後はモザイク状となり腫脹して硬度を増し、はなはだしい場合には肝被膜に亀裂を生じるようになった。これに対し、灌流群では血行遮断中肝臓は白色調となり、遮断解除後は均一に赤色調となり腫脹は認められなかった。

4. 肝臓の血行動態および酸素需給動態

肝血行遮断前のおのおの平均実測値では、両群間に差はみられなかった (Table 2)。

① 肝動脈血流量

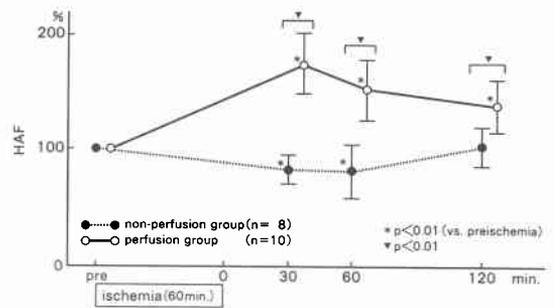
Table 2 Hepatic hemodynamics and oxygen metabolism before vascular isolation of the liver

	non-perfusion group (n=8)	perfusion group (n=10)	T test
HAF (ml/min · kg)	6.98±1.40	6.55±2.29	N.S.
PVF (ml/min · kg)	16.8±3.39	14.3±3.02	N.S.
THF (ml/min · kg)	23.0±5.36	20.9±4.07	N.S.
HDO ₂ (ml/min · kg)	3.57±1.01	3.38±0.74	N.S.
HVO ₂ (ml/min · kg)	0.77±0.48	0.83±0.36	N.S.
HO ₂ ER (%)	19.8±9.86	26.3±13.9	N.S.

Mean ± S.D.

N.S.: not significant

Fig. 6 Changes in hepatic arterial blood flow after ischemia/reperfusion in non-perfusion and perfusion group (as percent of baseline)



肝動脈血流量は非灌流群では解除後30分、60分には17.5±12.0%低下 (p<0.01), 18.9±24.6%低下 (p<0.01) を示したが、120分では有意な変化を認めなかった (Fig. 6)。これに対し、灌流群では解除後30分より73.6±27.9%増加 (p<0.01), 51.2±27.3%増加 (p<0.01), 37.2±24.0%増加 (p<0.01) を示しており、全経過を通じて両群間に有意差を認めた (p<0.01)。

② 門脈血流量

門脈血流量は非灌流群では解除後30分より38.0±19.1%低下 (p<0.01), 36.6±16.0%低下 (p<0.01), 35.8±20.9%低下 (p<0.01) を示した (Fig. 7)。一方、灌流群では解除後30分より39.4±20.8%増加 (p<0.01), 18.7±14.5%増加 (p<0.01), 5.1±7.3%増加 (p<0.01) を示しており、全経過を通じて両群間に有意差を認めた (p<0.01)。

③ 総肝血流量

総肝血流量は非灌流群では解除後30分より31.9%±16.0%低下 (p<0.05), 39.9±18.0%低下 (p<0.01), 25.1±19.7%低下 (p<0.05) を示したのに対し、灌流群では解除後30分より50.2±17.0%増加 (p<0.01),

Fig. 7 Changes in portal venous blood flow after ischemia/reperfusion in non-perfusion and perfusion group (as percent of baseline)

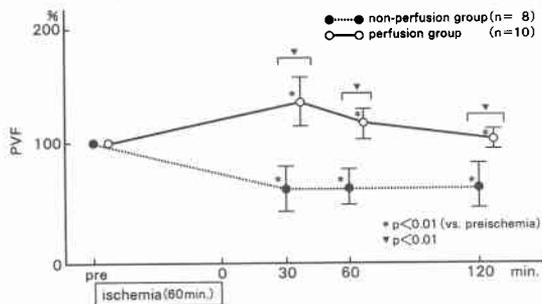


Fig. 8 Changes in total hepatic blood flow after ischemia/reperfusion in non-perfusion and perfusion group (as percent of baseline)

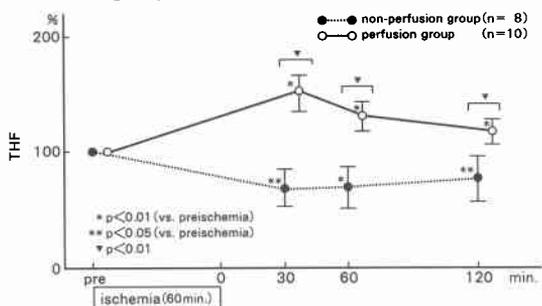
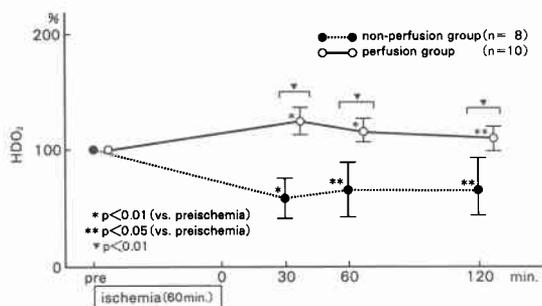


Fig. 9 Changes in hepatic oxygen delivery after ischemia/reperfusion in non-perfusion and perfusion group (as percent of baseline)



29.2±12.6%増加 (p<0.01), 14.7±9.8%増加 (p<0.01) を示しており, 全経過を通じて両群間に有意差を認めた (p<0.01) (Fig. 8).

④ 肝酸素供給量

肝酸素供給量は総肝血流量の推移を反映し, 非灌流群では解除後30分より41.3±18.0%低下 (p<0.01),

Fig. 10 Changes in hepatic oxygen consumption after ischemia/reperfusion in non-perfusion and perfusion group (as percent of baseline)

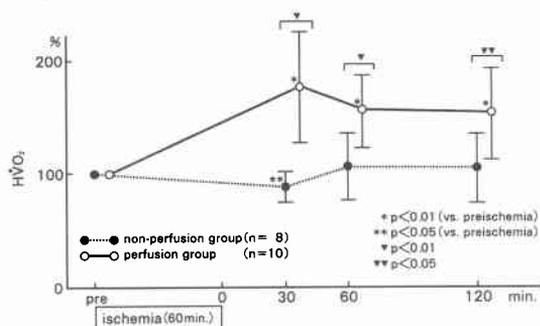
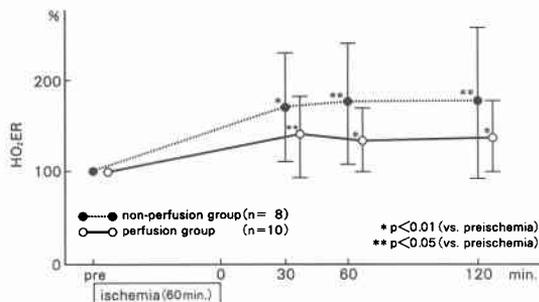


Fig. 11 Changes in hepatic oxygen extraction ratio after ischemia/reperfusion in non-perfusion and perfusion group (as percent of baseline)



35.2±23.0%低下 (p<0.05), 34.0±24.2%低下 (p<0.05) を示した (Fig. 9). これに対し, 灌流群では解除後30分より24.3±12.2%増加 (p<0.01), 14.4±11.2%増加 (p<0.01), 9.0±9.6%増加 (p<0.05) を示しており, 全経過を通じて両群間に有意差を認めた (p<0.01).

⑤ 肝酸素消費量

肝酸素消費量は非灌流群では解除後30分には11.0±11.6%低下 (p<0.05) を示したが, 60分以降は有意な変化を認めなかった (Fig. 10). 一方, 灌流群では解除後30分より74.8±50.3%増加 (p<0.01), 53.0±33.0%増加 (p<0.01), 51.2±40.5%増加 (p<0.01) を示しており, 全経過を通じて両群間に有意差を認めた (解除後30分, 60分 p<0.01, 120分 p<0.05).

⑥ 肝酸素利用率

肝酸素利用率は非灌流群では解除後30分より70.5±58.1%増加 (p<0.01), 76.0±65.9%増加 (p<0.05), 76.7±82.6%増加 (p<0.05) を示した (Fig. 11). 灌

流群でも解除後30分より $40.2 \pm 44.8\%$ 増加 ($p < 0.05$), $35.8 \pm 36.0\%$ 増加 ($p < 0.01$), $39.1 \pm 37.8\%$ 増加 ($p < 0.01$)を示しており, 両群間に有意差は認めなかったが, 非灌流群の方が増加率は大きかった。

考 察

1908年, Pringle¹¹⁾は肝十二指腸間膜の短時間の間歇的遮断により肝切除術の際の出血を制御することが可能であると報告した。それ以後, 肝血行遮断についての関心は高まり, 動物を用いた数多くの肝阻血実験が行われ, 遮断の許容時間を延長し, 術中の血行動態を安定させることが可能となった。1983年, Pittsburghら¹²⁾はヘパリンコーティングのカテーテルを用い, 全身のヘパリン化をせず, 門脈と下大静脈の血液を腋窩静脈にBiopumpを組み込んだ静脈系バイパス手技により還流する方法を開発し, 出血傾向を招くことなく, 手術中の血行動態も安定した安全な手術術式を発表した。今回著者の作製した実験モデルもBiopumpは使用しなかったがこれに準じたものとした。このように静脈系バイパス手技を用いることにより長時間の肝血行遮断は可能となったものの, その反面長時間に及べば肝臓自体の阻血障害が問題となってくる。これを軽減させるために低温肝灌流法³¹⁾³⁾がしばしば用いられている。ところで, 肝血行遮断下の手術を安全に行うためには血行遮断中の肝阻血障害の軽減のみならず, 血流再開後の肝阻血障害からの回復過程も重要となる。低温肝灌流法はその有用性については広く認められているが, その作用機序は従来より肝血行遮断中肝温を下げることで肝臓の代謝を抑え肝細胞を保護することとされており, 肝機能の推移や肝臓の組織学的所見からは実験的研究が行われ, それが証明されている⁸⁾⁹⁾。しかし, 血流再開後の肝阻血障害からの回復に対し低温肝灌流法がいかなる影響を及ぼすかに関しては解明されていない。肝阻血障害は酸素供給の途絶によるエネルギー産生能の低下が主因とされており⁶⁾⁷⁾, その回復のためには大量のエネルギーを必要とし, 血流再開後は代償性に酸素需要が亢進するものと推定される。したがって肝阻血障害からの回復には血流再開後の肝酸素需給動態が大きく関与すると思われる。そこで今回著者は低温肝灌流法が肝阻血障害からの回復に対していかに作用をするか解明するため, 雑種成犬を用いた肝血行遮断低温灌流モデル³⁾⁸⁾¹⁰⁾を作製し, 低温肝灌流の有無により非灌流群, 灌流群の2群に分け, 遮断解除後の肝循環動態および肝酸素需給動態の変動を比較検討した。低温肝灌流法の作用点は

灌流と冷却の2つの要素から成り, おおのこの要素のみを検討するには, 常温灌流群をさらに追加し比較する必要があるが, 著者はこれら2つの要素が同時に満たされることに低温肝灌流法の意義があると考え, 今回は低温肝灌流の有無で比較した。

はじめに本実験における肝機能の変化をみると, GPTは両群とも遮断解除後60分以降著しく上昇したが, 平均値では非灌流群のほうが高い値を示していた。ミトコンドリア由来の逸脱酵素であるm-GOTも両群とも遮断解除後60分以降上昇したが, 平均値では非灌流群のほうが高い値を示していた。これは阻血により激しい肝細胞障害が出現し, その障害は強くミトコンドリアにまで及んだ¹⁴⁾ものと考えられる。平均値をみると, ともに非灌流群のほうが高く, 肝細胞障害の程度は非灌流群のほうが強い可能性はあるが, 今回の結果からは断定できない。これには肝機能の長期的推移や肝臓の組織学的所見を含めて考える必要がある。小暮⁸⁾は類似のモデルを用いて60分間の肝血行遮断を行い, 非灌流群と灌流群とで肝機能の長期的な推移および肝臓の組織学的所見を比較している。非灌流群では肝機能障害は著しく不可逆的で生存例を得ないのに対し, 灌流群では肝機能障害は非灌流群に比べ軽度で術後10日以内には正常に復している。肝臓の組織学的所見でも非灌流群では肝細胞索の乱れ, 肝細胞の変性, 壊死, sinusoidの拡張, うっ血などが明白であるのに対し, 灌流群では障害の程度は軽く細胞構築は比較的良く保たれ, 術後10日では細胞変性, 壊死などは認めずほぼ正常に復している。この小暮の実験結果からみると低温肝灌流法は阻血による肝細胞障害の軽減に寄与していることは明らかである。しかし, 低温肝灌流法用いても血流再開後早期には激しい肝障害が出現することも事実であり⁸⁾⁹⁾¹⁵⁾, 長期的にみた肝機能の推移や肝臓の組織学的所見における両群間の差には血流再開後のなんらかの要因が加わっている可能性がある。肝血行遮断に伴う肝障害は阻血による障害¹²⁾に加えて血流再開による障害¹⁶⁾が考えられており, 低温肝灌流の有無により血流再開後の障害にも差があることは十分に考えられる。ここで本実験におけるAKBRの推移をみると, 両群とも遮断解除直後には酸素供給の途絶に伴い有意に低下していた。しかし, 解除後60分以降は酸素供給の再開により再び上昇した。ただし, 非灌流群では遮断前値までは上昇しなかったのに対し, 灌流群では遮断前値以上の上昇を示していた。小澤ら¹⁷⁾は肝細胞機能の不可逆性変化はenergy crisis

であり、肝ミトコンドリアのエネルギー代謝能力が肝予備力の本質であるとしており、その評価の指標として肝ミトコンドリアの redox state (NAD^+/NADH) を反映する AKBR を提唱している。この理論に基づくと、肝ミトコンドリア機能が著しく低下すれば、酸素供給があってもエネルギー産生は行われず、AKBR は低値のままとなるはずである。両群とも遮断解除後60分以降 AKBR は再上昇していたことより、肝ミトコンドリア機能の著しい低下はなかったと考えられる。ただし、遮断解除後は肝阻血障害からの回復のため大量のエネルギーを必要とするため、遮断前値以上の AKBR の上昇を示さなかった非灌流群はエネルギー代謝の面からみても不十分であり、遮断前値以上の AKBR の上昇を示した灌流群のほうが有利と考えられた。両群とも遮断解除後120分までは肝ミトコンドリア機能の著しい低下はないと考えられるにもかかわらず、長期的にみた肝機能の推移に両群間で明らかな差を認めることは、遮断解除後の肝酸素需給動態の差にその原因がある可能性が高いと思われる。肝臓は酸素欠乏によりエネルギー産生能が低下する⁶⁾⁷⁾。すなわち肝臓のエネルギー産生の大部分はミトコンドリアの酸化的リン酸化に由来する¹⁸⁾が、酸素欠乏によりこの機序は抑制され、電子伝達系は呼吸基質の酸化エネルギーを ATP として補促する能力を失い、脱共役状態となる⁶⁾¹⁹⁾。Farber らの説²⁰⁾によると、ATP の産生が低下すると細胞膜に存在するカルシウム輸送系の機能低下がおこる。またミトコンドリアの膜電位の消失によりミトコンドリア内に蓄積されたカルシウムの放出が起こり、細胞内カルシウム濃度が増大する。このため細胞内プロテアーゼ活性が異常に亢進し、細胞内の蛋白変性を招来したり、細胞の integrity を維持するうえで欠かせない細胞骨格の変性により細胞膜上に bleb の形成が起こり、その bleb の崩壊により非可逆的な細胞障害が導かれる。したがって肝細胞機能維持には酸素供給による ATP の産生が何よりも重要と思われる。そこで遮断解除後の肝循環動態および肝酸素需給動態の変動を両群間で比較してみた。

まず肝循環動態の変動をみると、肝動脈血流量は非灌流群では遮断解除後30分、60分では低下し、120分でも遮断前値まで回復したものの増加はみられなかった。これに対し、灌流群では遮断解除後増加していた。門脈血流量も非灌流群では遮断解除後著明に低下したのに対し、灌流群では逆に増加していた。したがって総肝血流量をみると非灌流群では遮断解除後低下した

のに対し、灌流群では増加していた。ここで mBP の変動をみると非灌流群、灌流群とも肝血行遮断中、遮断解除直後には低下していたが、遮断解除後30分以後は完全な回復ではないものの上昇しており、両群間で差を認めなかったことより、肝循環動態の変動においてみられた両群間の差は mBP の影響ではないかと考えられた。肝循環動態の変動でみられた両群間の差の原因としては以下のようなことが考えられる。阻血障害肝では血流再開後、no reflow phenomenon と呼ばれる末梢循環障害が出現することが知られている²¹⁾。no reflow phenomenon は血流遮断下で生じる血管攣縮と sludge 形成により、微小循環レベルで生じる血流障害が血流再開後も持続する現象²²⁾である。また、篠原ら²³⁾は肝阻血により肝類洞内にフィブリン血栓が形成されることを明らかにしている。非灌流群ではこれらの肝阻血に伴う肝内微小循環障害が前方抵抗となり、肝血行遮断解除後、肝血流量が低下したものと考えられた。他方、灌流群では低温灌流を行うことにより、肝内微小循環障害が軽減され、遮断解除後、代償性に肝血流量が増加したものと思われる。このことは肝臓の肉眼的所見からもうかがわれた。非灌流群では遮断解除後肝臓はモザイク状となり腫脹して硬度を増し、はなはだしい場合には肝被膜に亀裂を生じるようになるのに対し、灌流群では遮断解除後均一に赤色調となり腫脹は認められなかった。この肝臓の肉眼的所見における両群間の差は肝臓の微小循環障害の差を反映していると思われる。遮断解除後の肝循環動態に及ぼした低温灌流の作用機序として、1つは灌流による sludge やフィブリン血栓の wash out⁸⁾、もう1つは冷却による no reflow phenomenon の発生の抑制²⁴⁾の2点があげられる。no reflow phenomenon は他の臓器の虚血障害でも観察され、その発生原因として、トロンボキサン、ロイコトリエン、血小板活性因子を始めとする種々の chemical mediator や、血小板、白血球、赤血球などの血液細胞成分の関与が考えられている^{25)~27)}。冷却によりこれらの chemical mediator の生成の抑制や血球成分の挙動の変化、すなわち白血球遊走能の低下などがみられている²⁸⁾。その詳細な機序については不明であるが、肝臓においても冷却によりこれらの変化が生ずる可能性がある。

つぎに肝酸素需給動態の変動をみると、肝酸素供給量は非灌流群では遮断解除後低下したのに対し、灌流群では増加していた。肝酸素消費量は非灌流群では遮断解除後30分では低下し、60分、120分でも遮断前値ま

で回復したものの増加はみられなかった。これに対し、灌流群では遮断解除後増加していた。肝酸素利用率は非灌流群、灌流群とも遮断解除後増加していたが、その増加率は非灌流群のほうが大きかった。肝血行遮断解除後は、肝阻血障害からの回復のため大量のエネルギーを必要とする。したがって遮断解除後は肝臓の酸素需要が亢進するものと推定される。両群とも遮断解除後、肝酸素利用率が増加していたことからそれがうかがわれた。とくに非灌流群では肝酸素利用率の増加率は灌流群よりも大きく、酸素を最大限に利用して肝酸素消費量を増加させようとしている。しかし、それにもかかわらず、肝血流量の低下に伴い肝酸素供給量が著しく低下したため、肝酸素消費量の有意の増加が認められなかったと考えられる。すなわち、遮断解除後肝臓は酸素需要が亢進し多量の酸素を必要としているにもかかわらず、それのみあうだけの酸素供給がなく肝酸素需給のバランスが崩れていたと思われる。これに対し、灌流群では肝血流量の増加により肝臓の酸素需要の増加にみあうだけの肝酸素供給量の増加をもたらした。これを有効に利用することによって肝酸素消費量が増加したと考えられる。すなわち、肝酸素需給動態は正常に保たれ、しかも肝ミトコンドリアはそれを十分に利用するだけの機能を維持していたと思われる。

60分間の肝血行遮断は著しい肝細胞障害を招来し、遮断解除後の酸素供給量の減少を引き起こすことによってその障害はさらに増悪し非可逆的な変化となる。しかし、低温肝灌流を行うことにより肝細胞障害は軽減され、さらに遮断解除後の肝血流量を増加させることにより肝酸素供給量の増加をもたらした。肝細胞はそれを利用してATPを産生しenergy chargeを回復して修復へと向かうことが予想された。今回の実験結果では、非灌流群でも肝酸素消費量は不十分ながらも遮断前値までは回復していたため、肝酸素需給動態の破たんをきたしたとまでは言いきれない。しかし、実際の臨床では遮断時間の延長を余儀なくされる場合もありうる。このような場合には阻血による肝細胞障害はさらに強くなり、遮断解除後の肝酸素需要はさらに亢進することが予想され、低温肝灌流なしでは肝酸素需給動態の破たんをきたす恐れが強い。したがって肝血行遮断中の肝細胞を保護し、遮断解除後の肝酸素需要の増加に対応できる低温肝灌流法の必要性がさらに強くなると考えられる。

稿を終えるにあたり、本研究の機会を与え御指導、御校閲

を賜った梶原哲郎教授に謹んで感謝の意を表します。また、終始御助言、御教示を賜った熊沢健一講師、実験の直接御指導頂いた大谷洋一講師をはじめ当医局諸学兄に心から深謝申し上げます。

文 献

- 1) Hirasawa H, Chaudry IH, Baue AE: Improved hepatic function and survival with adenosine triphosphatmagnesium chloride after hepatic ischemia. *Surgery* 83: 655-662, 1978.
- 2) Otto G, Wolff H, Uerlings I et al: Preservation damage in transplantation. *Transplantation* 42: 122-124, 1986.
- 3) Fortner JG, Shiu MH, Kinne DW et al: Major hepatic resection using vascular isoration and hypothermic perfusion. *Ann Surg* 180: 644-652, 1974.
- 4) 高安 隆, 山岡義生, 小澤和恵ほか: 進行肝癌に対する拡大手術。胆と脾 10: 167-176, 1989
- 5) 宮崎 勝, 伊藤 博, 海保 隆ほか: 体内分離低温肝灌流下の肝切除例の検討。手術 47: 549-553, 1993
- 6) Daniel AM, Beaudoin JG: Evaluation of mitochondrial function in the ischemic rat liver. *J Surg Res* 17: 19-25, 1974
- 7) 西田俊朗, 川島康生, 田川邦夫: 虚血障害の分子機作。代謝 24: 379-387, 1987
- 8) 木暮洋暉: 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
- 9) 阿部 幹: 体内肝灌流法の実験的研究。福島医誌 39: 535-549, 1989
- 10) 小山研二, 鹿嶋秋五, 浅沼義博ほか: 肝血行遮断下分離低温灌流法の確立とその応用。日消外会誌 21: 1211-1214, 1988
- 11) Pringle JH: Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. *Ann Surg* 48: 541-549, 1908
- 12) Griffith BP, Show BW, Starzl TE et al: Venovenous bypass without systemic anticoagulation for transplantation of the human liver. *Surg Gynecol Obstet* 160: 270-272, 1985
- 13) Monden M, Fortner JG: Twenty four and 48-hour canine liver preservation by simple hypothermia with prostacyclin. *Ann Surg* 196: 38-42, 1982
- 14) 和田 博, 堀尾嘉幸, 寺西啓容ほか: アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ。臨検 32: 1291-1299, 1988
- 15) 古川一隆, 岡本英三, 山中若樹ほか: 冷阻血障害に対するCoQ₁₀, urinastatinの細胞保護効果に関する検討。Cytotoxiol 7: 225-234, 1989

- 16) Parks DA, Granger DN: Ischemia-reperfusion injury: A radical view. *Hepatology* 8: 680-682, 1988
- 17) 小澤和恵, 森 敬一, 眞原康行ほか: 術前・術中・術後の代謝的肝機能評価. *外科治療* 59: 121-129, 1988
- 18) Lehninger AL: *Bioenergetics*. Second edition. Menlo Park, California, 1971, p95-98
- 19) Boime I, Smith EE, Hunter FE: Stability of oxydative phosphorylation and structural change of mitochondria in ischemic rat liver. *Arch Biochem Biophys* 128: 704-715, 1968
- 20) Farber JL, Young EE: Accelerated phospholipid degradation in anoxic rat hepatocytes. *Arch Biochem Biophys* 211: 312-320, 1981
- 21) Paulsen AW, Whitten CW, Ramsay MA et al: Considerations for anesthetic management during veno-venous bypass in adult hepatic transplantation. *Anesth Analg* 68: 489-496, 1989
- 22) 上田祐滋, 松尾憲一, 小野 洋: イヌ同所性移植肝のエネルギー代謝と微小循環におよぼす Prostaglandin E₁の保護効果. *移植* 21: 477-484, 1986
- 23) 篠原正彦, 中尾昭公: 肝阻血の血液凝固線溶系に及ぼす影響に関する実験的研究. *日外会誌* 86: 544-554, 1985
- 24) 永野公一: 低体温の肝循環, 肝酸素需給, 肝代謝, 並びに虚血性肝障害に及ぼす影響について. *大阪大医誌* 42: 441-451, 1990
- 25) Ohkawa M, Clemens MG, Chaudry IH: Studies on mechanism of beneficial effect of ATP-MgCl₂ following hepatic ischemia. *Am J Physiol* 244: 695-702, 1983
- 26) Chen ST, Hsu CY, Hogan EL et al: Thromboxane, prostacyclin and leukotrienes in cerebral ischemia. *Neurology* 36: 466-470, 1986
- 27) Montrucchio G, Alloatti G, Tetta C et al: Release of platelet activating factor from ischemic-reperfused rabbit heart. *Am J Physiol* 256: 1236-1246, 1989
- 28) Dempsey RJ, Combs DJ, Maley ME et al: Moderate hypothermia reduces postischemic edema development and leukotriene production. *Neurosurgery* 21: 177-181, 1987

Experimental Study on the Prevention of Reperfusion Injury after Hepatic Ischemia by Hepatic Low-Temperature Perfusion

Yoshiaki Asami

Department of Surgery, Tokyo Women's Medical College, Daini Hospital

We carried out an experimental study on changes in hepatic blood circulation and hepatic oxygen supply after release of interruption of hepatic low-temperature perfusion with interruption of hepatic circulation. Adult mongrel dogs with 60 minutes' liver ischemia were divided into a hepatic low-temperature perfusion group (n=10) and a non-perfusion group (n=8). On and after 30 minutes after release of interruption, the hepatic artery blood flow and portal vein blood flow decreased in the non-perfusion group but increased in the perfusion group with significant differences ($p < 0.01$). On and after 30 minutes after release of interruption, the hepatic oxygen supply decreased in the non-perfusion group, reflecting a decrease in the hepatic blood flow, but increased in the perfusion group with a significant difference ($p < 0.01$). On and after 30 minutes after release of interruption, the oxygen consumption did not increase in the non-perfusion group but increased in the perfusion group with a significant difference (30 and 60 minutes after release, $p < 0.01$; after 120 minutes, $p < 0.05$). These results suggest that hepatic low-temperature perfusion with interruption of hepatic blood circulation increases the hepatic oxygen supply with an increase in hepatic blood flow after release of interruption, contributing to recovery from reperfusion injury resulting from hepatic warm ischemia.

Reprint requests: Yoshiaki Asami Department of Surgery, Tokyo Women's Medical College, Daini Hospital

2-1-10 Nishi-oku, Arakawa-ku, Tokyo, 116 JAPAN