

人工肝補助装置における遠心ポンプの導入とその効果について

島根県立中央病院外科*, 京都大学外科学教室第2講座**

木元 道雄*, 畷原 康行**, 猪飼伊和夫**, 若城茂太郎**
尾崎 信弘**, 辰見 義男**, 山岡 義生**, 小澤 和恵**

〔原稿受付：平成4年5月15日〕

The Effects of Centrifugal Pump on Liver Support System with Porcine Liver Perfusion

MICHIO KIMOTO*, YASUYUKI SHIMAHARA**, IWAO IKAI**, SHIGETARO WAKASHIRO**,
NOBUHIRO OZAKI**, YOSHIO TATSUMI**, YOSHIO YAMAOKA** and KAZUE OZAWA**

*Department of Surgery, Shimane Prefectural Central Hospital

**The Second Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University

The effects of vaneless centrifugal pump (Bio-pump P-80) on energy metabolism were studied, as compared with the roller pump, in an isolated porcine liver perfused with human blood for 6 hours. According to preliminary examination, flow rates were decided to 0.4, 0.8 ml/min/g in roller pump group, in Bio-pump group, respectively, not to increase more than 15 mmHg in initial portal pressure. During the perfusion, actual portal pressure was measured and circulatory resistance (portal pressure/flow rate) was calculated before perfusion and hourly after perfusion. Acetoacetate, β -hydroxybutyrate, lactate and pyruvate, were measured at same times, from which values the ketone body ratio (acetoacetate/ β -hydroxybutyrate, KBR), reflecting the redox state of liver mitochondria, was calculated. In the Bio-pump group, in spite of its high flow, circulatory resistance was low at every hour during the perfusion. KBR was increased rapidly from 0.40 to 1.39, 2.59, 2.75, 2.38, 2.41, and 1.82 and lactate was decreased rapidly from 7.96 to 3.90, 1.77, 1.29, 1.33, 1.34, and 1.25 mmol/L at the respective hours after perfusion. There were significant differences at 2 and 4 hours after perfusion in KBR and after 2 hours of perfusion in lactate as compared with the roller pump group ($p < 0.05$). These results suggested that the Bio-pump is available for constant and high flow to the liver and helpful to elevate the mitochondrial NAD/NADH ratio (oxidized and reduced forms of free nicotinamide-adenine dinucleotides), leading to and enhancement of metabolic capacity of the perfused liver.

Key words: Centrifugal pump, Liver perfusion, Artificial liver, Ketone body ratio.

索引語：遠心ポンプ，灌流肝，人工肝，ケトン体比。

Present address: Department of Surgery, Shimane Prefectural Central Hospital, 166 Imaichi-Cho, Izumo City, Shimane, 693 Japan.

肝硬変合併肝癌に対する大量肝切除後や食道静脈瘤破裂後などに発生する肝不全はしばしば通常の治療に抵抗し不幸な転帰を取ることが多い。これらの肝不全に対する肝補助療法として動脈血中ケトン体比 (AKBR) が0.4以下に遷延した肝性昏睡Ⅳ度の症例を対象に摘出したブタまたはヒヒ肝をヒト血液で灌流し患者血液と膜を介して接触させる異種肝交叉透析法 (リバーサポート) を現在までに16症例で20回行って来た^{1,2,3)}。Cuprophan 膜を使用した初期の3例では1例が覚醒したにすぎなかったが、膜孔のより大きなものを使用した13例では開始時の AKBR により効果が異なり、AKBR が0.25以上の6例では全例が覚醒しうち3例は救命できたのに対し、0.25以下の7例は無効で全例死の転帰をとった (Table 1)。有効例では補助肝側の灌流液中のケトン体比 (PKBR) は常に1.0以上に維持され、患者側 AKBR を回復させることが可能であったのに対し、AKBR が0.25以下に遷延した症例では肝補助の開始とともに補助肝側の PKBR は急激に低下し1時間ですでに0.7以下となり、患者側の AKBR も0.25以上には上昇し得なかった (Fig. 1)。無効の原因は患者側からの代謝負荷が大きすぎて補助

肝側の代謝能力を大きく上回ったためと考えられ、これら無効例に対しても効果をあげるためには灌流中の摘出肝の代謝能力をさらに高く維持する必要があると考えられる。一方、1965年 Bernstein⁴⁾、Rafferty⁵⁾ らによって考案された遠心ポンプは血球の破壊や cavitation の発生が少ないなどの利点から近年体外循環などに応用されるようになってきた。肝臓外科領域でも肝移植時の体外バイパスにこの遠心力を利用した Vaneless type 遠心ポンプ (以下 Bio-pump[®]) が盛んに応用されその安定した高流量から無肝時の循環状態の安定にはならないものとなっている⁶⁾。今回総合的に改良した灌流回路に低圧で高流量を確保できる Bio-pump[®] BP-80 (Bio-consol 520, Biomedicus Co. Ltd., USA) を応用し代謝活性の高い肝補助療法の確立を検討した。

方 法

平均体重 11.4±0.51 kg の雑種雌性ブタにペントバルビタールの 20 mg/kg 静注にて気管中挿管し酸素および笑気ガスにてガス麻酔を行ったのち Starzl らのヒト肝移植時の肝摘出の方法⁷⁾に準じ、ヘパリン 5000単

Table 1 List of patients treated with liver support.

No	年齢	性別	疾 患	支持肝	時間	昏睡度	
						前	後
1	52	男	肝硬変 肝癌	ブタ	4.5	IV	IV
2	33	男	肝硬変 食道静脈瘤	ブタ	7	IV	II
3	52	女	肝硬変 肝癌	ブタ ブタ ブタ	6 4.5 6	III IV V	0 IV V
4	59	男	肝硬変 肝癌	ブタ	8	IV	0
5	49	男	肝硬変 食道静脈瘤	ブタ	8	IV	0
6	57	男	肝硬変 食道静脈瘤	ブタ	6	IV	0
7	45	男	激症肝炎	ブタ	8	IV	0
8	47	女	肝硬変 肝癌 食道静脈瘤	ブタ	8	IV	IV

No	年齢	性別	疾 患	支持肝	時間	昏睡度	
						前	後
9	60	男	肝硬変 肝癌 食道静脈瘤	ヒヒ	8	IV	0
10	54	男	肝癌	ブタ	8	IV	IV
11	70	女	激症肝炎	ブタ	8	IV	IV
12	65	男	慢性肝炎 肝癌	ヒヒ ヒタ	15 7	IV IV	IV I
13	62	男	肝硬変 肝癌	ヒヒ	12	IV	II
14	58	男	肝硬変 肝癌 食道静脈瘤	ブタ	8	IV	II
15	68	男	肝硬変 肝癌 食道静脈瘤	ヒヒ	6	IV	I
16	57	男	肝硬変 肝癌 食道静脈瘤	ヒヒ	8	IV	I

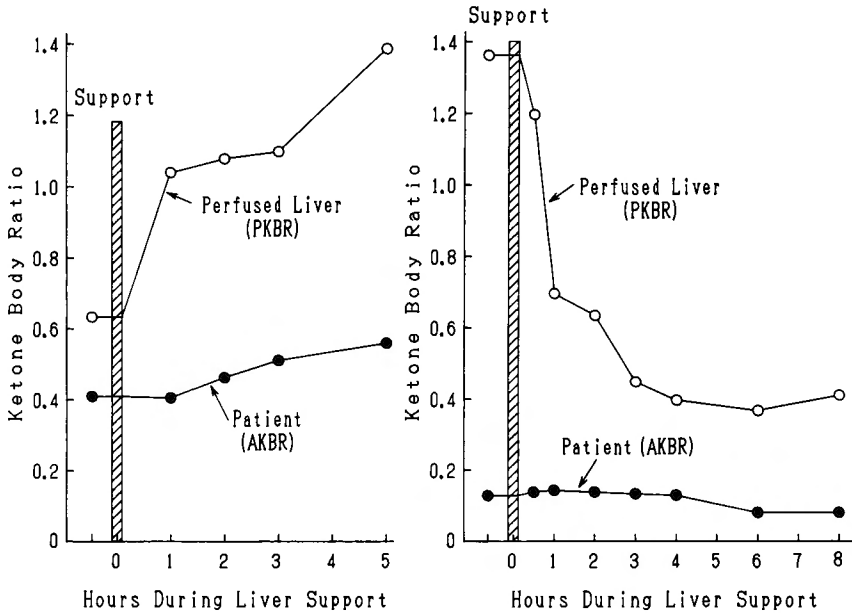


Fig. 1 Changes in ketone body ratio of the perfused liver and the patient.

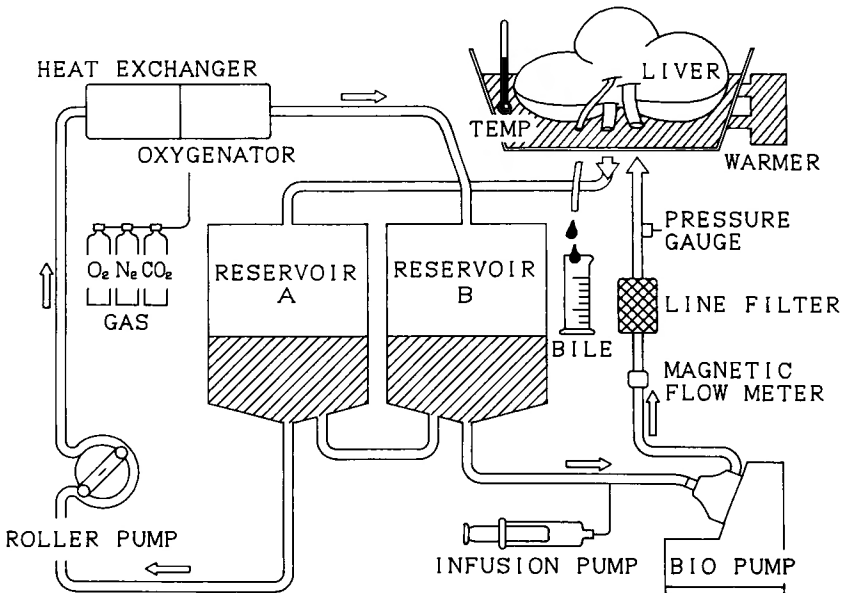


Fig. 2 Schematic drawing of the perfusion circuit. Liver is floated in warmed saline (37°C). Reservoirs are separated and oxygenator-warmer circuit is interposed between them.

位の全身投与後、チュービングされた大動脈および門脈から 0~4°C の wash out 液 (低分子デキストラン加乳酸リンゲル 3000 ml, マニトール 300 ml, リドカイン 100 mg, ヘパリン 5000 単位) にて肝臓内の血液を wash out し、同時に腹腔内に 0°C 生理的食塩水を注入し肝表面から冷却し迅速に摘出した。平均肝重量は 368 ± 17.1 g であった。摘出した肝臓は門脈と肝下部下大静脈にチュービング後改良した灌流装置 (Fig. 2) に装着し、ヒト保存血 1400 ml に新鮮凍結血漿 700 ml, 低分子デキストラン 50 g, ヘパリン 5,000 単位を加えて灌流液とし、重炭酸ナトリウム液にて pH を 7.4 に調整しホローファイバー型人工肺を用い混合ガスで P_{O_2} を 200~300 mmHg, P_{CO_2} を 35 mmHg に調節した。門脈から、37°C 6 時間の灌流を行ったが、流量は開始時の平均門脈圧が 15 mmHg を基準にいくつかの予備実験から Bio-pump® (Bio-pump 群 $n=7$) を使用した群で 0.8 ml/min/g, Roller-pump (NIKISO) を使用した群 (Roller-pump 群 $n=4$) で 0.4 ml/min/g とし実験中一定とした。経時的に平均門脈圧を測定しこれを流量で除して灌流抵抗を求めた。肝 Outflow より灌流開始後 30 min, 1, 2, 3, 4, 5, 6 hr で灌流液を採取しアセト酢酸, β -ヒドロキシ酪酸, ビルビン酸, 乳酸濃度を測定^{8,9,10,11} し灌流液のケトン体比 (PKBR; アセト

酢酸 β -ヒドロキシ酪酸), ビルビン酸/乳酸すなわち PL 比を計算した。また、数値は全て means \pm SEM で表し統計学的処理は Student t-test で $p < 0.05$ 以上を有意とした。

結 果

平均門脈圧は開始後 30 min で Bio-pump 群, Roller-pump 群でそれぞれ 16.3 ± 2.6 mmHg, 15.0 ± 0.6 mmHg と流量の多い Bio-pump 群で高い傾向を示したが両群とも経過中大きな変化は認めなかった (Fig. 3)。灌流抵抗は逆に Bio-pump 群で流量が 2 倍と多いにもかかわらず経過中低い傾向を示した (Fig. 4)。肝流出路内のアセト酢酸や β -ヒドロキシ酪酸値は平均値で大きな差は認められるも変動が大きく有意な差は認められなかった (Table 2)。しかし、ケトン体比 (PKBR) では Roller-pump 群では前値 0.40 ± 0.10 から灌流開始後 3 時間で 1.08 ± 0.47 と 1.0 以上となり以後 4, 5, 6 時間でそれぞれ 0.98 ± 0.24 , 1.42 ± 0.60 , 1.07 ± 0.54 と 1 前後を保ったが、Bio-pump 群では、PKBR は前値の 0.42 ± 0.10 から 1 時間ですでに 1.39 ± 0.17 となり以後 2, 3, 4, 5, 6 時間でそれぞれ 2.59 ± 0.53 , 2.75 ± 0.52 , 2.38 ± 0.35 , 2.41 ± 0.26 , 1.82 ± 0.21 と Roller-pump 群に比べ早期から常に高値を保ち 2, 4 時

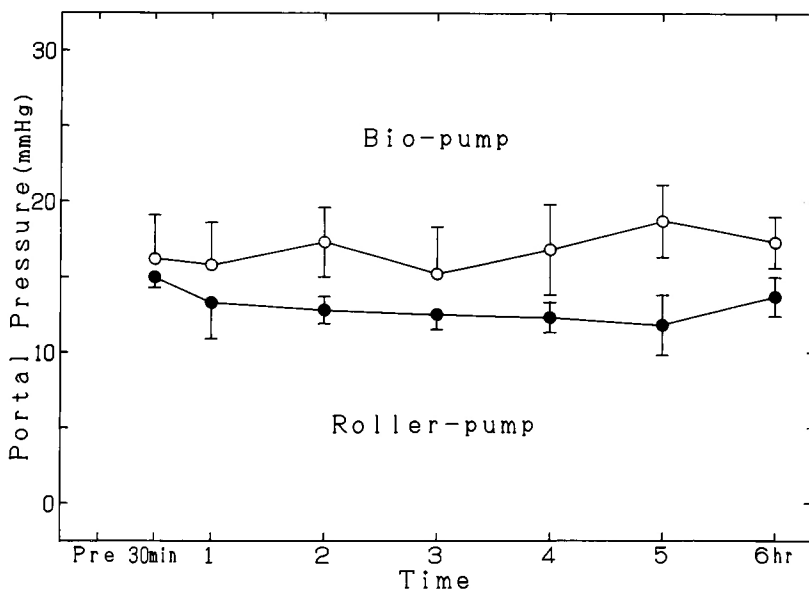


Fig. 3 Changes in mean portal pressure. Values are expressed as means \pm SEM (Bio-pump group: $n=7$, Roller-pump group: $n=4$).

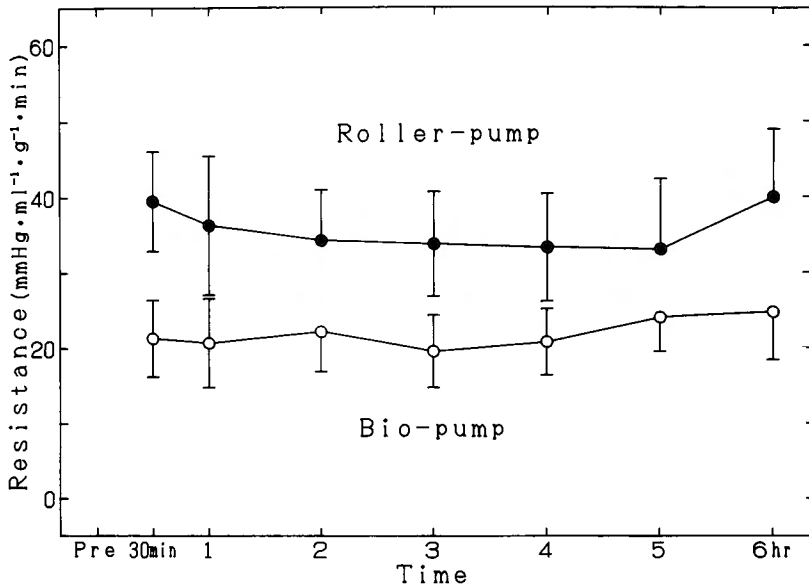


Fig. 4 Changes in circulatory resistance of liver. Values are expressed as means \pm SEM (Bio-pump group: $n=7$, Roller-pump group: $n=4$).

間で有意差を認めた (Fig. 5). ビルビン酸値は両群とも灌流開始後前値から増加し1時間でほぼ同じ値を取った後減少に転じたが Bio-pump 群で減少が大きく5, 6時間目で有意差を認めた。乳酸値は Roller-pump 群

で前, 1, 2, 3, 4, 5, 6時間でそれぞれ 8.39 ± 0.58 , 6.38 ± 1.50 , 6.32 ± 1.57 , 6.24 ± 0.93 , 5.08 ± 0.68 , 5.04 ± 0.54 , $4.47 \pm 0.82 \mu\text{mol/ml}$ と減少はするもののやや緩徐であったが, これに対し Bio-pump 群ではそれぞれ

Table 2 Changes in acetoacetate, β -hydroxybutyrate, ketone body ratio, pyruvate, lactate, and pyruvate/lactate ratio in outflow.

		Pre	30min	1hr	2hr	3hr	4hr	5hr	6hr
AcAc	BIO	3.7 \pm 0.4	13.9 \pm 4.4	22.8 \pm 10.6	32.4 \pm 18.0	33.9 \pm 21.5	28.1 \pm 21.5	28.6 \pm 21.6	28.6 \pm 20.7
	ROLLER	3.9 \pm 0.2	4.6 \pm 2.7	2.9 \pm 0.9	2.2 \pm 0.2	2.4 \pm 0.4	3.1 \pm 0.5	4.1 \pm 0.5	2.8 \pm 0.7
β -OHB	BIO	13.6 \pm 3.6	19.0 \pm 5.0	13.9 \pm 5.4	9.1 \pm 4.3	9.0 \pm 4.8	8.1 \pm 5.0	11.0 \pm 7.8	14.7 \pm 10.5
	ROLLER	17.1 \pm 4.9	13.5 \pm 2.0	5.7 \pm 0.7	2.7 \pm 0.5	2.9 \pm 0.6	3.5 \pm 0.5	4.0 \pm 0.9	3.4 \pm 1.0
PKBR	BIO	0.40 \pm 0.10	0.72 \pm 0.11	1.39 \pm 0.17	2.59 \pm 0.53*	2.75 \pm 0.52	2.38 \pm 0.35*	2.41 \pm 0.26	1.82 \pm 0.21
	ROLLER	0.34 \pm 0.15	0.29 \pm 0.12	0.88 \pm 0.28	0.89 \pm 0.15	1.08 \pm 0.47	0.98 \pm 0.24	1.42 \pm 0.60	1.07 \pm 0.54
P	BIO	0.13 \pm 0.02	0.22 \pm 0.02	0.21 \pm 0.02	0.15 \pm 0.03	0.13 \pm 0.02	0.12 \pm 0.01	0.10 \pm 0.02*	0.08 \pm 0.02*
	ROLLER	0.11 \pm 0.02	0.20 \pm 0.02	0.20 \pm 0.03	0.21 \pm 0.04	0.18 \pm 0.03	0.17 \pm 0.03	0.17 \pm 0.02	0.20 \pm 0.03
L	BIO	7.96 \pm 0.78	6.17 \pm 0.91	3.90 \pm 0.71	1.77 \pm 0.41**	1.29 \pm 0.25**	1.33 \pm 0.18**	1.34 \pm 0.27**	1.25 \pm 0.23**
	ROLLER	8.39 \pm 0.58	7.86 \pm 0.80	6.38 \pm 1.50	6.32 \pm 1.57	6.24 \pm 0.93	5.08 \pm 0.68	5.04 \pm 0.54	4.47 \pm 0.82
PLR	BIO	1.68 \pm 0.24	3.85 \pm 0.49	6.12 \pm 0.83*	9.10 \pm 1.05**	10.19 \pm 1.15**	9.64 \pm 0.76**	8.26 \pm 1.16*	6.59 \pm 1.16
	ROLLER	1.31 \pm 0.32	2.47 \pm 0.15	3.53 \pm 0.52	3.38 \pm 0.25	2.87 \pm 0.35	3.28 \pm 0.24	3.36 \pm 0.36	4.44 \pm 0.19

Values are expressed as means \pm SEM

BIO Bio-pump group ($n=7$), ROLLER Roller-pump group ($n=4$)

AcAc: acetoacetate, β -OHB: β -hydroxybutyrate, PKBR: ketone body ratio; P: pyruvate, L: lactate.

PLR: pyruvate/lactate ratio

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with the value of Roller-pump group.

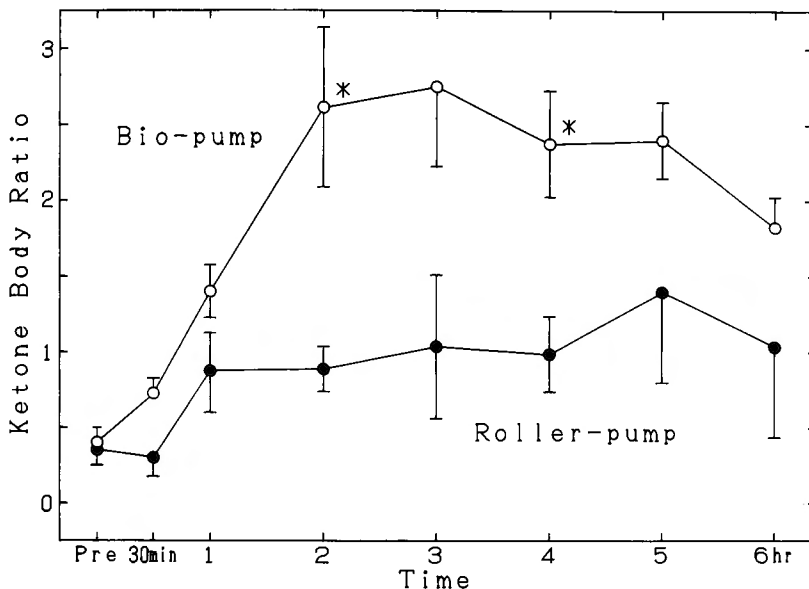


Fig. 5 Changes in ketone body ratio in the outflow blood. Values are expressed as means \pm SEM (Bio-pump group: n=7, Roller-pump group: n=4).
* $p < 0.05$ as compared with the value of the Roller-pump group.

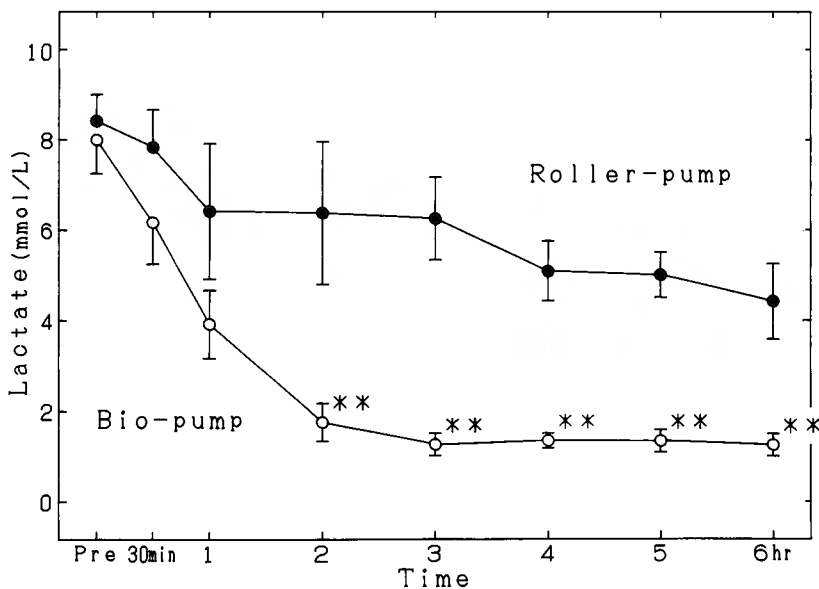


Fig. 6 Changes in lactate in the outflow blood. Values are expressed as means \pm SEM (Bio-pump group: n=7, Roller-pump group: n=4).
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ as compared with the value of the Roller-pump group.

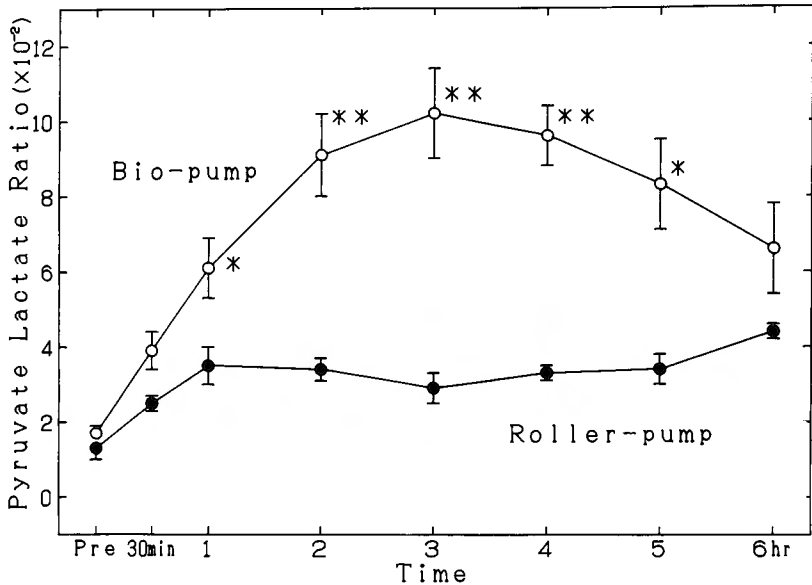


Fig. 7 Changes in pyruvate/lactate ratio in the outflow blood. Values are expressed as means \pm SEM (Bio-pump group: n=7, Roller-pump group: n=4).

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ as compared with the value of the Roller-pump group.

前値の 7.96 ± 0.78 から 3.90 ± 0.71 , 1.77 ± 0.41 , 1.29 ± 0.25 , 1.33 ± 0.18 , 1.34 ± 0.27 , 1.25 ± 0.23 $\mu\text{mol/ml}$ と急速に減少し, 2時間以降有意差を認めた (Fig. 6). ビルビン酸乳酸比でも Bio-pump 群で1時間以降高値をとり5時間目まで有意差を認めた (Fig. 7).

考 察

肝臓は心, 肺, 腎などの比較的単純な機能を果たしている臓器とは異なり種々の物質の合成, 分解, 排泄に加え, Kupffer 細胞に代表される網内系を中心とした生体防御機能にも深く関与しているため, 現時点では全ての肝機能を完全に代行できるシステムは実用化されておらず, また種々の機能を何をもって総合的な肝機能の指標とするか決定されていなかった. 肝不全患者に対する異種動物摘出肝による肝補助療法ではサポート肝の高い代謝能力が長時間持続されることが必要となってくるが, この代謝能力を測定するためにはこれまで種々の薬剤負荷試験による方法が行われてきた^{12,13}. しかし結果が判明するまでに長時間を要し繰り返し測定にも困難がありまた負荷薬剤の安全性にも問題があった. これに対し灌流液中のケトン体比の測定によって簡便でほぼ連続的に総合的な肝代謝能力を把握すること可能となった¹⁴. ケトン体は肝ミトコ

ンドリアによって産生され, その比は β -ヒドロキシン酪酸脱水素酵素によって肝ミトコンドリア内の NAD^+/NADH 比と平衡状態を保っている^{15,16} ことが知られ, 灌流液中のケトン体比の測定によって薬剤負荷を行うことなくいつでも肝ミトコンドリアの酸化還元状態すなわち総合的な代謝能力を知ることができるようになった.

一方, 灌流に使用した肝は健康なブタから摘出したもので基本的に代謝能力には問題が無いはずであるが, 摘出手術時の低血圧による肝血流の低下, wash out 時の微小血栓の発生, 摘出後の冷阻血による障害, 再灌流開始時のいわゆる reperfusion injury^{17,18,19} などの種々の障害の発生が考えられる. また臨床的に応用するため回路の血液はヒト血が用いられるが, 異種血液による種々の免疫反応, またそれから惹起される肝内の血管内皮障害, 末梢循環障害の発生なども考えられ, これらの障害により次第に肝代謝能力が低下してくることになる. これら種々の障害を防ぎ最適な灌流条件を求めためこれまでも種々の工夫が成されてきた.

摘出時の手技, wash out 液の工夫 (マンニトール, PGI_2 誘導体など薬物の添加¹⁴) で摘出時の障害を防ぎ, 灌流においては灌流液の温度, pH, 酸素分圧,

炭酸ガス分圧、電解質濃度、浸透圧などを生理的な値に維持し、代謝の基質としてグルコースを加えその有効利用のためインスリンを使用することなどはほぼ確立されている²⁰⁾。流量は重要な因子^{12,21)}で生理的な値を中心に決められることが多いが、基本的には単位重量当たりの灌流量は多い方が肝の代謝効率も高くなると考えられる。しかし、過度の高流量は灌流圧の上昇を招きこれが類洞の内皮細胞を障害し²²⁾、さらに循環抵抗が上昇し肝内ジャントの発生から有効肝血流量が減少し最終的には代謝能力は急激に低下するものと考えられる。このため通常流量は初期の門脈圧が生理的範囲を越えないように決定される。今回の実験では初期門脈圧が 15 mmHg を基準に流量を決定したが同じ条件にもかかわらず Roller-pump 群では 0.4 ml/min/g しか確保できずこれに対し Bio-pump では 2 倍の 0.8 ml/min/g を確保することができた。この差は脈流と定常流の違いに起因するものと考えられる。Roller-pump は流量の維持は容易なものの流れは構造上定常流とはならず脈流となり圧の変動が著しく²³⁾瞬間的に高い圧が発生し、このピーク圧の成分のために平均の循環抵抗は増大し同じ圧に設定しても循環抵抗が高くなる分実際の流量は十分確保できなくなる。また瞬間的な高いピーク圧による血管内皮の障害も予想される。これに対して遠心ポンプである Bio-pump は回路抵抗や一次側の圧で流量が決定され同じ回転数でも流量は大きく変化するものの、作り出される流れは定常流となりまた容易に高流量を作ることが可能でもともと定常流の門脈系によく適合し、ピーク圧成分がないため平均の循環抵抗が低くなる結果同じ門脈圧でも十分な流量が確保されたものと考えられた。本実験でも、2 倍の流量のため経過中の平均門脈圧は Bio-pump 群で高い傾向を示したが逆に単位重量当たりの循環抵抗は全経過を通じて低い値を呈した。この安定した流量で灌流液中のケトン体比 (PKBR) は Roller-pump 群に比較し早期に 1.0 を越えその後も有意に高値を維持することが可能であった。PKBR が高値を保った Bio-pump 群での乳酸値の急激な減少は Bio-pump 群の灌流肝の代謝能力の高さを裏付けるものである。灌流液に使用する血液は臨床応用の際には新鮮血を使用しているが、実験では採血後平均 2 週間前後の保存血を使用しているために灌流液中の乳酸値は保存期間中の赤血球の嫌気性代謝によってきわめて高い値を取っており、灌流肝にとってはこの高い乳酸値がまず初めの代謝負荷となったわけである。同様に細胞

質内の酸化還元状態を示すとされるピルビン酸乳酸比の差も代謝能力の差を示すものと考えられる。

結 語

リバーサポートの効率を向上せしめるには、代謝能力を総合的に把握することの可能な PKBR を高値に維持しうる装置が必要であるが、Bio-pump は安定した高流量の定常流を長時間得ることが可能で代謝活性の高い肝灌流を維持することができるきわめて有用な装置と思われた。

文 献

- 1) Ozawa K, Kamiyama Y, Kimura K, et al: Clinical experience of postoperative hepatic failure treatment with pig or baboon liver cross-hemodialysis with an interposed membrane. *Artif Organs* 6 (4): 433-446, 1982.
- 2) Ozawa K, Kamiyama Y, Kimura K, et al: The effects of heterologous liver cross-hemodialysis on adenylate energy charge of the remnant liver after major hepatic resection. *Artif Organs* 6 (4): 447-452, 1982.
- 3) 浮草 実, 他: ベッドサイド用肝補助装置の試作研究. *病態生理* 6: 1, 1987.
- 4) Bernstein EF, Castaneda AR, Varco RL: Some biologic limitation to prolonged blood pumping. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 11: 118, 1965.
- 5) Rafferty EH, Kletschka HD, Wynyard M, et al: Artificial heart: Application of nonpulsatile force-vortex principle. *Minn Med* 1 (11): 11-16, 1968.
- 6) Griffith BP, Shaw BW, Sterzl TE, et al: Venovenous bypass without systemic anticoagulation for transplantation of the human liver. *Surg Gynecol Obstet* 160 (3): 271-273, 1985.
- 7) Starzl TE, Hakala TR, Shaw BR Jr, et al: A flexible procedure for multiple cadaveric organ procurement. *Surg Gynecol Obstet* 158 (3): 223-230, 1984.
- 8) Williamson DH, Mellanby J: D(-)-3-hydroxybutyrate. In: Bergmeyer HU, eds. *Methods of enzymatic analysis*. New York: Academic Press, 1974, p 1836-1839.
- 9) Mellanby J, Williamson DH: Acetoacetate. In: Bergmeyer HU, eds. *Methods of enzymatic analysis*. New York: Academic Press, 1974, p 1840-1843.
- 10) Czok R, Lamprecht W: Pyruvate, phosphoenolpyruvate and D-glycerate-2-phosphate. In: Bergmeyer HU, eds. *Methods of enzymatic analysis*. New York: Academic Press, 1974, p 1446-1451.
- 11) Gutmann I, Wahlefeld AW: L-(+)-Lactate determination with lactate dehydrogenase and NAD.

- In: Bergmeyer HU, eds. *Methods of enzymatic analysis*. New York: Academic Press, 1974, 1465-1468.
- 12) Eiseman B, Liem DS, Raffucci F: Heterologous liver perfusion in treatment of hepatic failure. *Ann Surg* **162**: 329-345, 1965.
 - 13) Abouna GM: Pig liver perfusion with human blood. The effect of preparing and flushing the liver with various balanced solutions on its subsequent viability and function. *Bri J Surg* **55** (10): 761-768, 1968.
 - 14) Kimoto M, Shimahara Y, Ozawa K, et al: The effects of PGI₂ analog (OP-41483) on perfused porcine liver. *Artif Organs* **13** (3): 204-208, 1989.
 - 15) Chapmann MJ, Miller LR, Ontko JA: Localization of the enzymes of ketogenesis in rat liver mitochondria. *J Cell Biol* **58**: 284-306, 1973.
 - 16) Lehninger AL, Sudduth HC, Wise JB: D-β-Hydroxybutyric dehydrogenase of mitochondria. *J Biol Chem* **235** (8): 2450-2455, 1960.
 - 17) Granger DN, Hollwarth ME, Parks DA: Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol Scand* **548**: 47-63, 1986.
 - 18) Thurman RG, Marzi I, Seitz G, Thies J, et al: Hepatic reperfusion injury following orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* **46** (4): 502-506, 1988.
 - 19) Jaeschke H, Farhood A: Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemic-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol* **206** (Gastro-intest Liver Physiol 23): G355-G362, 1991.
 - 20) Ozawa K, Kamiyama Y, Kimura K, et al: Comparison of subcutaneous and intraportal insulin administrations on adenylate energy charge of the liver in diabetic rats. *J Lab Clin Med* **89** (5): 937-945, 1977.
 - 21) Drapanas T, Zemel R, Vang JO: Hemodynamics of the isolated perfused pig liver: metabolism according to routes of perfusion and rates of flow. *Ann Surg* **164** (3): 522-537, 1966.
 - 22) Fraser R, Bowler LM, Day WA, et al: High perfusion pressure damages the sieving ability of sinusoidal endothelium in rat liver. *Br J exp Path* **61**: 222-228, 1980.
 - 23) 諫本義雄: バイオポンプの臨床応用. *体外循環技術* **14** (19): 152-157, 1988.