

ラット肝切除後再生肝臓核内 Poly(ADP-ribose)
合成酵素活性および血中ケトン体比に与える
グルカゴン・インスリンの効果

近畿大学医学部第二外科学教室

河村 正生, 須藤 峻章, 藤井 芳郎, 福西 健至, 保田 知生
椿本 龍次, 宮本 正章, 菖蒲 隆治, 久山 健

〔原稿受付：昭和63年9月12日〕

Effects of Glucagon and Insulin on Poly(ADP-ribose)
Polymerase Activity and Blood Ketone Body
Ratio after Partial Hepatectomy in Rats

MASAO KAWAMURA, TAKAAKI SUDO, YOSHIRO FUJII, KENJI FUKUNISHI,
CHIKAO YASUDA, RYUJI TSUBAKIMOTO, MASAOKI MIYAMOTO,
RYUJI SHOBU and TAKESHI KUYAMA

Second Department of Surgery, Kinki University School of Medicine
(Director: Prof. Dr. TAKESHI KUYAMA)

The effects of glucagon and insulin on liver nuclear poly(ADP-ribose) polymerase activity and blood ketone body ratio after rat partial (68%) hepatectomy were examined. Liver weight regeneration rate was enhanced by glucagon and insulin after 5th posthepatectomy day. The maximal value of poly(ADP-ribose) polymerase activity without glucagon and insulin was revealed as 368 ± 64 pmole/mg/min on 5 days after the hepatectomy. In contrast, the enzyme activity with glucagon and insulin reached to the peak value as 253 ± 42 pmole/mg/min on 2 days after the hepatectomy. The amounts of DNA per nuclear protein showed similar changes with the changes of poly(ADP-ribose) polymerase activity after the hepatectomy. Blood ketone body ratio showed almost similar changes in both groups, except transitional decrease in the group without glucagon and insulin on 5th postoperative day. It is suggested that, to promote remnant liver regeneration, the combined therapy of glucagon and insulin may act directly to nucleic acid metabolism through the changes of poly(ADP-ribose) polymerase activity and preserve energy charge level by the suppression of NAD consumption by massive poly(ADP-ribose) formation.

Key words: Hepatectomy, Liver regeneration, Glucagon and insulin, Poly(ADP-ribose) polymerase, Blood ketone body ratio.

索引語：肝切除, 肝再生, グルカゴン・インスリン, Poly(ADP-ribose) 合成酵素, 血中ケトン体.

Present address: 2nd Department of Surgery, Kinki University School of Medicine, 377-2 Ohno-Higashi, Osaka-Sayama, Osaka 589, Japan.

緒 言

近年、肝癌に対する診断技術の進歩によって、肝切除症例が増加してきている。しかし、わが国においては、原発性肝癌には80%の高率で肝硬変合併が認められ、肝の機能的予備力が低下している症例が多数を占めている²⁴⁾。これらの症例に対し肝切除を行えば、残存肝機能は更に低下し、術後の著明な代謝変動の結果、様々な合併症を起し、致命的となる。そのため肝機能的予備能を術前に正確に把握し、肝予備能の多寡によって切除範囲を決定することにより、手術死亡例を減少せしめなければならない^{18,21,25,42,43)}。切除可能でありながら、肝予備能の極度に低下した症例においては癌腫の核出術のみを行なわざるを得ない場合も多い³⁶⁾。しかし、癌の根治性と切除範囲の制限とは矛盾するものであり、縮小手術は手術遠隔成績の向上にとって望ましいものではない。さらに切除範囲の拡大を図り、手術成績を向上せしめるためには、肝切除後の残存肝の肝細胞の再生を促進し、術後肝不全の発症を予防することが必須であり、そのための研究が今後さらに必要であると考えられる。

肝細胞の再生を促進し得る因子としては、インスリン³⁴⁾、グルカゴン²⁷⁾、Epidermal Growth Factor⁵⁾ や血小板由来の肝細胞増殖因子¹⁹⁾ 等が報告されている。これらのうち、現在、臨床においてはグルカゴンとインスリンの併用療法（以下、GI療法）が、肝再生に対する促進効果と肝細胞壊死抑制作用を目的として、劇症肝炎の治療や肝切除術後の肝不全発症例に対して応用されるようになってきた^{9,23)}。しかし、その詳しいメカニズムについては不明な点が多い。そこで、その点を明らかにするために、肝細胞核内でG1期に作用を発現し、クロマチンの鋳型活性増強に関与するといわれている poly(ADP-ribose) 合成酵素活性^{11,16)} をラットの肝部分切除術後に経時的に測定し、GI療法の肝再生に及ぼす効果について検索した。

本酵素は、真核細胞核内に存在し、NADを基質として Nicotinamide を遊離し、同時に ADP-ribose 残基を ribose 1'-2' ribose 間で重合させ、n が30~40のポリマーを合成する。この ADP-ribose のポリマーは、核酸代謝において重要な役割を持つと考えられている。すなわち、核のクロマチン結合性のヒストンや非ヒストン蛋白質等に結合することによって、クロマチンの濃縮状態が緩み、DNAの鋳型活性が上昇する⁴¹⁾。特に、胎生肝細胞⁴¹⁾、再生肝細胞⁶⁾ や HeLa

S3細胞²⁸⁾ 等において、複製、修復、転写が起こるとされている。さらに、その活性はDNAの損傷の程度にも比例して増強する^{2,32)} ことが知られている。

また、本酵素はNADを基質として消費することから、小澤ら⁴²⁾ によって肝再生や術後肝不全の発症に大きな意味を持つことが明らかにされた肝細胞ミトコンドリア中の energy charge に対して影響を及ぼすことが考えられる。そのことから本酵素活性の変動が energy charge と密接な関係を持つ⁴³⁾ 血中ケトン体比（以下 KBR）に及ぼす影響をも併せて測定し、肝細胞核酸代謝、肝エネルギー代謝に及ぼすGI療法の効果を検討した。

実験方法

実験動物は、Wistar 系雄性ラットを、9週齢で購入し、空調管理下の飼育室（室温 25±1°C、湿度55±5%、午前7時から午後9時まで点灯の明暗調節）に自動給水、固形飼料（日本クレア KK、CE-2）で、7日間から10日間飼育したのち、体重 200~260 g のものを実験に供した。実験は、日内変動を考慮して、午前10時前後に行った。エーテルおよびネブター麻酔下に、Higgins-Anderson 法¹²⁾ に準じて肝切除を行い、グルカゴン 2 mg/kgBW およびレギュラーインスリン 4 U/kgBW を、術直後および朝（午前8時）、夕（午後6時）に毎日皮下注射した（以下、GI群）。対照として、GI群のグルカゴン・インスリン溶液と同量の生食を同様に皮下注射した（以下、肝切群）。術後1, 2, 5, 7日目に朝の皮下注射1時間後に再開腹し、残存肝を摘出した。

肝細胞核の調整は Chauveau⁸⁾ に従って行った。切除した肝切片をトリス緩衝液中でホモゲナイズし、2.2M 蔗糖溶液中で 70,000×g、60分間遠心して核を分離し、30%グリセリン溶液に懸濁した。

肝重量再生率は Fishback の方法¹⁰⁾ に従って残存肝の Fishback 係数を計算した。

Poly(ADP-ribose) 合成酵素活性は、谷河らの方法⁴⁰⁾ に準じて、細胞核懸濁液を酵素溶液として、³H-NAD を基質に、37°C、15分間保温し、20%トリクロロ酢酸にて反応を停止させた。ミリポアフィルターで採集したポリマーの放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。

KBR はケトレックスキット¹⁴⁴⁾ を用いて測定した。蛋白質量は Lawry 法¹⁴⁾、DNA量は Burton 法⁵⁾ で各々測定した。他に、日立自動分析機736型を用い、

Table 1. Effect of Insulin and Glucagon on Regeneration Rate of Post-hepatectomized Rat Liver.

Days after Hepatectomy	Liver Regeneration Rate (%)	
	Control	Glucagon + Insulin
1	32.6 ± 5.74 ^{a)} (n=7)	31.3 ± 4.25 (n=7)
2	42.6 ± 5.66 (n=7)	45.2 ± 6.76 (n=7)
5	56.4 ± 6.48 (n=6)	65.2 ± 5.44 ^{b)} (n=6)
7	66.7 ± 8.41 (n=6)	73.4 ± 6.27 ^{b)} (n=6)

Values are given as means ± SD with numbers of rats used in experiments.

^{a)} p < 0.01 compared to the group with glucagon and insulin.

^{b)} p < 0.05 compared to control.

GOT, GPT, LDH, アルカリフォスファターゼ, 総ビリルビン, およびコリンエステラーゼを測定した.

上記の実験で得られたデータの有意差の検定は, Student's t 検定で行なった.

結 果

1. 肝重量再生率 (Fishback 係数)

肝切群と GI 群について, 肝切後残存肝の重量再生率の推移を表 1 に示した. 肝切後 1 日目に, 肝切群に比べて GI 群は有意に低値を示した (p < 0.01) が, 1~2 日目に著明に回復し, 2 日目には両群間に有意な差は無くなった. その後, GI 群は 5 日目から 7 日目にかけて, 肝切群に比べて有意な高値を示した (p < 0.05).

2. 核蛋白当りの DNA 量の推移

肝切後の核蛋白当りの DNA 量の推移を図 1 に示した. 術前値は 28.22 ± 6.3 (μg/ml/mg/dl, n=14) であった. 肝切群では術後 1 日目には 20.08 ± 5.26 (n=7) と, 一旦低下するが, 2 日目に 23.45 ± 5.84 (n=7) と回復し始め, 5 日目には 34.48 ± 8.52 (n=7) と最大値を示した後, 7 日目には 31.23 ± 8.76 (n=6) とほぼ術前値となった. これに対して, GI 群では, 術後 1 日目には既に 48.22 ± 13.6 (n=7) と最大値を示したのち, 2 日目にも 32.42 ± 6.88 (n=7) と肝切群に比べて有意に高値を示した (p < 0.01). 5 日目には 21.24 ± 4.02 (n=6) と逆に肝切群に比べて有意に低くなり (p < 0.01), 7 日目にも 27.33 ± 7.45 (n=6) と術前値に復した.

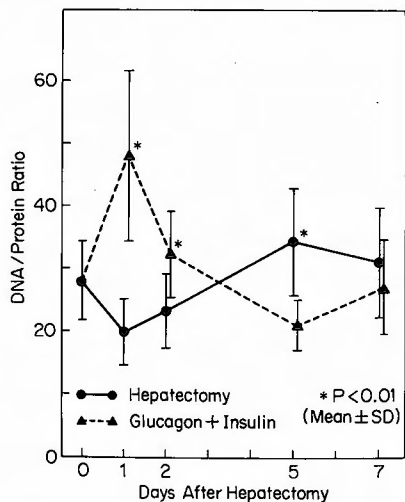


Fig. 1. Changes in ratio of DNA contents (μg/dl) and nuclear protein (mg/dl) after partial hepatectomy.

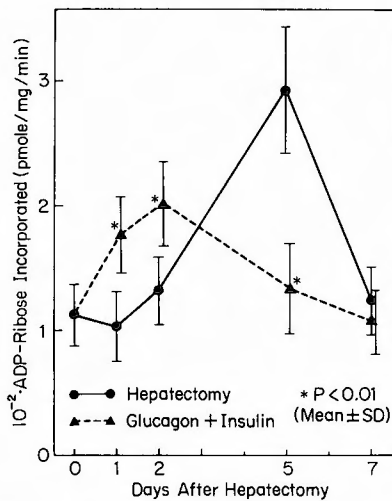


Fig. 2. Effect of glucagon and insulin on poly-(ADP-ribose) polymerase activity after partial hepatectomy.

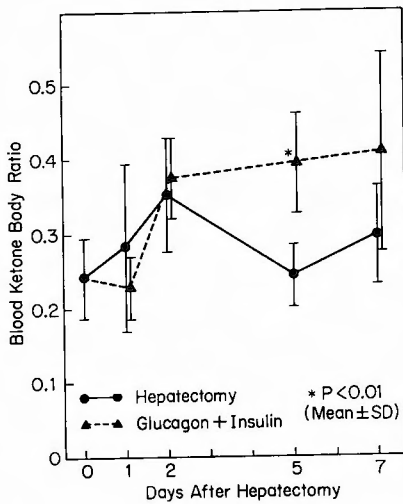


Fig. 3. Changes in blood ketone body ratio after partial hepatectomy.

3. Poly (ADP-ribose) 合成酵素活性の推移

Poly (ADP-ribose) 合成酵素活性の肝切後の推移を図2に示した。術前値は、 142 ± 31 pmole/mg/min ($n=14$)であった。肝切群では、術後2日目に酵素活性は 166 ± 34 pmole/mg/min ($n=7$) と有意に上昇し始め ($p < 0.01$)、5日目には 368 ± 64 pmole/mg/min ($n=7$) と最大値を示した後、7日目に 156 ± 34 pmole/mg/min ($n=6$) となった。GI群では、術後1日目から 222 ± 38 pmole/mg/min ($n=7$) と活性は上昇しはじめ、2日目には、 253 ± 42 pmole/mg/min ($n=7$) と肝切群に比べると値は低いものの最大値となった。また5日目および7日目には、各々 168 ± 45 pmole/mg/min ($n=6$)、 134 ± 32 pmole/mg/min ($n=6$) となった。

4. KBR の変動

ラットの KBR 値は β -ヒドロキシ酪酸の濃度が高いため、ヒトや家兎に比べて低い値を示すことが知られている^{1,39)}か、我々の術前値も 0.243 ± 0.054 ($n=13$) と低い値を示した。肝切後の KBR の変動を図3に示した。肝切群では術後1, 2, 5および7日目に、各々 0.284 ± 0.112 ($n=6$)、 0.354 ± 0.076 ($n=6$)、 0.245 ± 0.042 ($n=6$)、 0.298 ± 0.066 ($n=5$) と推移し、GI群では各々 0.230 ± 0.042 ($n=7$)、 0.376 ± 0.054 ($n=7$)、 0.395 ± 0.067 ($n=7$)、 0.409 ± 0.133 ($n=6$) と推移した。両群の KBR 値はほぼ同様の推移を示したが、術後5日目で肝切群は GI 群より有意に低値を示した ($p < 0.01$)。

5. 一般肝機能検査

術後1日目で、肝切群の GOT, GPT は各々、 3124.5 ± 1634 IU/L ($n=7$)、 3247.5 ± 1940.7 IU/L ($n=7$) で、GI 群も 1683.9 ± 706 IU/L ($n=7$)、 1505.4 ± 587.8 IU/L ($n=7$) と共に高値を示したが、GI 群は、肝切群に比べて有意に低く ($p < 0.05$)、さらに術後2日目でも、同じく低い値を示した ($p < 0.01$)。以後は両群ともほぼ正常値で有意差なく推移した。LDH は術後1, 2日目に、各々、GI 群では 1057.2 ± 553.9 IU/L ($n=7$)、 333.9 ± 194.4 IU/L ($n=7$) となり、肝切群が 4186 ± 1389.5 IU/L ($n=7$)、 1074.4 ± 284.6 IU/L ($n=7$) を示したのに比べて、有意に低値を示した ($p < 0.01$)。やはりそれ以後は両群間に有意差は認めなかった。アルカリフォスファターゼ、総ビリルビン、コリンエステラーゼは両群間で有意な差は認められなかった。

考 察

肝癌、とくに肝硬変合併肝癌などの肝予備能が著しく低下している症例に対する外科手術療法は、肝予備能の厳密な評価^{18,21,25,42,43)}、肝の解剖学的特性に基づく手術方式の改善^{15,20)}などが相まって徐々に進歩しつつある。しかし、依然、術後合併症などの発生率は低くなく、しかも重篤な合併症がほとんどで、現在もなおその治療は最も困難なもののひとつである。さらに、肝動脈塞栓術⁴⁵⁾、肝動脈結紮術²²⁾、あるいはエタノール腫瘍内注入法³⁷⁾などの切除不能例に対する姑息的治療が予想外の延命効果をもたらすことから、切除可能例に対してさえ、手術死亡例の減少を求める余り、切除範囲を縮小し、根治性を損ねることもなしとしない。切除範囲の拡大を図り、根治性の向上を目指すことにより術後遠隔成績を向上せしめ、さらには術後合併症を予防し手術死亡を減少させるために、肝切除後の残存肝細胞の再生を促進する有効な手段を検索することが重要であると考えられる。

現在、GI療法が、肝再生の促進に有効であるとして、劇症肝炎の治療、慢性・急性の肝不全例や肝切除術後の肝不全発症例に対して臨床応用されている^{3,23)}が、その詳しい効果を調べるために、核酸代謝に関与する poly (ADP-ribose) 合成酵素活性に GI療法が与える影響を検討した。

肝重量再生率は、術後1日目に GI 群は肝切群に比べて有為な低値を示したが、その後は、肝切群より良好な再生を示した。GI療法が肝再生を促進することは、Bucher と Swaffield⁴⁾ 以来多くの報告がある¹³⁾が、今回の実験でもそれは明らかであった。

GI 療法によって、肝切除後の poly (ADP-ribose) 合成酵素活性は術後、肝切除群より早期にその活性のピークが認められた。しかし、その値は肝切除群において術後5日目にみられた最大値の約60%と低い値を示した。Poly (ADP-ribose) 合成酵素は、G₁ 期にその活性が上昇し始め^{31,32}、鋳型活性を高めることによりS期の開始に関与することが知られている¹⁶ が、Takatsukiら³⁸ が報告した如く、GI によって細胞回転が早められた可能性を示すものであると思われる。

さらに、核蛋白当りの DNA 量は、両群とも本酵素活性の上昇とともに増加していた。Poly (ADP-ribose) 生成による核蛋白質の修飾が細胞回転の進行のために必要であることは広く知られており¹⁶、DNA の鋳型活性亢進の結果、DNA の nuclease の接近性が高まって DNA 合成が促進されることが報告されている⁴¹。今回の実験でも poly (ADP-ribose) 生成により、DNA 合成が亢進したものと思われた。しかし、本酵素活性の上昇の程度と核蛋白当りの DNA 量とは比例せず、他の作用機序も関与しているものと考えられた。

GI 群の poly (ADP-ribose) 合成酵素最大活性値が、肝切除群のそれよりも低い値を示したことは、肝切除後の DNA 損傷が GI 群においてより少なかったことによるものとも想定される。これは、HeLa 細胞核を用いた Miller の報告¹⁷ をはじめ、多くの研究により、本酵素活性は DNA の損傷に比例して上昇することが知られている^{2,32} ことから明らかである。術後早期の一般肝機能検査結果と考え合わせると、GI 療法が細胞回転を早めることにより肝切除による肝細胞障害をより早期に修復し、肝細胞保護効果を示し、本酵素の最大活性値の低下をもたらしたものと思われる。

さらにこのことは、術後5日目に KBR が肝切除群で GI 群より低値を示したことも関連する。KBR は、小澤ら⁴³ により、肝細胞内ミトコンドリアの energy charge と高い相関を示し、肝切除後の肝再生に極めて重要な意味を持つことが示された。ラット肝切除後、energy charge レベルは術後数時間の間に一旦低下するが、約12時間後には回復し²⁶、その後の肝再生に必要な代謝エネルギーを供給する。Poly (ADP-ribose) 合成酵素は、NAD を基質として消費することから、その酵素活性が急激に亢進すると ATP レベルに影響をもたらす^{31,7,29,30}。このことは、肝切除群が高い酵素活性を示した術後5日目に、KBR が有意に低下したことと一致する。GI 療法により細胞回転が早められ、

DNA 修復がより速やかに行なわれて、障害 DNA が低下し、そのことから、急激な poly (ADP-ribose) 合成が抑制され、これは細胞内 NAD 消費の抑制を通じて、細胞内エネルギーの安定化をもたらす、肝再生に有利に働くことが示唆された。

結 語

以上のことから GI 療法の肝再生促進効果は、以下に述べる二通りの機序で発現されることが想定される。一つは、GI 療法によって、poly (ADP-ribose) 合成酵素活性の最大値が肝切除後早期に見られ、また核蛋白当りの DNA 量の変化も同様に推移したことから、細胞回転を早め、DNA 合成を促進する事により、肝再生を促進するというものであり、もう一つは、細胞回転を早め、肝切によって引き起こされる DNA 損傷をより早く修復することより、肝切除5日目前後に起こる poly (ADP-ribose) 合成酵素活性の急激な上昇を制限し、NAD の過剰な消費を抑制することを通じて、エネルギー保全を図り、肝再生に有利に働くことである。

参 考 文 献

- 1) 青木芳和, 伊藤 啓, 樋口秀朗, 他: 高感度ケトン体測定用試薬の評価. 基礎と臨床 21: 4825-4835, 1987.
- 2) Berger NA, Sikorski GW, Petzold SJ, et al: Association of poly(adenosine diphosphoribose) synthesis with DNA damage and repair in normal human lymphocytes. J Clin Invest 63: 1164-1171, 1979.
- 3) Berger SJ, Sudar DC and Berger NA: Metabolic consequences of DNA damage: DNA damage induces alterations in glucose metabolism by activation of Poly(ADP-ribose) polymerase. Biochem Biophys Res Commun 134: 227-232, 1986.
- 4) Bucher NLR and Swaffield MN: Rate of incorporation of labeled thymidine into deoxyribonucleic acid of regenerating rat liver in relation to amount of liver excised. Cancer Res 24: 1611-1625, 1964.
- 5) Burton K: A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem J 62: 315-323, 1956.
- 6) Burzio L and Koide SS: In vitro effect of NAD on DNA synthesis in isolated nuclei from regenerating rat liver and Novikoff hepatoma. FEBS lett 20: 29-32, 1972.

- 7) Carson DA, Seto S and Wasson DB: Lymphocyte dysfunction after DNA damage by toxic oxygen species. A model of immunodeficiency. *J Exp Med* **163**: 746-751, 1986.
- 8) Chauveau J, Moule Y and Rouiller Ch: Isolation of pure and unaltered liver nuclei morphology and biochemical composition. *Exp Cell Res* **11**: 317-321, 1956.
- 9) Farivar M, Wands JR, Isselbacher KJ, et al: Effect of insulin and glucagon on fulminant murine hepatitis. *N Engl J Med* **295**: 1517-1519, 1976.
- 10) Fishback FC: A morphologic study of regeneration of the liver after partial removal. *Arch Pathol* **7**: 955-977, 1929.
- 11) Hayaishi O, Ueda K: Poly(ADP-ribose) and ADP-ribosylation of proteins. *Ann Rev Biochem* **46**: 95-116, 1977.
- 12) Higgins GH and Anderson RM: Experimental pathology of the liver. I. Restriction of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Path* **12**: 186-202, 1931.
- 13) Leffert HL, Koch KS, Moran T, et al: Hormonal control of rat liver regeneration. *Gastroenterol* **76**: 1470-1482, 1979.
- 14) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, et al: Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* **193**: 265-275, 1951.
- 15) Makuuchi M, Hasegawa H and Yamazaki S: Ultrasonically guided subsegmentectomy. *Surg Gynecol Obstet* **161**: 346-350, 1985.
- 16) Mandel P, Okazaki H and Niedergang C: Poly(adenosine diphosphate ribose). *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* **27**: 1-51, 1982.
- 17) Miller EG: Stimulation of nuclear poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase activity from HeLa cells by endonucleases. *Biochim Biophys Acta* **395**: 191-200, 1975.
- 18) 水本龍二, 野口 孝, 中川 毅: 肝機能予備力と手術危険度の判定. *外科治療* **39**: 71-78, 1978.
- 19) 中村敏一: 血小板因子と肝再生機構. *蛋白質 核酸 酵素* **32**: 1113-1125, 1987.
- 20) 岡本英三: 肝癌に対する肝切除術—グリソン系脈管処理を先行する系統的領域・亜区域切除の提唱. *消化器外科セミナー* **23**: 229-241, 1986.
- 21) Okamoto E, Kyo A, Yamanaka N, et al: Prediction of the safe limit of hepatectomy by combined volumetric and functional measurements in patients with impaired hepatic function. *Surgery* **95**: 585-591, 1984.
- 22) Okamoto E, Tanaka N, Yamanaka N, et al: Results of surgical treatment of primary hepatocellular carcinoma: Some aspects to improve long-term survival. *World J Surg* **8**: 360-366, 1984.
- 23) 沖田 極, 相部 剛, 賀屋 茂, 他: 肝疾患治療薬の作用に関する基礎的研究(3): glucagon-insulin 療法による急性, 慢性肝不全の治療. *肝臓* **19**: 854-860, 1978.
- 24) Okuda, K. and the liver cancer study group of Japan.: Primary liver cancers in Japan. *Cancer* **45**: 2663-2669, 1980.
- 25) Ozawa K, Ida T, Yamada T, et al: Significance of glucose tolerance as prognostic sign in hepatectomized patients. *Am J Surg* **131**: 541-546, 1976.
- 26) Ozawa K, Yamada T, Ukikusa M, et al: Mitochondrial phosphorylative activity and DNA synthesis in regenerating liver synthesis in regenerating liver of diabetic rats. *J Surg Res* **31**: 38-45, 1981.
- 27) Price JB, Takeshige K, Max MH, et al: Glucagon as the portal factor modifying hepatic regeneration. *Surgery* **72**: 74-82, 1972.
- 28) Roberts JH, Stark P and Smulson M: Poly-(ADP-ribose): release of template restriction in HeLa cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **71**: 3212-3216, 1974.
- 29) Schraufstatter IU, Hyslop PA, Hinshaw DB, et al: Hydrogen peroxide-induced injury of cells and its prevention by inhibitors of poly-(ADP-ribose) polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA* **83**: 4908-4912, 1986.
- 30) Sims JL, Berger SJ and Berger NA: Poly-(ADP-ribose) polymerase inhibitors preserve nicotinamide adenine dinucleotide and adenosine 5'-triphosphate pools in DNA-damaged cells: mechanism of stimulation of unscheduled DNA synthesis. *Biochemistry* **22**: 5188-5194, 1983.
- 31) Smulson M, Henriksen O and Rideau C: Activity of polyadenosine diphosphoribose polymerase during the human cell cycle. *Biochem Biophys Res Commun* **43**: 1266-1273, 1971.
- 32) Smulson M, Schein P, Mullins DW et al: A putative role for nicotinamide adenine dinucleotide-promoted nuclear protein modification in the antitumor activity of N-methyl-N-nitrosourea. *Cancer Res* **37**: 3006-3012, 1977.
- 33) Smulson M, Stark P, Gazzoli M, et al: Release of template restriction for DNA synthesis by poly ADP (ribose) polymerase during the HeLa cell cycle. *Exp Cell Res* **90**: 175-182, 1975.
- 34) Starzl TE, Porter KA, Kashiwagi N, et al: Portal hepatotrophic factors, diabetes mellitus and acute liver atrophy, hypertrophy and regeneration. *Surg Gynecol Obstet* **141**: 843-858, 1975.

- 35) St. Hilaire RJ and Jones AL: Epidermal growth factor: Its biological and metabolic effects with emphasis on the hepatocyte. *Hepatology* 2: 601-613, 1982.
- 36) 須藤峻章, 菖蒲隆治, 金澤秀剛, 他: 肝硬変合併肝癌に対する CUSA 使用による腫瘍核出術. *外科治療* 57: 452-456, 1987.
- 37) 杉浦信之, 高良健司, 大藤正雄, 他: 超音波映像下経皮的腫瘍内エタノール注入による小肝細胞癌の治療. *肝臓* 24: 920, 1983.
- 38) Takatsuki K, Fujiwara K, Hayashi S, et al: Acceleration of DNA synthesis in post-hepatectomized regenerating liver of normal rat by insulin and glucagon. *Life Sciences* 29: 2609-2615, 1981.
- 39) Taki Y, Jikko A, Morimoto T, et al: Effect of hepatic artery embolization on the redox state of the cirrhotic liver. *Res Exp Med* 186: 179-183, 1986.
- 40) Tanigawa Y, Kawamura M and Shimoyama M: Effect of polyamines on ADP-ribosylation of nuclear proteins from rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 76: 406-412, 1977.
- 41) Tanigawa Y, Kitamura A, Kawamura M, et al: Effect of Poly (ADP-ribose) Formation on DNA synthesis in chickembryo-liver nuclei. *Eur J Biochem* 92: 261-269, 1978.
- 42) Ukikusa M, Ida T, Ozawa K, et al: The influence of hypoxia and hemorrhage upon adenylate energy charge and bile flow. *Surg Gynecol Obstet* 149: 346-352, 1979.
- 43) Ukikusa M, Ozawa K, Shimahara Y, et al: Changes in blood ketone body ratio. Their significance after major hepatic resection. *Arch Surg* 116: 781-785, 1981.
- 44) Uno S, Itoh S, Kurono M, et al: A simple and sensitive assay for blood ketone bodies using highly purified 3-hydroxybutyrate dehydrogenase. *Cli Chim Acta* 168: 253-255, 1987.
- 45) 山田龍作, 中塚春樹, 中村健治, 他: 各種悪性腫瘍に対する transcatheter arterial embolization の経験. *脈管学* 18: 563-571, 1978.