原 著

## 肝血行遮断下における酸素供給源としての肝静脈血の役割

秋田大学第1外科,同 第2病理\*

 佐藤
 勤
 草野
 智之
 黒川
 敏昭

 南條
 博\*
 川村
 公一\*
 安井
 應紀

 加藤
 健
 浅沼
 義博
 小山
 研二

肝血行遮断下での肝静脈血の役割についてブタを用いて実験的に検討した。すなわち,流入血行遮断時に肝静脈から肝組織に酸素が供給され,それが利用されているか否かを明らかにするため,60分間の肝流入血行遮断中,肝静脈を介した肝組織の持続的酸素化を図り,それにより血行遮断後の肝障害が軽減されるか否かを検討した。その結果,PGE、を併用した肝静脈血酸素化により肝組織酸素飽和度が高く維持され,肝組織の酸素化が可能であった。また,PGE、を併用した肝静脈血酸素化群において,血流再開120分後の血清 GOT 値,ICGk 値が流入血行遮断のみの対照群と比較し有意に良好であり,光顕・電顕で観察した組織学的障害も軽度であった。したがって,流入血行遮断時には,肝静脈血中の酸素が逆行性に肝組織に供給され利用されることが示唆された。

Key words: liver ischemia, hepatic vein, prostaglandin E<sub>1</sub>

#### はじめに

肝臓手術において肝切離中の出血は,手術後の転帰を左右する重要な因子であるっため,出血量を減少させるべく種々の血行遮断が行われる.このうち,Pringle 法っなどの流入血行遮断は,手技が簡便なために頻用されているが,これのみでは肝静脈からの出血の制御は不能であり,肝静脈や下大静脈に近接する巨大な腫瘍の切除に際しては,流入血行遮断に加えて肝上下の下大静脈も遮断する全肝血行遮断³\*'が行われ,その有用性が報告されている.

近年,この流入血行遮断と全肝血行遮断の肝に及ぼす影響の違いがイヌ<sup>5)</sup>,ブタ<sup>6)</sup>,ラット<sup>7)</sup>などで検討され,いずれも全肝血行遮断による障害が流入血行遮断による障害よりも大きいことが報告された.両者の違いは,全身の血行動態に差がない場合肝静脈血の有無によるものと考えられることから,流入血行遮断時に肝静脈血が肝組織に酸素を供給することが推察されるが,その証明はなされていない.この問題に関して,われわれはブタの流入血行遮断時に肝静脈血の酸素含量を上昇させると肝組織酸素飽和度が上昇することから,流入血行遮断時に肝静脈血が逆行性に肝組織に酸素を供給しうることを報告した<sup>6)</sup>.今回,同じくブタ

< 1998年11月13日受理>別刷請求先: 佐藤 勤 〒010 8543 秋田市本道1 1 1 秋田大学医学部第 1 外科 を用いて,60分間の流入血行遮断中に肝静脈を介して 肝組織を持続的に酸素化することにより,血行遮断後 の肝障害を軽減しうるか否かを検索し,肝静脈血から の酸素が肝組織で利用されるか否かについて検討し た.

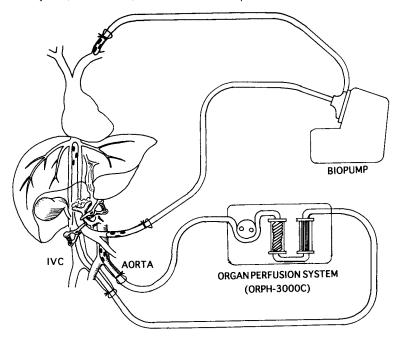
#### 対象と方法

#### 1. 実験モデル

本研究は秋田大学医学部動物実験指針に則り、同動 物実験施設内で行われた.動物は体重25kgのLandrace 系雌性豚13頭を用いた、術前24時間絶食の後, medetomidine 80μg/kg(Farmos, フィンランド)なら びに mitazolam 0.25mg/kg(Roche, スイス)を筋注後, 気管内挿管し,吸入気酸素濃度を0.5(酸素: 笑気 = 1: 1)とし, 1.0~1.5%の sevoflurane (丸石製薬)を吸入 させ調節呼吸で維持した,右外頸静脈から輸液路,右 内頸動脈から動脈圧モニター兼採血用カテーテルを挿 入し,右内頸静脈から静脈血酸素飽和度測定用カテー テル(Oximetry TD catheter, 米国 Baxter 社)を挿入 し右肝静脈に誘導した.また,左外頸静脈を露出し16 Frのバイパス送血用カニューラ (Medtronic Bio-Medicus 社,米国)を挿入した.次に開腹し,肝十二 指腸間膜を剥離し,胆管にチューブを挿入し胆汁外瘻 とした.門脈と肝動脈以外の肝十二指腸間膜の結合組 織とリンパ組織ならびに肝周囲の靭帯をすべて切離 し,遮断中の側副血行路の発達を防いだ,脾臓を摘出

Fig. 1 Schematic diagram of hepatic inflow occlusion and oxygenation of the hepatic venous blood

Both the portal vein and the hepatic artery are occluded at the hepatic hilum under portosystemic bypass. Arterial blood is drawn and oxygenated by the organ perfusion system, ORPH-3000C, and returned to the hepaticocaval confluence.



し、脾静脈から14Frの門脈血の脱血用カニューラ (Medtronic Bio-Medicus 社、米国)を挿入し、バイオポンプ (Bio-Console 540®, Medtronic Bio-Medicus 社、米国)に接続した。さらに、下大静脈血を酸素化するため、脱血路として12Frカニューラを左大腿動脈から腹部大動脈内に挿入し、酸素化した血液の送血路として14Frカニューラ(ともに Medtronic Bio-Medicus 社、米国)を左大腿静脈から挿入し下大静脈の肝静脈流入部に留置した。

以上の準備の後,遮断前値の肝組織酸素飽和度の測定と採血を行い,門脈 左外頸静脈パイパス下に肝流入血行を60分間遮断した.血行遮断中,肝静脈の収縮を防ぐ<sup>®</sup>目的で prostaglandin E<sub>1</sub> (以下,PGE<sub>1</sub>,Alprostadil,小野薬品工業)を0.1µg/kg/min の速度で右外頸静脈から持続投与した.PGE<sub>1</sub>にはそれ自体に肝細胞保護効果も認められる<sup>®</sup>ため,肝静脈血酸素化とPGE<sub>1</sub>投与により以下の3群を設定した.

対照群:流入血行遮断のみ(n=4)

PGE₁群:流入血行遮断 + PGE₁投与(n=4)

肝静脈血酸素化群:流入血行遮断+肝静脈血酸素化

#### + PGE<sub>1</sub>投与(n=5)

肝静脈血酸素化は,大動脈から脱血した血液を,臓器灌流装置(ORPH-3000C,泉工医科)内の多孔質中空糸型人工肺(EC-30 泉工医科)を通して純酸素で酸素化し,下大静脈の肝静脈流入部に200ml/min の速度で送血することにより行った(Fig. 1). 回路内の血液温を37 に保つよう熱交換器で加温し,pHは7.4に維持した.また,回路内の血栓形成を予防する目的で下大静脈血酸素化の開始前に1,000単位のヘパリンを静注し,30分後に1,000単位を追加投与した.実験動物は,実験終了後(再灌流2時間後)に麻酔下に塩化カリウムを急速に静脈内投与し,犠牲死させた.

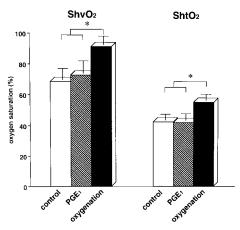
### 2.検索項目と方法

血行遮断前ならびに遮断中の動脈血の血液ガス分析 (Chiron 348, Chiron Diagnostics, 米国)を10分ごとに 行い, 肝静脈血酸素飽和度( $ShvO_2$ )は酸素飽和度測定機能付き心拍出量コンピュータ( $SAT-2^{\otimes}$ , Baxter, 米国 )に接続して持続的にモニターした $^{11}$ . また, 肝組織酸素飽和度( $ShtO_2$ )を近赤外線分光分析装置(MCPD-1000, 大塚電子)で10分ごとに測定・解析した $^{8}12^{2}13$ ).

1999年 3 月 23(807)

Fig. 2 Oxygen saturation of the hepatic venous blood and the hepatic tissue 60 minutes after the hepatic inflow occlusion

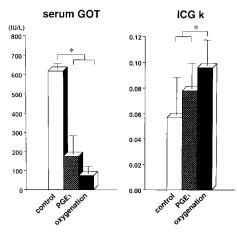
ShvO $_2$ , oxygen saturation of the hepatic venous blood; ShtO $_2$ , oxygen saturation of the hepatic tissue; control, control group ( N=4 ); PGE $_1$ , PGE $_1$  infusion group ( N=4 ); oxygenation, oxygenation of the hepatic venous blood group ( N=5 ) \*p<0.05



測定部位は肝左内側葉臓側面の中間点に定め,発光・ 受光用プローブの間隔を0.5cm に固定するアタッチメ ントを用いてプローブを肝表面を圧しない程度に可能 な限り近接させて測定した.測定時間は0.5秒とし,解 析波長を680~900nm と定めて,装置附属の解析用コ ンピュータプログラム(多成分解析ソフトウェア SVDB, 大塚電子)を用いて oxyhemoglobin および deoxyhemoglobin の量から ShtO₂を求め, 各3回の測定 の平均値を測定値とした.また,各実験群の血行遮断 ・血流再開後の肝障害の程度を比較するため,血行遮 断解除120分後の血清 GOT 値, ICG k 値 (0.3mg/kg 負荷)を測定した.また,同時間の肝組織を採取し10 %ホルマリンで固定しパラフィン包埋した後に薄切切 片を作成し,hematoxylin-eosin 染色を行い光顕で観察 した. さらに, 類洞内皮細胞の超微形態をとらえるた めに,採取した肝組織の1部を3%グルタールアルデ ヒドに4~6時間固定後,1%オスミウム酸で浸漬固 定しエポン樹脂で包埋,酢酸ウランとクエン酸鉛の2 重電子染色後,透過型電子顕微鏡(JEM-1010,日本電 子)で観察した.

なお,統計学的有意差の検定にはStudent's t test を用い,危険率5%未満を有意とした。

Fig. 3 Serum GOT value and ICG clearance 120 minutes after revascularization of the liver control, cotrol group ( N=4 ); PGE<sub>1</sub>, PGE<sub>1</sub> infusion group ( N=4 ); oxygenation, oxygenation of the hepatic venous blood group ( N=5 ) \*p<0.05



# 1. 肝静脈血酸素化による ShvO₂と ShtO₂の変化

PGE,投与を行った PGE,群ならびに肝静脈血酸素化群では,投与中に平均動脈圧が15%低下したが,投与終了(血流再開)後には10分以内に投与前値に回復した.

成

各群の流入血行遮断前の  $ShvO_2$ は,対照群 $67.2\pm4.8$ %,PGE:群 $66.8\pm5.4$ %,肝静脈血酸素化群 $67.7\pm8.2$ % と差がなかった.遮断開始後,対照群と PGE:群では  $ShvO_2$ が直ちに90%前後に上昇した.各群の流入血行遮断60分後(遮断終了時)の  $ShvO_2$ は,対照群 $68.7\pm7.1$ %,PGE:群 $72.8\pm8.0$ %であるのに対し,肝静脈血酸素化群では $90.1\pm2.8$ %と有意に高値が持続していた.一方,遮断前の  $ShtO_2$ は,対照群 $43.4\pm5.8$ %,PGE:群 $41.2\pm7.2$ %,肝静脈血酸素化群 $44.2\pm5.6$ %と差がなかった.遮断開始後,対照群と PGE:群では  $ShtO_2$ が変化しなかったが,肝静脈血酸素化群では  $ShtO_2$ が変化しなかったが,肝静脈血酸素化群では  $ShtO_2$ が直ちに $55\sim60$ %に上昇した.流入血行遮断60分後の  $ShtO_2$ は,対照群 $42.4\pm3.6$ %,PGE:群 $42.0\pm4.5$ %に対し,肝静脈血酸素化群では $55.2\pm3.8$ %と有意に高値を持続していた(Fig.2).

2. 肝静脈血酸素化による血清 GOT 値と ICG k 値 の変化

血流再開120分後の血清 GOT 値は,対照群で $616\pm$ 32 IU/I であるのに対し,PGE $_1$ 群174 $\pm$ 100 IU/I,肝静脈血酸素化群75 $\pm$ 36 IU/I と,それぞれ有意に低値で

Fig. 4 Histology of the control group (hematoxylin-eosin) left, x 25; right, x 100 Swelling and necrosis of hepatocytes around the central veins are seen. Narrowing of the sinusoids and aggregation of leukocytes are also seen.

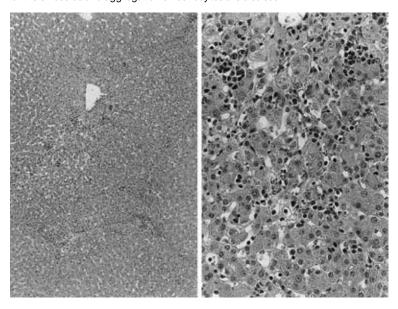
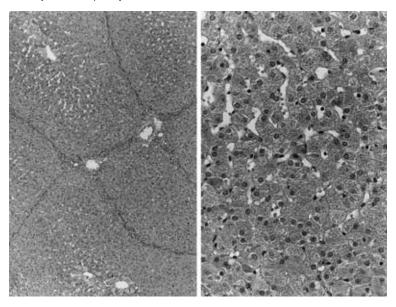


Fig. 5 Histology of the PGE<sub>1</sub> group (hematoxylin-eosin) left, x 25; right, x 100 Swelling of hepatocytes and narrowing of the sinusoids are seen, but aggregation of leukocytes and hepatocyte necrosis is not remarkable.

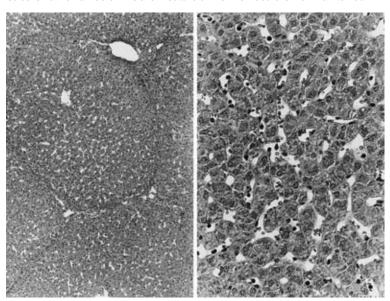


あった . PGE<sub>1</sub>群と肝静脈血酸素化群の間には有意差は認められなかった . 同じく血流再開120分後の ICG k値は,対照群0.057±0.03, PGE<sub>1</sub>群0.078±0.02であるのに対し,肝静脈血酸素化群は0.096±0.02であり,両

群と比較し有意に高値であった (Fig. 3).

3. 肝静脈血酸素化による肝組織像の変化 血流再開120分後の各群の肝組織像(H-E 染色)につ いて,まず対照群では肝細胞腫大,中心静脈周囲の肝 1999年 3 月 25( 809 )

Fig. 6 Histology of the PGE₁ group (hematoxylin-eosin) left, x 25; right, x 100 Swelling or necrosis of hepatocytes is not remarkable and narrowing of the sinusoids is not remarkable. The architecture of the liver lobule is well maintained.



細胞壊死,類洞の狭小化と類洞内に多数の赤血球と白血球の凝集を認め,微小循環障害の存在が推察された(Fig. 4). PGE.群では,肝細胞の腫大と類洞の狭小化はみられるものの,肝細胞壊死と白血球凝集は目立たなかった(Fig. 5). 肝静脈血酸素化群では,肝細胞の腫大は軽度で壊死もほとんどなく,さらに類洞の狭小化,類洞内赤血球凝集もみられず,小葉および腺房構造(組織構築)は良好に保たれていた(Fig. 6).

透過電顕像は,対照群では,類洞内皮細胞の膨化と核の崩壊像を認め,ほかにブラ,ブレブ形成などの内皮細胞障害を認めた(Fig. 7a).一方,肝静脈血酸素化群では,類洞内皮細胞の形態はよく保たれていた(Fig. 7b).

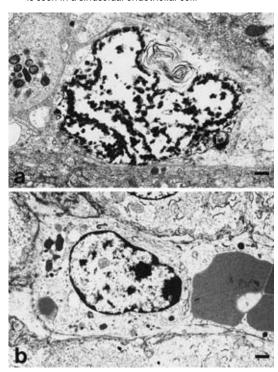
#### 老 窓

肝流入血行遮断下での肝切除時に肝静脈系からの出血に悩まされることは,外科医が日常的に経験することであり,また,肝臓移植の際に流入血行を再開する前に肝上下の下大静脈の鉗子をはずすと肝に血液の逆流による変色がみられることからも,肝への逆行性の血流の存在は明らかである.しかし,血行遮断下で肝静脈血が肝組織の酸素化に役立つとするには疑問点も少なくない.それは,静脈血の酸素含量が低く組織の酸素化には不十分と考えられること,人工呼吸による胸腔内圧の変化を考慮しても10cmH<sub>2</sub>O 程度の低圧で

あること, 閉鎖回路であるために to-and-fro の形での 流れに限定されること, などである. われわれは, ブ タの肝血行遮断時に本実験と同様の方法で肝静脈血の 酸素含量を変化させ、それにともない肝組織酸素飽和 度がいかに変化するかを検討し,流入血行遮断時に肝 静脈血が肝組織に酸素を供給しうるか否かを検討し た8). その結果 肝静脈血の酸素飽和度を上昇させると それに応じて肝組織酸素飽和度が上昇し, 肝静脈血の 逆流を防ぐ全肝血行遮断を行うと流入血行遮断時より も肝組織酸素飽和度が低下した.また,流入血行遮断 時には ShvO2は ShtO2よりも常に高値であるが,全肝 血行遮断では ShtO₂と ShvO₂は, ほぼ同じ値を示すこ とが明らかになった、この研究で用いた近赤外分光分 析による肝組織酸素飽和度の測定12/13/は,肝類洞に存 在するヘモグロビンの酸素化の状態を示すと考えられ ている. したがって,流入血行遮断下で肝静脈血の酸 素飽和度を上昇させるとその影響のために肝類洞の血 液の酸素飽和度が上昇したことから,流入血行遮断下 では,少なくとも肝静脈から肝組織に酸素が供給され うる状況にあることが示唆される.これは,全肝血行 遮断を行い肝静脈血の供給を断つと,肝静脈内に残存 ・停滞した血液と肝組織の酸素飽和度が、ともに流入 血行遮断時よりも低いという結果からも支持された.

しかしながら,上記の結果のみでは肝静脈から類洞

Fig. 7 Transmission electromicroscopic appearance of the sinusoidal endothelial cells (marking, 1µm) a. control group: Swelling of the sinusoidal endothelial cell and karyorrhexis are observed. b.hepatic venous oxygenation group: No particular damage is seen in a sinusoidal endothelial cell.



を介して肝組織に酸素が供給されうることは明らかになっても、供給された酸素が虚血状態におかれている肝組織でどの程度利用されているかは明らかではない、この点、肝静脈血の逆流のみられる流入血行遮断において、バイパスを置くなどして全身の血行動態に影響を与えない方法で行った同時間の全肝血行遮断よりも肝の障害が軽度であるというこれまでの報告。55)は、肝静脈から供給される酸素が肝組織で利用された結果と考えることができる、そこで、本実験では、流入血行遮断時に肝静脈血を持続的に酸素化して逆行性に肝組織を酸素化することにより、血流再開後の肝障害を軽減しうるか否かを明らかにし、肝静脈血により供給される酸素が血行遮断下における肝組織の酸素化に役立つか否かについて検討した。

60分間の肝流入血行遮断時に肝静脈血の酸素化を 行ったが,遮断中の肝静脈系の収縮を防ぎ<sup>3)</sup>,酸素化 した血液を可能な限り肝組織に行き渡らせる目的で PGE、を静脈内投与した.PGE、には肝血流改善作用(\*)の他に細胞膜安定化作用や cyclic AMP 上昇などによる直接的肝細胞保護効果(\*)も報告されている.実際,PGE、群において血流再開120分後の血清 GOT 値、ICG k値は対照群よりも有意に良好であり、これは PGE、の直接的細胞保護効果により、虚血再灌流障害が軽減された結果と考えられる.この際の PGE、の投与経路は末梢静脈投与であるが、肝流入血行遮断中のみの投与であり、持続投与終了後数分で PGE、の血中濃度が低下する(\*)ことを合わせて考えると、PGE、による肝細胞保護効果は肝静脈血の逆流により薬剤が肝に到達した結果もたらされたものと推測された.

PGE:投与を組合わせた肝静脈血酸素化群では,施行中肝組織酸素飽和度が有意に高く保たれ,GOT値,ICG k値でみた血流再開120分後の肝障害が最も軽度であった.組織学的にも虚血再灌流の結果引き起こされる微小循環障害が抑制され,肝細胞の変性および壊死が抑制されていた.さらに,電顕にてPGE;を併用した肝静脈血酸素化により,類洞内皮細胞の変化が抑えられ,再灌流後の微小循環障害が軽減されていることが支持された.

以上の結果,肝流入血行遮断時に肝静脈血が肝組織の酸素化に関与することが強く示唆される.また,肝静脈から逆行性に肝を酸素化することで肝血行遮断による障害を軽減することが可能であり,本法により血行遮断許容時間が延長される可能性もある.しかし,通常の呼吸条件では肝静脈血の酸素含量は低く,肝組織の酸素化は中心静脈域を主体として緩徐に行われるにすぎないと考えられる.したがって,その効率を高めるために肝静脈血の酸素含量を上昇させる何らかの方策が必要であろう.本研究で用いた人工肺による下大静脈血酸素化は,体外循環を必要とするなど手技的に煩雑であり,酸素含量の高い静脈血が肺へ運ばれることによる肺障害の発生でものでされる.本法を臨床応用するには,より簡便で,かつ選択的な肝静脈血酸素化システムを開発する必要がある.

以上,肝流入血行遮断時における肝静脈血の役割について,豚を用いて実験的に検討した.その結果,流入血行遮断時に肝静脈を介して肝組織を持続的に酸素化することにより,血行遮断後の肝障害が軽減された.したがって,流入血行遮断下では,肝静脈血からの酸素が肝組織で利用されることが示唆された.

なお,本論文の要旨は第48回および第51回日本消化器外科学会(ともに東京)において発表した.

1999年 3 月 27(811)

#### 文 献

- Shimada M, Matsumata T, Akazawa K et al: Estimation of risk of major complications after hepatic resection. Am J Surg 167: 399 403, 1994
- Pringle JH: Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. Ann Surg 48: 541 549, 1908
- 3) Huguet C, Gavelli A, Addario Chieco P et al: Liver ischemia for hepatic resection: Where is the limit? Surgery 111: 251 259, 1992
- Yamaoka Y, Ozawa K, Kumada K et al: Total vascular exclusion for hepatic resection in cirrhotic patients-Application of venovenous bypass. Arch Surg 127: 276 280, 1992
- 5) Egawa H, Takeuchi T, Yamaoka Y et al: Hepatic vascular exclusion as a model for complete and stable hepatic ischemia in dogs. Eur Surg Res 23: 170 178, 1991
- 6) Tatsuma T, Kim Y, Kai T et al: Importance of hepatovenous back-perfusion for maintenance of liver viability during the Pringle manoeuvre. Br J Surg 82: 1071 1075, 1995
- 7) 佐々木範明:ラット肝阻血再灌流における肝細胞 核 DNA 損傷に関する研究 In situ nick translation 法を用いて. 秋田医 25:147 157,1998
- 8 ) Sato T, Asanuma Y, Kusano T et al: Difference in hepatic tissue oxygenation between total vascular exclusion and inflow occlusion of the liver and the possible role of hepatic venous blood under liver ischemia. Dig Surg 15: 15 20, 1998
- 9) Nanjo H, Masuda H, Kawamura K et al: Acute

- suppression of hepatic blood flow by artificial increase of portal venous flow and release of suppression by Prostaglandin E<sub>1</sub>.Microcirculation Annual 91: 147 148, 1991
- 10 ) Mizoguchi Y, Tsutsui H, Miyajima K et al: The protective effects of prostaglandin E₁ in an experimental massive hepatic cell necrosis model. Hepatology 7: 1184 1187, 1987
- 11) Kainuma M, Fujiwara Y, Kimura N et al: Monitoring hepatic venous hemoglobin oxygen saturation in patients undergoing liver surgery. Anesthesiology 74: 49 52, 1991
- 12 ) Kitai T, Tanaka A, Tokuka A et al: Quantitative detection of hemoglobin saturation in the liver with near-infrared spectroscopy. Hepatology 18: 926 936, 1993
- 13 ) Tokuka A, Tanaka A, Kitai T et al: Interrelationship of oxygen supply by hepatic artery and portal vein: Rapid analysis of ischemia-reflowinduced changes in hepatic oxygenation in experimental and clinical subjects by tissue nearinfrared spectroscopy. Eur Surg Res 26: 342 352, 1994
- 14)新井善雄 ,浅沼義博 ,南條 博ほか: 術中肝血流障 害に対する Prostaglandin E<sub>1</sub>の効果に対する実験 的検討.日消外会誌 25:782 785, 1992
- 15) 大谷英祥: PGE<sub>1</sub>による人為的低血圧麻酔法の研究(第2報) PGE<sub>1</sub>の血中レベルの変動 . 臨麻6:667 672,1982
- 16 ) Barber RE, Lee J, Hamilton WK: Oxygen toxicity in man. N Engl J Med 283: 1478 1484, 1970

Role of the Hepatic Venous Blood as Oxygen Carrier under Liver Ischemia

Tsutomu Sato, Tomoyuki Kusano, Toshiaki Kurokawa, Hiroshi Nanjo\*,
Koichi Kawamura\*, Ouki Yasui, Takeshi Kato,
Yoshihiro Asanuma and Kenji Koyama
Department of Surgery, Department of Pathology\*, Akita University School of Medicine

The role of hepatic venous blood as oxygen carrier under hepatic ischemia was investigated in pigs. Thirteen pigs were exposed to inflow occlusion( IO ) of the liver for 60 minutes under veno-venous bypass. Oxygen saturation of the hepatic vein( ShvO<sub>2</sub> )and the hepatic tissue( ShtO<sub>2</sub> )were significantly raised by the oxygenation of the hepatic venous blood with the use of prostaglandin ( PG ) E<sub>1</sub> during IO. Oxygenation of the hepatic venous blood significantly ameliorated serum GOT level and ICG clearance 120 minutes after reperfusion. Histological examination proved the protective effect of oxygenation of the hepatic venous blood, and sinusoidal endothelial cells were by electron microscopic observation to be preserved. In conclusion, hepatic venous blood has a potential to supply oxygen to the liver under IO, and such oxygen can be utilized in the hepatic tissue

Reprint requests: Tsutomu Sato Department of Surgery, Akita University School of Medicine 1 1 Hondo, Akita, 010 8543 JAPAN