

# 肝虚血再灌流障害における ischemic preconditioning の 肝保護効果：肝組織グリコーゲン消費の関係について

獨協医科大学第2外科

濱 田 清 誠

肝虚血再灌流障害に対する ischemic preconditioning (以下, IP と略す) の効果をラットを用いて, 10分虚血5分再灌流群(A群), 30分虚血5分再灌流群(B群), 無虚血前処置群(C群)の各群を作成し, 以下の項目を検討した. 術前, IP 後, 60分全肝虚血後, 再灌流60分および120分後に血清 AST, ALT, 尿酸値, 肝組織グリコーゲン値, 乳酸値, 肝組織 energy charge, 肝組織血流量および組織像を検討した. A群はB群, C群と比較して再灌流60分後に AST, ALT, 肝組織乳酸値が低値を示し, 肝組織グリコーゲンは消費され, 肝組織血流量も良好に維持された. また, 組織学的に細胞傷害の程度が最も軽く, 経時的にグリコーゲン量は減少した. 以上より, 10分虚血5分再灌流による IP は再灌流後の肝細胞障害を軽減する上で有効であり, IP の肝保護効果には肝組織グリコーゲンの消費が深く関与していると考えられた.

## I. はじめに

肝臓外科手術において出血制御のため肝十二指腸間膜一括遮断術(Pringle法)を用いた場合, 肝臓は温虚血状態に陥り, 特に長時間になると肝機能障害を誘発する危険性がある. 原因として虚血再灌流障害が考えられており, その機序を解明するためさまざまな研究が進められている. 一方, 心臓外科領域では, 短時間の心虚血により虚血抵抗性を獲得し心筋保護に効果的であると考えられており, ischemic preconditioning (以下, IP と略記) という概念<sup>2</sup>が提唱され, 実際に臨床応用されている. しかし, 肝臓外科における IP の意義は解明されておらず, 臨床応用には至らず, 更なる研究, 発展が待たれている.

当教室では, 実験的に IP による肝保護効果と HSP 72 mRNA の早期発現が認められ, さらに組織学的に IP によりグリコーゲン消費能が維持されることを明らかにしてきた<sup>3</sup>. そこで, 本研究では, 肝虚血再灌流障害に対する IP の肝細胞保護効果を血液生化学検査, 肝組織グリコーゲン量, 肝組織乳酸値, 肝 energy charge (以下, EC と略記), 肝組織血流量, および肝組織学的所見を経時的推移より検討した.

## II. 方 法

### 1) 肝温虚血モデルの作製

Wistar 系雄性ラット (250g ~ 300g) を使用し, ペントバルビタールナトリウム (40mg/kg) の腹腔内投与による麻酔下に肝温虚血モデルを作製した. 上腹部正中切開にて開腹し, 虚血時の腸管うっ血を防止するために 20G 留置針とポリ塩化ビニール製チューブ (外径 2.0mm, 内径 1.1mm, 長さ 34cm) を用い, 上腸間膜静脈 右内頸静脈バイパスを造設した. ヘパリン 400IU/kg を静脈内投与した後, 血管用クリップを用いて, 肝十二指腸間膜で肝動脈, 門脈, 腸管を一括遮断した. なお, 実験中にグルコース補給は行わなかった.

IP 時間の差により以下の 3 群を作製した (Fig. 1).

A 群: IP として 10 分間虚血後 5 分再灌流し 60 分全肝虚血を施行した群

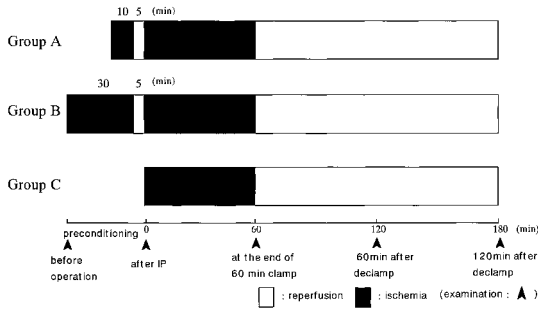
B 群: IP として 30 分間虚血後 5 分再灌流し 60 分全肝虚血を施行した群

C 群: IP 施行せず 60 分全肝虚血を施行した群 (非 IP 群)

各群で 60 分全肝虚血後再灌流 60 分後, 再灌流 120 分後にそれぞれ犠死させ以下に述べる項目を測定した. 各群の各測定時間には 5 匹ずつのラットを犠死させ, すなわち A 群 25 匹, B 群 25 匹, C 群 20 匹の計 70 匹を用いた. なお, 本実験は獨協医科大学動物実験指針に基づき, 獨協医科大学動物実験委員会の承認を得て行われ

Fig. 1 Protocol

Group A : 10 min ischemia and 5 min reperfusion ( n =25 )  
 Group B : 30 min ischemia and 5 min reperfusion ( n= 25 )  
 Group C : no ischemic preconditioning ( n=20 )



た .

2) 測定項目および測定方法

各群の各測定時間に、血清 aspartate aminotransferase(以下, AST と略記), 血清 alanine aminotransferase(以下, ALT と略記), 血清尿酸値, 肝組織グリコーゲン量, 肝組織乳酸値, 肝 EC, 肝組織血流量を測定し, さらに肝組織学的所見を検討した. 採血は各測定時間に腹部大動脈より行い, 失血犠牲させた後肝臓を摘出し各測定を行った .

3) 測定方法

血清 AST 値(IU/l), ALT 値(IU/l)は International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) 準拠法<sup>4)-6)</sup>により, 血清尿酸値 (mg/dl) はウリカーゼパーオキシダーゼ法<sup>7)8)</sup>で測定した .

肝組織 1g 中グリコーゲン含有量 (mg) は, 肝組織 25 ~ 35mg を 5.4M KOH 500μl に浸潤し 100 20分間加熱した後 5.4M HCl で中和し抽出液を採取して, 抽出液に aminoglucosidase (Sigma 社) を加え 37 60分間静置した後, デタミナー GL-E (Kyowa Medics 社) を用いて測定した .

血清乳酸値 (mg/dl) は酵素法<sup>9)10)</sup>で測定した .

肝 EC は, 肝組織 0.5g を採取し, 氷冷した 0.5N 過塩素酸 5ml で homogenize した後遠心分離し上清を中和し, さらに遠心分離した上清を酵素法 (Boehringer 社) で adenosine-5'-triphosphate(以下, ATP と略記), adenosine-5'-diphosphate (以下, ADP と略記), adenosine-5'-monophosphate(以下, AMP と略記)を測定した. EC は肝組織アデノシン量から以下の計算

式 (Atkinson の式<sup>11)</sup>) で求めた .

$$EC = (ATP + 0.5 \times ADP) / (ATP + ADP + AMP)$$

肝組織血流量 (PU) は, レーザードップラー血流計 (Periflux system 4000, Permed 社) を用いて測定した .

肝組織学的所見として, 肝採取後に 10%ホルマリン液で固定した後, 顕頭用パラフィン切片を作製し, HE 染色, PAS 染色, D-PAS 染色を行い, 細胞変性の程度, グリコーゲン顆粒の量, Kupffer 細胞数を検討した .

4) 結果の解析

測定値は平均値 ± 標準偏差 (mean ± SD) で示した. 結果は A 群, B 群, C 群間の比較を Dunnett 検定で, IP 後の A 群と B 群との比較は Student-t 検定を行い, 危険率 p < 0.05 をもって有意差ありとした .

III. 結果

1. 血液生化学検査

血清 AST 値は, IP 後 A 群は B 群に比較して有意に低値 (94.2 ± 20.6 vs 489.0 ± 145.3) であった (Fig. 2) . 60分全肝虚血後, A 群 (180.0 ± 54.8) は B 群 (1,525.8 ± 526.0) と比較して有意に低値であったが, C 群 (139.3 ± 39.4) と比較し差はなかった. しかし, 再灌流 60分後では A 群 (2,479.2 ± 489.1) は B 群 (4,463.6 ± 957.8) , C 群 (4,148.2 ± 2,460.7) と比較して低値を示した. 再灌流 120分後では各群間に差はなかった .

血清 ALT 値は, IP 後 A 群は B 群に比較して有意に低値 (60.6 ± 18.9 vs 424.3 ± 187.3) であった (Fig. 3) . 60分全肝虚血後, A 群 (165.6 ± 79.8) は B 群 (1,471.3 ± 416.4) と比較して有意に低値であったが, C 群 (100.5 ± 41.4) と比較し差はなかった. しかし, 再灌流 60分後, A 群 (2,858.8 ± 751.8) は B 群 (4,585.4 ± 1,245.4) , C 群 (3,637.3 ± 1,705.1) と比較して低値を示した. B 群と

Fig. 2 Alteration of serum AST levels \* : p < 0.05

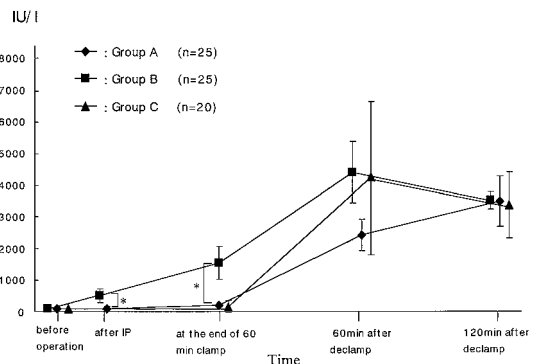


Fig. 3 Alteration of serum ALT levels \* : p < 0.05

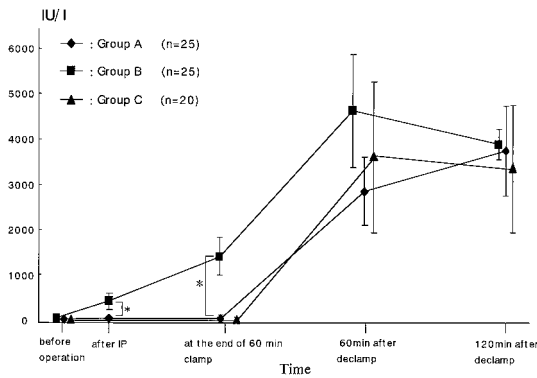
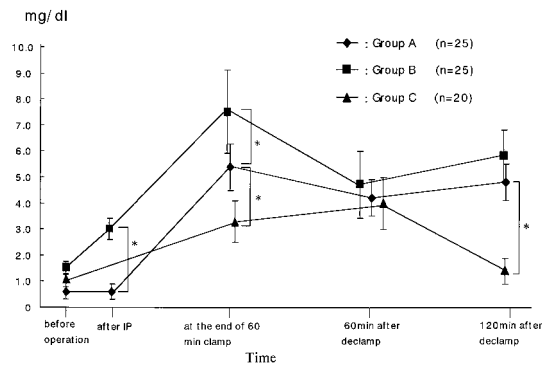


Fig. 4 Alteration of serum uric acid levels \* : p < 0.05



C 群間には有意差はなかった .再灌流120分後では各群間に差はなかった .

血清尿酸値は、IP 後 A 群は B 群と比較して有意に低値 ( $0.8 \pm 0.3$  vs  $3.2 \pm 0.4$ ) であった (Fig. 4) . 60分全肝虚血後は C 群 ( $3.4 \pm 0.8$ ) は A 群 ( $5.5 \pm 0.9$ ) , B 群 ( $7.6 \pm 1.6$ ) より有意に低値を示した . また、A 群は B 群と比較して有意に低値を示した . しかし、再灌流60分後では3群間に差はなく、再灌流120分後では、A 群、B 群間に差はなかったが、C 群は有意に低値を示した .

## 2. 肝組織グリコーゲン量

肝組織グリコーゲン量は、IP 後 A 群は B 群より有意に高値 ( $61.0 \pm 11.2$  vs  $33.1 \pm 8.7$ ) を示した (Fig. 5) . 60分全肝虚血後および再灌流60分後、3群間に差はなかった . 再灌流120分後では A 群 ( $11.5 \pm 1.9$ ) は B 群 ( $26.1 \pm 6.9$ ) , C 群 ( $39.5 \pm 8.4$ ) と比較して有意に低値を示した . A 群は B 群、C 群と比較して、時間経過とともに良好に低下していた . B 群は IP 後に低下したが再灌流60分、120分後に変化は見られなかった . C 群は60分全肝虚血後に低下したが再灌流60分、120分と同様には変化が見られなかった .

## 3. 肝組織乳酸値

肝組織乳酸値は、IP 後 A 群 ( $30.9 \pm 5.1$ ) , B 群 ( $32.5 \pm 8.8$ ) 間に差はなく (Fig. 6) , 60分全肝虚血後も A 群 ( $39.4 \pm 6.2$ ) , B 群 ( $40.3 \pm 4.5$ ) , C 群 ( $41.2 \pm 6.8$ ) 間に差はなかった . 再灌流60分後、A 群 ( $23.7 \pm 3.7$ ) は B 群 ( $28.6 \pm 5.3$ ) , C 群 ( $32.0 \pm 5.7$ ) に比較して有意に低値であった . 再灌流120分後では3群間に差はなかった .

## 4. 肝 EC

Fig. 5 Alteration of glycogen in the liver tissue \* : p < 0.05

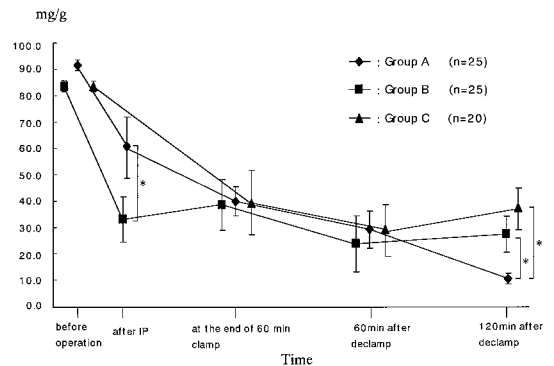


Fig. 6 Alteration of lactate in the liver tissue \* : p < 0.05

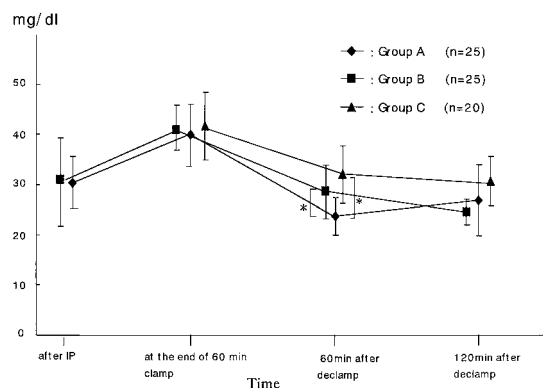


Fig .7 Alteration of energy charge in the liver \* : p < 0.05

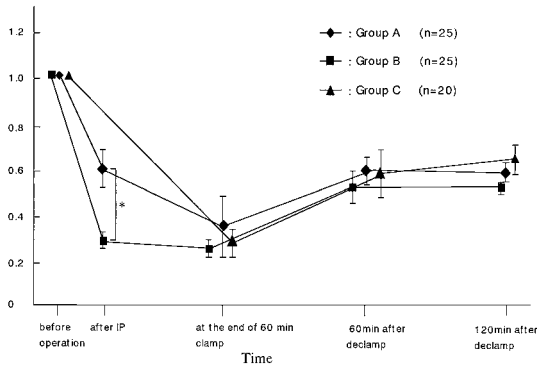


Fig .8 Alteration of hepatic tissue blood flow \* : p < 0.05 ( PU : perfusion units)

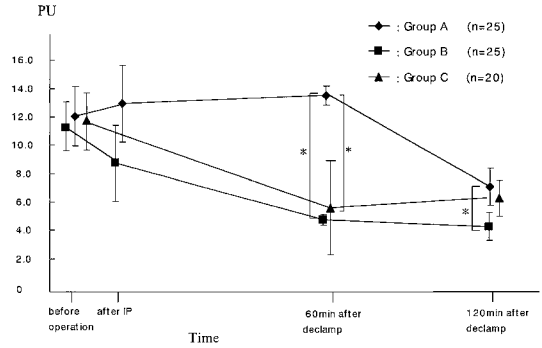


Fig . 9 Histological findings

A : group A,

- 1 . Hepatic cytoplasm showed slight ischemic degeneration with vague outline. zone 1 ~ 3 ( H. E. × 20 )
- 2 . Hepatic cytoplasm revealed vacuolization and degeneration. zone 3 ( H. E. × 20 )
- 3 . PAS-positive glycogen granules were highly decreased. zone 2 ( PAS × 20 )

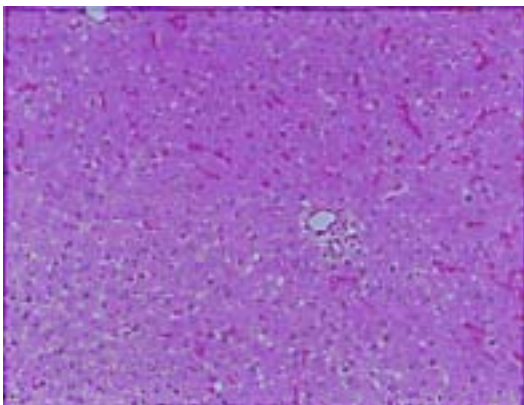
B : group B,

- 1 . Cell borders were blurred and cytoplasm showed vacuolization. zone 2 ( H. E. × 20 )
- 2 . Cytoplasmic borders were extremely blurred and the cell showed scattered coagulation necrosis and marked vacuolization. zone 2 ~ 3 ( H. E. × 20 )
- 3 . The glycogen granules were slightly decreased. zone 2 ( PAS × 20 )

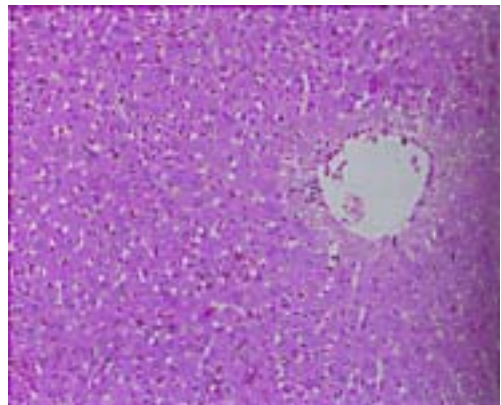
C : group C

- 1 . The cytoplasm showed vague outline and mild vacuolization. zone 1 ~ 2 ( H. E. × 20 )
- 2 . The trabecular arrangement of the hepatic cells was blurred and the cells revealed scattered coagulation necrosis and vacuolization. zone 2 ( H. E. × 20 )

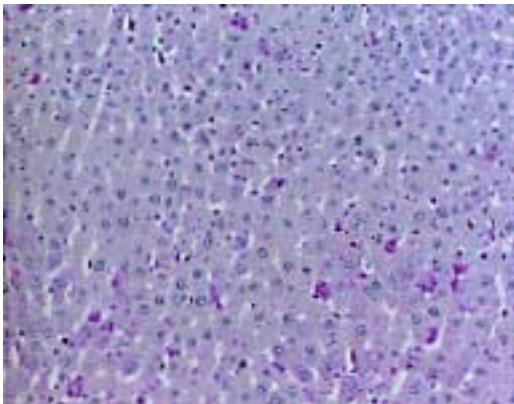
A-1



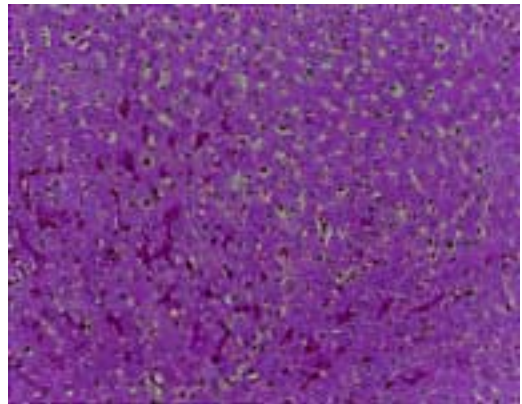
A-2



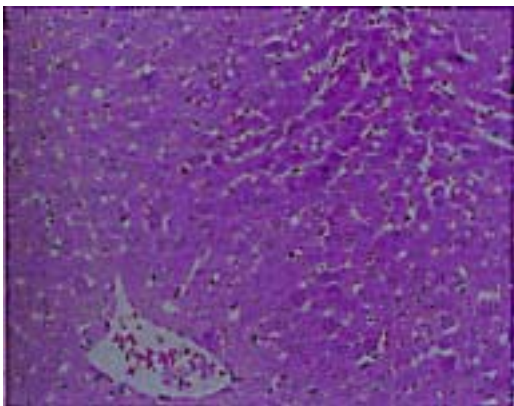
A-3



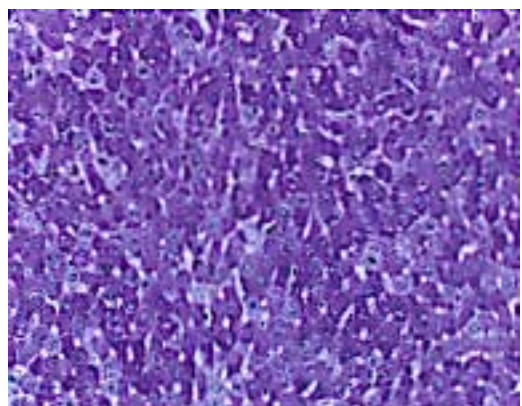
B-1



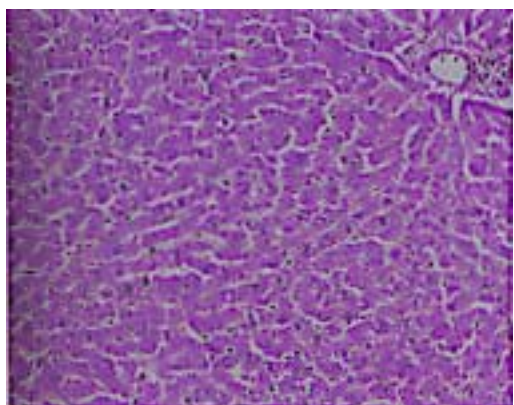
B-2



B-3



C-1



C-2

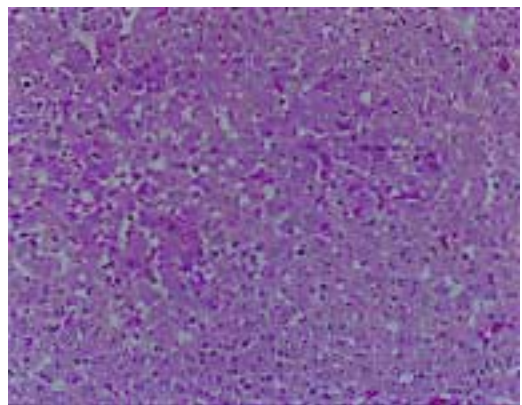


Table 1 Histological degrees of hepatic cell damage in H-E level of liver tissue damage  $\pm$ : light, +: strong, +2: stronger, +3: strongest,

	after IP	at the end of 60 min clamp	60 min after declamp	120 min after declamp
Group A	$\pm$	+	+2	+3
Group B	+	+2	+3	+3
Group C		+	+3	+3

Table 2 Histological degrees of cytoplasmic glycogen decrease in PAS level of glycogen decrease  $\pm$ : light, -: strong, -2: stronger, -3: strongest,

	after IP	at the end of 60 min clamp	60 min after declamp	120 min after declamp
Group A	$\pm$	-	-2	-3
Group B	-	-	-	-
Group C		-	-	-

EC は、IP 後 A 群は B 群より有意に高値 ( $0.6 \pm 0.08$  vs  $0.3 \pm 0.03$ ) であったが再灌流60分後、再灌流120分後に、3 群間に差はみられなかった (Fig. 7)。

#### 5. 肝組織血流量

肝組織血流量は、IP 後に A 群では血流が負荷前より高値 ( $12.0 \pm 2.1$  vs  $12.9 \pm 2.7$ ) を示し、B 群では低下 ( $11.2 \pm 1.8$  vs  $8.7 \pm 2.7$ ) したが 2 群間に有意差はなかった (Fig. 8)。再灌流60分後では、A 群 ( $7.0 \pm 1.3$ ) は B 群 ( $4.7 \pm 0.2$ )、C 群 ( $5.4 \pm 3.3$ ) と比較して有意に高値を示した。再灌流120分後も、A 群 ( $7.0 \pm 1.3$ ) は B 群 ( $4.2 \pm 1.0$ ) より有意に高値を示した。

#### 6. 肝組織学的所見

A 群: HE 染色で、IP は細胞辺縁はやや不鮮明となり、ごく軽度の障害が認められたが、60分全肝虚血後では、細胞膜の境界は不鮮明となり障害が増強された (Fig. 9A 1)。再灌流60分後、120分後と細胞変性に壊死が加わりさらに障害が増強された (Fig. 9A 2)。PAS 染色では時間経過とともにグリコーゲン顆粒は減少した (Fig. 9A 3)。D-PAS 染色でも時間経過とともに壊死物を貪食した Kupffer 細胞が増加した。

B 群: HE 染色で、IP 後は細胞膜の境界は不鮮明で軽度の障害を認め、細胞質の空胞化を認めた (Fig. 9B 1)。60分全肝虚血後ではさらに障害が強くなり、再灌流60分、120分後では細胞境界はより不鮮明で、強い空胞化を伴った凝固壊死も見られた (Fig. 9B 2)。

PAS 染色で、IP 後はグリコーゲン顆粒は軽度の減少を認めたがその後は変化は見られなかった (Fig. 9B 3)。D-PAS 染色で IP 後より壊死物を貪食した Kupffer 細胞を認め、その時間経過とともに増加した。

C 群: HE 染色で、60分全肝虚血後では細胞境界はやや不鮮明で空胞化が見られた (Fig. 9C 1)。再灌流60分、120分後ではうっ血が見られ細胞膜の境界は不鮮明で、凝固壊死、空胞化も強く、障害が高度であった (Fig. 9C 2)。PAS 染色で、グリコーゲン顆粒は60分全肝虚血直後では軽度の減少を認め、再灌流60分、120分後も同様に減少した。D-PAS 染色では壊死物を貪食した Kupffer 細胞は60分全肝虚血後より多く認められ、再灌流60分、120分後も同様であった。なお、各群、各時間において zone による違いはなかった (Table 1, 2)。

#### IV. 考 察

現在、肝臓外科手術における肝虚血再灌流障害に対する、IP の肝保護効果については依然不明な点が多い。IP の至適時間に関し、5分虚血・5分再灌流、5分虚血・10分再灌流、または10分虚血・10分再灌流で肝保護効果が認められたと報告されており、いまだ一定した見解は得られていない<sup>(12)-14)</sup>。

肝虚血再灌流障害を反映する指標として、血清 AST, ALT, 尿酸値を測定した。血清 AST, ALT は肝細胞破壊または細胞膜の過透性亢進により血中に放出され上昇をきたすため、肝細胞障害の程度を示すと考えられる。実際10分の IP により IP 群で非 IP 群より ALT 値が低値であったと報告されており<sup>(3)(2)</sup>、IP により肝細胞障害は軽減されると考えられる。本実験でも A 群は他の 2 群と比較し再灌流60分後まで低値を示しており、10分間虚血による IP が肝虚血再灌流障害を軽減させることが示唆された。

肝細胞障害の機序として、活性酸素の産生が1つの原因とされている<sup>(15)-24)</sup>。また、虚血再灌流下では、ATP から活性酸素と同時に尿酸が産生されるため、血清尿酸値の上昇は活性酸素の動態を間接的に反映し、さらに肝のダメージの指標になるのではないかと考えられる。実際、臨床例で Kogure ら<sup>(25)</sup>は肝切除時において、Pringle 法と片葉虚血肝の手術時の血清尿酸値を測定し、Pringle 法を行った場合、尿酸値の上昇を認め、肝虚血によるダメージの指標になると報告している。しかし、本実験では A 群では B 群と比較していずれも低値を示していたが、C 群は A, B 群よりいずれの時点でも低値を示しており、尿酸値の推移より IP の効果を評価することはできなかった。

さらに、虚血再灌流障害の一因として、虚血中の細胞内アシドーシスおよび乳酸の増加が指摘されている<sup>26)</sup>。的場ら<sup>27)</sup>は糖尿病心においてIPによって虚血時のグリコーゲンの消費量が少なく、乳酸産生が少ないことから、IPにより虚血時のアシドーシスの軽減および乳酸産生の抑制がもたらされ、その後の心機能回復に寄与したと述べている。本実験中は一貫して外部からのグルコース補給はなく、虚血中のATP産生は肝組織のグリコーゲンの嫌氣的解糖系によるエネルギー産生に基ずくものであり、ATP産生とともに乳酸が産生される。その後酸素が供給されると、速やかに乳酸はピルビン酸になりTCA回路によってATPが産生されると考えられる。実際、IPにより肝組織グリコーゲンは消費され減少したと報告されている<sup>3)</sup>。本実験ではA群ではグリコーゲン値は時間経過とともに良好に消費されていた。一方B群、C群では細胞障害が高度のため好氣的解糖系が抑制されグリコーゲンが良好に消費されていないものと考えられた。一方、乳酸値は、IP後ではA群とB群に差はないが、再灌流60分後でA群はB群、C群と比較して低値であり、肝組織の傷害が軽度のため酸化的リン酸化が他の2群よりも早期に回復していると考えられた。以上の点より、A群はB群、C群と比較してIPにより肝虚血中のグリコーゲンの嫌氣的解糖系の抑制と再灌流後のグリコーゲンの好氣的解糖系が維持されていると考えられた。

肝のviabilityの評価には、AKBR<sup>28)</sup>、アミノ酸代謝機能<sup>29)</sup>、胆汁流出量<sup>30)</sup>、ATP産生能<sup>31)</sup>および肝EC<sup>32)-34)</sup>などが用いられている。杉村<sup>35)</sup>はラット肝虚血モデルでECは血流再開後極く早期での肝viabilityの評価に有用であると報告している。本実験において、A群はB群と比較して常に高値を示したが、個々の症例における値のばらつきのため有意差は認められず、ECの変化により評価することはできなかった。

肝組織血流の測定に用いたレーザードップラー血流計の精度は、従来の水素ガスクリアランス法と有意な相関があると報告されている<sup>36,37)</sup>。肝組織血流測定の意義については、ブタ肝移植で血流再開30分後の肝組織血流量によって早期に移植肝機能および生存が予想できるという報告<sup>38)</sup>や、ラット肝虚血障害モデルで血流再開早期、すなわち生化学的指標に変化が現れる以前に肝組織血流量で虚血肝のviability判定が可能であるとの報告もある<sup>39)</sup>。また、60分虚血後の再灌流60、120分後においてIP群の肝組織血流は非IP群よ

り良好であったと報告されている<sup>3)</sup>。本実験において、肝組織血流量はA群でB、C群に比較し良好な血流を保持しており、10分虚血5分再灌流によるIPは肝虚血後の組織血流を維持する上で有用であると考えられた。

肝組織学的所見では、A群でB群、C群と比較して明らかに肝細胞障害が軽度であった。グリコーゲン顆粒はA群でB群、C群と比較して各時間ごとに良好な減少を認め、肝細胞機能はより良い状態で保持され、グリコーゲンが消費されたと考えられる。B群は細胞障害が高度であるためにグリコーゲン顆粒の減少は少ないと考えられる。また、Kupffer細胞数の比較でも、A群はB群、C群と比較して少なく、肝障害が軽度であることが確認できた。肝組織学的所見よりA群で肝細胞の形態、肝グリコーゲン消費能がもっとも維持されていると考えられた。

以上より、10分間虚血後5分再灌流は30分間虚血後5分再灌流およびIP非施行時に比較し虚血・再灌流による肝細胞障害を軽減する上で有効であり、またIPの肝保護効果には肝組織グリコーゲンの好氣的解糖系の維持が深く関与していると考えられた。

稿を終えるにあたり、ご指導とご校閲を賜った獨協医科大学第2外科学教室窪田敬一教授に深謝の意を表します。また、終始御指導をいただいた多賀谷講師、木多秀彰講師、第1病理学教室正和信英教授、生化学教室松崎茂教授、五十嵐吉彦助教授に謝意を表します。

## 文 献

- 1) Pringle JH : Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. *Ann Surg* 48 : 541-549, 1908
- 2) Murry CE, Jennings RB, Reimer KA : Preconditioning with ischemia : a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74 : 1124-1136, 1986
- 3) 伊藤祐一 : 肝虚血再灌流障害に対する ischemic preconditioning の肝保護効果と肝熱ショック蛋白72遺伝子の発現。 *Dokkyo J Med Sci* 27 : 223-232, 2000
- 4) Bergmeyer HU, Bowers Jr. GN, Horder M et al : Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. *Clin Chem Acta* 70 : F19-F40, 1976
- 5) Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW : Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clin Chem* 24 : 58-73, 1978
- 6) Wallnofer HU, Schmidt J, Schmidt FW et al : Synopsis der Leberkrankheiten. Georg Thieme Ver-

- lag Stuttgart, 1974, p3 6
- 7) 佐野史良, 茂手木皓喜: 血清中尿酸測定試薬データミナー UA 試薬の検討. 臨検機器・試薬 3: 113 117, 1980
  - 8) 西岡久寿樹: 尿酸. 日臨 53(増): 469 472, 1995
  - 9) 浅沼和子: オキシターゼ系を用いた血漿中乳酸・ビルビン酸の自動分析による新しい同時定量法. 生物試料分析 8: 16 24, 1985
  - 10) 戸谷誠之: 乳酸. 日臨 53(増): 582 585, 1995
  - 11) Atkinson DE: The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers. Biochemistry 7: 4030 4034, 1968
  - 12) 浅見拓史, 小山 勇: Ischemic preconditioning によるラット肝温虚血・再灌流障害の改善効果. 日外科系連会誌 24: 187 193, 1999
  - 13) Yin DP, Saakary HN, Chong AS et al: Protective effect of ischemic preconditioning on liver preservation-reperfusion injury in rats. Transplantation 66: 152 157, 1981
  - 14) Hardy KJ, McClure DN, Subwongcharoen S: Ischemic preconditioning of liver: a preliminary study. Aust NZJ Surg 66: 707 710, 1996
  - 15) Braunwald E, Kloner RA: Myocardial reperfusion: A double-edged sword? J Clin Invest 76: 1713 1719, 1985
  - 16) 神坂和明: 肝細胞障害とカルシウム. 代謝 26: 1107 1112, 1989
  - 17) 和田隆昭: 肝虚血障害に対する Ca<sup>2+</sup>拮抗剤(塩酸ジルチアゼム)の防御効果ならびに肝移植への応用に関する実験的研究. 奈良医誌 40: 271 280, 1989
  - 18) Parks DA, Bulkley GB, Granger DN et al: Ischemic injury in the cat small intestine: Role of superoxide radicals. Gastroenterology 82: 9 15, 1982
  - 19) McCord JM: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. New Engl J Med 312: 159 163, 1985
  - 20) 吉川敏一, 小山田裕一, 市川 寛ほか: 肝の虚血再還流障害に対する活性酸素および脂質過酸化の関与. 日消病会誌 87: 199 205, 1990
  - 21) 一守康志, 深堀正美, 中澤博江: 再還流障害とフリーラジカルに関する問題提起. J Act Oxyg Free Rad 2: 757 766, 1991
  - 22) 竹川節男: 肝阻血時の細胞障害の発生機序における活性酸素の役割についての実験的検討. 肝臓 30: 459 467, 1989
  - 23) 羅 小星, 緒方博丸, 許 幸: 肝虚血・再灌流時の活性酸素の発生と過酸化脂質, GOT, GPT, LDH の変化. 日臨生理会誌 25: 95 101, 1995
  - 24) 高木和俊: ラット肝温虚血再灌流障害における連続的虚血法と間歇的虚血法の比較. 獨協医学会誌 11: 201 216, 1996
  - 25) Kogure K, Ishizaki M, Nemoto M et al: Evaluation of serum uric acid changes in different forms of hepatic vascular inflow occlusion in human liver surgeries. Life Sci 64: 305 313, 1999
  - 26) Tani M, Neely JR: Hearts from diabetic rats are more resistant to in vitro ischemia: Possible role of altered Ca<sup>2+</sup> metabolism. Circ Res 62: 931 940, 1988
  - 27) 的場聖明, 辰巳哲也, 明石加都子: 糖尿病ラットにおける ischemic preconditioning の心筋エネルギー代謝に及ぼす効果. 心臓 31: 5 11, 1999
  - 28) Taki Y, Ukikusa M, Morimoto T et al: Short term changes in blood ketone body ratio in the phase immediately after liver transplantation. Transplantation 43: 350 353, 1987
  - 29) 後藤剛貞, 浅野武秀: 肝アミノ酸利用率測定による移植肝機能評価. 移植 25: 271 278, 1990
  - 30) 千賀省始, 鬼束享義, 伊藤英夫ほか: ラット肝虚血障害時の胆汁流量の回復率と生存率の関係に関する実験的検討. 移植 29: 6 12, 1994
  - 31) 桜田正寿, 大河内信宏, 加藤博孝ほか: 保存肝におけるミトコンドリアエネルギー産生系の変化と肝移植における意義. 日外会誌 93: 709 715, 1992
  - 32) 渡部祐司: 肝虚血による肝エネルギー代謝変動に関する研究. 日外会誌 89: 717 724, 1988
  - 33) Hochachka PW: Defense strategies against hypoxia and hypothermia. Science 231: 234 241, 1986
  - 34) Hochachka PW, Mommsen TP: Protons and anaerobiosis. Science 219: 1391 1397, 1983
  - 35) 杉村栄一: 高エネルギーリン酸化合物と肝組織血流量からみた塩酸 nicardipine のラット肝温阻血障害に対する肝細胞保護効果. 獨協医学会誌 10: 381 393, 1995
  - 36) 西森 章, 田中一彦, 中村正人ほか: レーザードップラー法による肝組織血流量測定の検討. 循環制御 12: 121 125, 1991
  - 37) 高橋昭三, 小林信や, 金子源吾ほか: 温阻血が再還流後の組織血流量に及ぼす影響. 半導体レーザー微小循環血流量計の有用性も含めて. 今日の移植 5: 577 581, 1992
  - 38) Manner M, Shult W, Senninger N et al: Evaluation of preservation damage after porcine liver transplantation by assessment of hepatic microcirculation. Transplantation 50: 577 581, 1990
  - 39) 大塚健二: 温阻血肝の viability 判定における肝組織血流量測定の意義と lipo-prostaglandin E1 の効果. 移植 28: 685 692, 1993



The Protective Effect of Ischemic Preconditioning on Ischemia-reperfusion injury of the Liver : Relationship between the Glycogen Consumption in the Liver Tissue and Ischemic Preconditioning

Kiyoshige Hamada

Second Department of Surgery, Dokkyo University School of Medicine

In a study of the effects of ischemic preconditioning ( IP ) on hepatic ischemic-reperfusion injury, we divided Wistar rats into 3 groups : group A, 10 min clamping followed by 5 min release., group B, 30 min clamping followed by 5 min release., and group C, no IP. Following IP, we clamped the hepatoduodenal ligament for 60 min and then released. We then assessed changes of serum levels of aspartate aminotransferase ( AST ), alanine aminotransferase ( ALT ) uric acid, energy charge, glycogen, and lactate in liver tissue, together with blood flow and histopathological findings in liver tissue. In group A, AST, ALT and lactate in liver tissue 60 min after declamping were significantly lower than in group B and C. The glycogen was adequately consumed each measurement time, and blood flow in tissue was well preserved in group A. Histologically, damage to hepatocytes was minimal and glycogen granules decreased as time passed. IP with 10 min clamping followed by 5 min release effectively decreased damage of ischemic-reperfusion injury and IP effects may be based on the glycogen consumption in liver tissue.

Key words : ischemic preconditioning, glycogen consumption in the liver tissue, uric acid, lactate, pringle maneuver

[ Jpn J Gastroenterol Surg 34 : 307 315, 2001 ]

Reprint requests : Kiyoshige Hamada Second Department of Surgery, Dokkyo University School of Medicine  
880 Kita-kobayashi, Mibu, Shimotuga, 321 0293 JAPAN

---