

エンドトキシン肝細胞障害における prostaglandin E₁の 効果に関する実験的検討

防衛医科大学校第1外科

井戸田 望 初瀬 一夫 庄野 聡 相原 司
村山 道典 酒井 良博 青木 秀樹 出井 雄幸
西田 正之 柿原 稔 玉熊 正悦

エンドトキシン (以下, Ex と略記) 誘発性肝障害における prostaglandin E₁ (以下, PGE₁ と略記) の投与効果を, 投与量を変化させて実験的に検討した. ラットの循環動態に影響を及ぼさない最大の PGE₁ 量は 0.1 μg/kg/min であった. 微量のエンドトキシン 15 μg/hr/100gBw のみを持続投与した群 (以下, Ex 群 と略記) に対し, Ex に PGE₁ を 0.02 または 0.1 μg/kg/min 同時投与した群 (以下, Ex + 0.02 PGE₁ 群, Ex + 0.1 PGE₁ 群 と略記) において 7.5 時間後の末梢血肝機能 (T-Bil, GPT, LDH, ALP), 動脈圧, 肝組織血流を比較検討した. Ex 群で生じた肝機能障害に対し, Ex + 0.02 PGE₁ 群では T-Bil の軽度低下を示したが, GPT, LDH の低下は認めなかった. 一方, Ex + 0.1 PGE₁ 群では肝機能の著明な悪化を認めた. 各群間では動脈圧, 肝組織血流に有意差は認めなかった. エンドトキシン血症に伴う肝機能障害において, PGE₁ はその投与量により効果が異なることが示唆された.

Key words: endotoxin, liver dysfunction, prostaglandin E₁

緒 言

消化器外科領域において, 遷延する重症感染症に時として原因不明の黄疸を生じ, その治療に難渋することがある¹⁾. この重症感染症時の黄疸にエンドトキシン血症の関与が指摘されているが²⁾³⁾, エンドトキシンが肝臓に障害を及ぼす機序に関してはまだ明らかにされていない部分が多い. 教室では, ショックを呈さない程度の重症感染症の病態をラットに実験的に再現する目的で, 微量のエンドトキシンを持続的に静注し, その際の肝障害の発生機序や薬剤の効果などを検討してきた¹⁾²⁾. 一方, 外科領域では最近 prostaglandin E₁ (以下, PGE₁ と略記) がショック肝や肝切除後肝再生での門脈血流増加作用⁴⁾⁵⁾, *in vitro* での肝細胞保護作用⁶⁾などで注目されている. そこで今回, この PGE₁ がエンドトキシン血症に伴う肝細胞障害に及ぼす影響を実験的に検討した.

方 法

実験動物は体重 300~400g のドンリュウ系雄性ラットを使用した. Pentobarbital 麻酔下 (25mg/kg を尾

静脈より投与) にラットの後頭部より皮下を通して頸静脈および大腿静脈にそれぞれカテーテル (DOW CORNING 社, SILASTIC® CAT No. 602-135) を留置し, 頸静脈より PGE₁ あるいは生食を, 大腿静脈よりエンドトキシン (SIGMA 社 Lipopolisaccharide, E. coli O111:B4) あるいは生食を投与した. カテーテルは後頭部より体外へ誘導し, 外筒にて保護した上, 長さは充分長くして実験期間中のラットの代謝ケージ内での体動が抑制されないように配慮した. 飼料は自由摂取とした (Fig. 1 左).

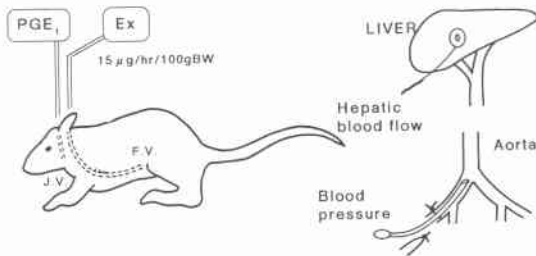
また実験中の循環動態を調べるために, 経時的に動脈圧・肝組織血流を測定した. 肝組織血流は, 肝臓の左葉に針状のトランスデューサーを刺入し, これを TISSUE BLOOD FLOW METER (UNIQUE MEDICAL 社) に接続して連続測定した. 動脈圧の変化は大腿動脈に 22G サーフロー針を挿入し, GAELTEC LUER F308 圧トランスデューサー (FLUID-FILLING 社) を用いて連続的に記録した (Fig. 1 右).

このモデルにおいて以下の実験を行った.

実験 1. PGE₁ の投与量の違いによる循環動態に及ぼす影響

まず, PGE₁ の投与量の違いによる循環動態への影

Fig. 1 Experimental model of rat
(J.V.: jugular vein F.V.: femoral vein)



響をみるため、頸静脈からの PGE₁ 投与量を 0.02, 0.1, 0.2 µg/kg/min と段階的に変えて持続注入し、経時的に動脈圧、肝組織血流を測定した。

実験2. エンドトキシン肝障害における PGE₁ の影響

エンドトキシン単独投与群 (以下, Ex 群と略記) に対して, PGE₁ を同時に投与し (以下, Ex+PGE₁ 群と略記), エンドトキシン肝障害に対する PGE₁ の影響を検討した。実験モデルに対して, 大腿静脈からはエンドトキシン 15 µg/hr/100gBw, または同容量の生食を持続注入することとし, 頸静脈からは実験1で設定した量の PGE₁, あるいは同量の生食を持続静注することとした。その後, 実験的エンドトキシン血症で最も黄疸が増強するとされる7.5時間目²⁾に採血し, 生化学検査として total bilirubin (以下, T-Bil と略記), glutamic pyruvic transaminase (以下, GPT と略記), lactic dehydrogenase (以下, LDH と略記), alkaline phosphatase (以下, ALP と略記) をそれぞれ測定した。

実験3. 循環動態に対する影響

また, 持続的エンドトキシン血症における肝機能障害に対して循環動態の関与の有無を明らかにするために, 経時的に7.5時間のあいだ生食投与群 (以下, 生食群と略記), Ex 群, Ex+PGE₁ 群において動脈圧・肝組織血流を測定した。

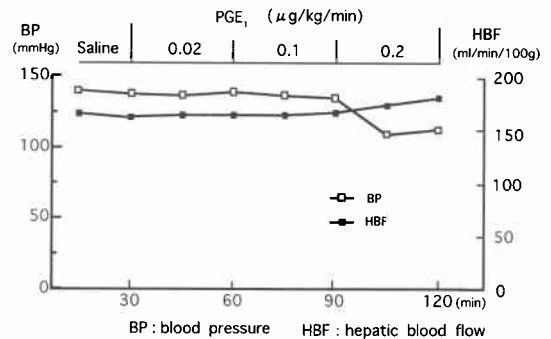
検査結果は平均値±標準偏差で表し, 有意差検定には一元配置分散分析による多項目検定を用いた。

成 績

実験1. PGE₁ の3種の投与量が循環動態に及ぼす影響

PGE₁ を 0.02 および 0.1 µg/kg/min 単独で持続静注した場合には動脈圧・肝組織血流に変化を与えなかったが, 0.2 µg/kg/min では動脈圧の低下を認めた (Fig.

Fig. 2 Effect of PGE₁ on blood pressure and hepatic blood flow



2).

このことから循環動態に影響を及ぼさない最少量 0.02 および最大量 0.1 µg/kg/min の PGE₁ を実験2の使用量に設定した。

実験2. エンドトキシン肝障害における PGE₁ の影響 (血液生化学検査)

① T-Bil

Ex 群 (n=18) では T-Bil 1.51±1.08mg/dl, D-Bil 1.05±0.84mg/dl であるのに対し, 0.02 µg/kg/min の PGE₁ を同時投与した (以下, Ex+0.02PGE₁ 群と略記, n=10) 場合, T-Bil 0.86±0.45mg/dl, D-Bil 0.62±0.35mg/dl で Ex 群に比べてやや低い傾向が見られたが有意差はなかった。これに対し, 0.1 µg/kg/min の PGE₁ を同時投与した (以下, Ex+0.1PGE₁ 群と略記, n=8) 場合には T-Bil 3.41±2.19mg/dl, D-Bil 2.64±1.79mg/dl であり, Ex 群, Ex+0.02PGE₁ 群よりも有意に高値を示した (おのおの p<0.01) (Fig. 3)。PGE₁ を 0.1 µg/kg/min 単独投与した場合 (以下, PGE₁ 群と略記, n=4) には, T-Bil 0.1±0.0mg/dl と上昇を認めなかった。

② GPT

Ex 群の 695±349U/L に対し, Ex+0.02PGE₁ 群では 1,159±940U/L と上昇を示したが Ex 群との間に有意差はなかった。Ex+0.1PGE₁ 群では 3,383±3,044U/L と著明に高値を示し, Ex 群, Ex+0.02PGE₁ 群との間に有意差を認めた (おのおの p<0.01, p<0.05) (Fig. 4)。PGE₁ 群では 42±5U/L であった。

③ LDH

GPT と同様, Ex 群の 9,224±6,324U/L に対し, Ex+0.02PGE₁ 群では 11,357±11,869U/L と軽度の上昇を示したが Ex 群との間に有意差は認めなかつ

Fig. 3 Effect of PGE₁ on T-Bil with endotoxiemia after 7.5 hours

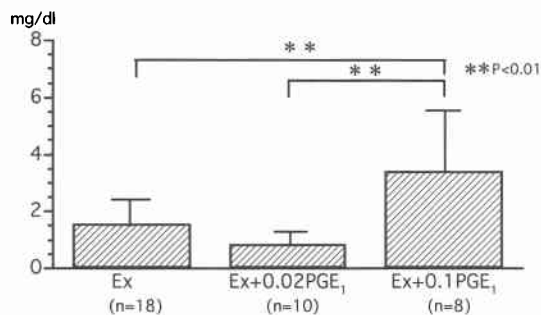


Fig. 4 Effect of PGE₁ on GPT with endotoxiemia after 7.5 hours

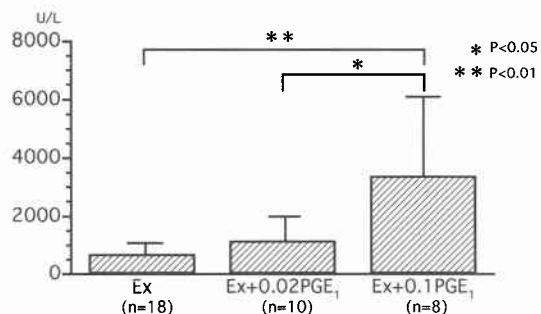


Fig. 5 Effect of PGE₁ on LDH with endotoxiemia after 7.5 hours

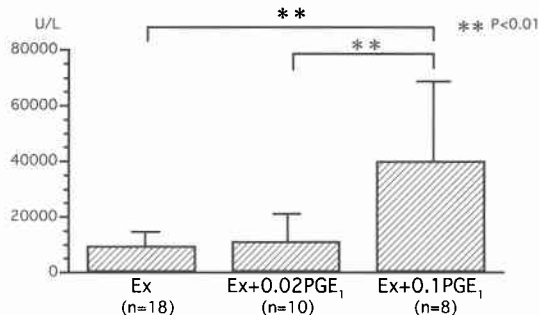
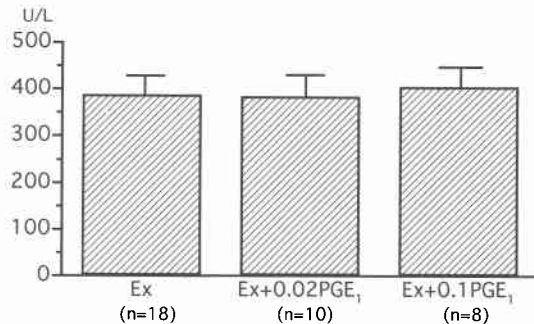


Fig. 6 Effect of PGE₁ on ALP with endotoxiemia after 7.5 hours



た。これに対し Ex+0.1PGE₁群では39,956±28,572 U/Lと著明に高値を示し、Ex群、Ex+0.02PGE₁群との間に有意差を認めた(おのおの p<0.01) (Fig. 5)。PGE₁群は94±43U/Lであった。

④ ALP

Ex群364±57U/Lに対して、Ex+0.02PGE₁群386±42U/L、Ex+0.1PGE₁群407±45U/Lであり、3群間には有意差を認めなかった (Fig. 6)。PGE₁群は200±34U/Lであった。

実験3. 循環動態に対する影響

動脈圧・肝組織血流の変化を見るために実験開始時の測定値を100とし、各群実験開始後7.5時間後の増減を%で表示した。各群とも薬剤投与開始前と7.5時間後で大きな変化は認めなかった (Table 1)。

考 察

術後黄疸の発生頻度は0.2~3.7%と報告され、死亡率も高く重篤な合併症とされる。とりわけ術後感染を契機に黄疸が上昇する場合には、多臓器障害や肝不全に移行し予後不良とされる。これら重症感染症に合併する黄疸、肝機能障害にはエンドトキシンの関与が指

Table 1 Changes in blood pressure and hepatic blood flow after 7.5 hours. Data are given as a percentage difference between the value before starting and after 7.5 hours

| | Control | Ex | Ex+0.1PGE ₁ |
|--------------------|---------|-----|------------------------|
| blood pressure | 100 | 102 | 101 |
| hepatic blood flow | 100 | 121 | 102 |

摘されている²³⁾。その発生機序としては微小循環障害⁷⁾、chemical mediatorの誘導⁸⁾、活性酸素などが報告されており、これらの複雑な相互作用・相乗作用により肝障害が引き起こされると考えられている。また、Uttiliら⁹⁾や当科の西田ら²⁾は、エンドトキシンの黄疸が肝細胞障害よりも毛細胆管レベルでの胆汁排泄障害による胆汁うっ滞作用が主体であることを指摘した。いずれにせよエンドトキシンの肝障害ならびに胆汁うっ滞作用がみられるわけで、重症感染症に伴う黄疸の治療としてはエンドトキシンを介する各種

mediator の除去目的での血漿交換,あるいは胆汁うっ滞軽減目的での副腎皮質ステロイド使用があげられているが,治療上難渋することが多い。

われわれはショックを起こさない程度の持続的エンドトキシン血症によるラット肝障害モデルで,薬剤による障害軽減を検討してきた¹²⁾。今回は, in vivo では肝血流増加作用, in vitro では直接肝細胞の cytoprotection 作用を有するとされる PGE₁ のエンドトキシン肝障害における効果を検討した。

PGE₁ は長鎖不飽和脂肪構造をもつ生理活性物質で, 1969年 Carlson ら¹⁰⁾が呼吸循環器系に及ぼす影響を報告して以来, 多くの検討がなされてきた。近年 PGE₁ は心臓¹¹⁾, 腎臓¹²⁾のみならず肝臓においてもその至適投与量により肝血流を増加させることが報告されている⁴⁾⁵⁾¹³⁾。本実験においては, まず PGE₁ が 0.02~0.1μg/kg/min の範囲では血圧は低下せず, 肝組織血流も維持されることを確認した。そこでエンドトキシン肝障害における PGE₁ の効果をみるため最少量として 0.02μg/kg/min を, 最大量として 0.1μg/kg/min を使用した。結果的には 0.02μg/kg/min の PGE₁ 同時投与ではエンドトキシン単独投与に比べ T-Bil は減少傾向が見られるものの肝障害の改善傾向は見られず, 0.1μg/kg/min 同時投与ではむしろ T-Bil の上昇ならびに肝障害の増悪がみられた。

先に述べたようにエンドトキシン肝障害には血栓形成に伴う微小循環障害⁷⁾, chemical mediator 遊離作用⁸⁾, 活性酸素産生などが関与していると考えられている。一方, PGE₁ の薬理作用としては血管拡張作用¹⁴⁾, 血小板凝集抑制作用¹⁵⁾, 血流増加作用⁴⁾⁵⁾¹³⁾, 赤血球変形能亢進作用¹⁶⁾, 細胞膜安定化作用¹⁷⁾¹⁸⁾, Interleukin-1産生抑制作用⁸⁾¹⁹⁾などが報告されている。実際, 動物実験では培養肝細胞のケノデオキシコール酸による障害¹⁸⁾, ガラクトースアミン障害肝²⁰⁾, イヌ肝移植¹⁷⁾²¹⁾, 臨床では重症肝炎の治療²²⁾, 硬変肝の切除後⁵⁾などで有効性が示されている。このように PGE₁ の肝障害軽減作用が多く報告されているにもかかわらず, エンドトキシン障害肝における PGE₁ の影響に関する報告は極めて少ない。検索しえた範囲では溝口ら¹⁹⁾のエンドトキシン障害肝における PGE₁ の Interleukin-1産生抑制の報告をみるにすぎない。

一方, Strong ら²³⁾は in vitro の実験で, 少量の PGE₁ は門脈血管の拡張が, 高濃度では逆に門脈血管の収縮が見られたと述べている。また後藤ら²⁴⁾は, 術中3~4 μg/kg/min の PGE₁ 投与により有意な GOT, LDH の

上昇と, 有意ではないが GPT の上昇を認めたと報告している。これらは, PGE₁ は投与量により肝臓への影響が異なる可能性があることを示唆する報告である。

今回, エンドトキシン肝障害に対して PGE₁ を投与したが, 循環動態に影響を及ぼさない最大量 0.1μg/kg/min の投与によって肝機能の悪化を認めた。同量の PGE₁ 単独投与では肝障害は来たさなかったことは, PGE₁ による薬剤性肝障害や, Strong ら²³⁾が唱えた大量投与時の門脈血管収縮による循環障害だけでは説明がつかず, エンドトキシンと PGE₁ が何らかの形で相互的あるいは相乗的に作用したものと推察される。すなわち, エンドトキシン肝障害に PGE₁ を使用する際には許容投与量が狭いことを示唆する所見にほかならない。

PGE₁ は, その細胞保護効果と肝組織血流維持効果から肝障害の防止効果が期待できるものの, その根拠の多くは薬剤性肝障害ならびに肝切除後などの検討からである。しかしながら, 今回の検討からエンドトキシン血症に伴う肝障害時の使用に関しては, エンドトキシンと PGE₁ の相乗作用の機序の解明, 安全な PGE₁ 投与量の問題などの解決がまず重要であり, 今後の検討課題と思われる。

文 献

- 1) 出井雄幸: 閉塞性黄疸解除後の黄疸遷延化因子としてのエンドトキシン血症に関する実験的検討。日外会誌 94: 809-815, 1993
- 2) 西田正之: エンドトキシン血症時の胆汁うっ滞機序に関する研究。埼玉医会誌 18: 315-319, 1991
- 3) Mizoguchi Y, Tsutsui H, Sakagami Y et al: Characteristics of the hepatocytotoxic factor in mice with experimentally-induced massive hepatic cell necrosis. Arerugi 37: 959-968, 1988
- 4) 浅原利正, 土肥雪彦, 枝本敏行ほか: 肝切除術中プロスタグランジン E₁ 投与の意義。現代医療 24: 1573-1579, 1992
- 5) 久永倫聖, 中島祥介, 金広裕道ほか: 硬変肝切除術における肝血行動態と prostaglandin E₁ 投与の検討。日消外会誌 27: 1021-1027, 1994
- 6) 石田孝雄: PGE₁ の肝循環に及ぼす影響について。日外会誌 89: 898-905, 1988
- 7) 芝山雄老: エンドトキシンと肝障害。代謝 26: 441-451, 1989
- 8) 河田則文, 長谷川格, 溝口靖紘ほか: 肝粘着性細胞および Kupffer 細胞における interleukin 1 の産生と prostaglandin による制御。肝臓 30: 1709-1715, 1989
- 9) Utili R, Aberoathy CO, Zimmerman HJ: Studies on the effects of E. coli endotoxin on

- canalicular bile formation in the isolated perfused rat liver. *J Lab Clin Med* 89 : 471-482, 1977
- 10) Carlson LA, Ekelund LG, Oro L: Circulatory and respiratory effects of different doses of prostaglandin E₁ in man. *Acta Physiol Scand* 75 : 161-169, 1969
 - 11) 河合典子: 冠動脈狭窄犬における大動脈遮断時のプロスタグランジンE₁およびトリメタフェンの血行動態に及ぼす影響. *麻酔* 40 : 965-964, 1991
 - 12) 山森祐治, 大石敬子, 津島宏一ほか: 生体腎移植, 術中術後におけるプロスタグランジンE₁の使用経験. *麻と蘇生* 26 : 53-57, 1990
 - 13) 中野達夫, 永川宅和, 武田利弥ほか: プロスタグランジンE₁の肝組織血流量に及ぼす影響に関する臨床的検討. *現代医療* 23 : 3524-3526, 1991
 - 14) Weiner R, Kaley G: Influence of prostaglandin E₁ on the terminal vascular bed. *Am J Physiol* 217 : 563-566, 1969
 - 15) 岡本一聖, 野口 宏, 斉藤文夫ほか: 低血圧麻酔におけるPGE₁の循環, 血小板, 凝固-線溶系に及ぼす影響. *現代医療* 14 : 2204-2208, 1982
 - 16) 山口 寛, 古川欽一, 高橋雅俊: 慢性動脈閉塞疾患におけるProstaglandin E₁の効果. *現代医療* 17 : 447-450, 1985
 - 17) 上田祐滋, 松尾憲一, 小野 洋ほか: イヌ同所性移植肝のエネルギー代謝と微小循環に及ぼすProstaglandin E₁の保護効果. *移植* 21 : 477-484, 1986
 - 18) 石井良知: ケノデオキシコール酸の培養ラット肝細胞に及ぼす影響と, Prostaglandin E₁の細胞保護作用について. *日消病会誌* 82 : 108-117, 1985
 - 19) 溝口靖紘, 市川祐三, 河田則文ほか: 肝類洞内皮細胞のインターロイキン1産生に及ぼすアラキドン酸代謝産物および血小板活性化因子の影響. *肝臓* 31 : 139-145, 1990
 - 20) 志村賢範, 宮崎 勝, 栗原正利ほか: D-ガラクトサミン障害肝の肝切除後肝再生におけるプロスタグランジンおよびグルカゴン, インスリン療法の意義に関する基礎的検討. *日消外会誌* 20 : 1877-1882, 1987
 - 21) 孝橋慶一, 山岡義生, 森敬一郎ほか: 肝保存(24時間)におけるプロスタグランジンE₁の効果—肝移植における検討. *現代医療* 23 : 2858-2865, 1991
 - 22) 武村晴行, 竹岡 玲, 大田博之ほか: 重症肝炎に対するPGE₁の効果. *現代医療* 23 : 2881-2887, 1991
 - 23) Strong CG, Bohr DF: Effects of prostaglandin E₁, E₂, A₁ and F_{1α} on isolated vascular smooth muscle. *Am J Physiol* 213 : 725-733, 1967
 - 24) 後藤敏子, 松本延幸, 宮崎 孝ほか: プロスタグランジンE₁による低血圧麻酔の肝循環, 肝機能に及ぼす影響について. *麻酔* 31 : 452-457, 1982

Experimental Studies of the Effects of Prostaglandin E₁ Administration to Rats with Liver Dysfunction Induced by Endotoxin

Nozomi Idota, Kazuo Hatsuse, Satoshi Shouno, Tsukasa Aihara, Michinori Murayama, Yoshihiro Sakai, Hideki Aoki, Takeyuki Idei, Masayuki Nishida, Minoru Kakihara and Shouetsu Tamakuma
First Department of Surgery, National Defense Medical College

We investigated the effect of prostaglandin E₁ (PGE₁) on rats with liver dysfunction induced by endotoxin. The dose of PGE₁ did not exceed 0.1 μg/kg/min, which did not affect the circulation adversely. The rats were divided into three groups as follows: the Ex-group was given endotoxin alone; the Ex + 0.02 PGE₁-group was given endotoxin and 0.02 μg of PGE₁; the Ex + 0.1 PGE₁-group was given endotoxin and 0.1 μg of PGE₁. We compared the liver function (T-Bil, GPT, LDH, ALP), arterial blood pressure (BP) and liver tissue blood flow (TBF) in these groups. In the Ex + PGE₁-group liver function was exacerbated though in the Ex + 0.02 PGE₁-group T-Bil was improved. BP and TBF showed little difference among these groups. These results suggested that both doses of PGE₁ had an adverse effect on liver dysfunction induced by endotoxin.

Reprint requests: Nozomi Idota First Department of Surgery, National Defense Medical College
3-2 Namiki, Tokorozawa-shi, Saitama-ken, 359 JAPAN