

原 著

肝広範切除後の胆汁酸代謝，特に拡大肝切除後 早期の胆汁酸上昇機序に関する研究

三重大学医学部第一外科学教室（指導 水本龍二教授）

田 矢 功 司

〔原稿受付 平成元年4月28日〕

Experimental Studies on Bile Acid Metabolism after Extended Hepatectomy, with Special Reference to Mechanism of an Early Increase of Bile Acids in the Serum

KOJI TAYA

First Department of Surgery, Mie University School of Medicine

The purpose of this study was to evaluate an early increase of bile acids in the serum after the extended hepatectomy, namely 84% hepatectomy in normal dogs and 70% hepatectomy in dimethylnitrosamine-induced cirrhotic dogs.

Many dogs died due to hepatic insufficiency caused by severe intrahepatic cholestasis and functional disturbance of the remnant liver within 7 days after extended hepatectomy. Serum total bile acids increased with the peak at 12 hours after surgery, accompanied by an increase of taurine-conjugated bile acids, and each concentration of them was higher in the hepatic vein than in the portal vein.

These results suggested that an early increase of bile acids in the serum after the extended hepatectomy resulted from the reflux to systemic circulation from the remnant liver due to disturbance of bile excretion into biliary tract and the decrease of hepatic functional mass with decrease of blood perfusion.

は じ め に

近年，原発性肝癌をはじめとして肝門部胆管癌や転移性肝癌に対しても積極的に肝切除が行われるように

なっており，その治療成績は向上しているが，進行癌が多いため根治的には拡大肝切除が必要となることが少なくなく，術後肝不全に陥って予後を不良としている症例も経験され重要な問題となっている。教室で

Key words: DMNA-induced liver cirrhosis, Hepatectomy of cirrhotic liver, Postoperative hepatic insufficiency, Bile acid fraction, Postoperative intrahepatic cholestasis.

索引語：DMNA 肝硬変，硬変肝切除，術後肝不全，胆汁酸分画，術後肝内胆汁うっ滞。

Present address: First Department of Surgery, Mie University School of Medicine, Tsu, Mie, 514, Japan.

は¹⁾ これら症例の胆汁酸代謝を検討し、特に肝切除後早期に肝不全を発生した症例では、末梢静脈血中の胆汁酸値が著明に高値を示したことから、この肝切除後早期の胆汁酸代謝異常が肝切除後の予後を判定する上で有用な指標となることを報告してきた。しかるに、肝切除後の胆汁酸代謝に関する研究は少なく、肝切除後早期の血中胆汁酸の上昇機序は不明であり、その病態を明らかにすることは、肝切除後の予後の判定や代謝管理の上で極めて有用と考えられる。そこで、本研究では実験的に犬を用い従来容認されてきた肝切除限界を越えて、即ち正常犬に84%肝切除、肝硬変犬に70%肝切除の拡大肝切除を施行して、拡大肝切除後の胆汁酸代謝の病態を明らかにすることを目的とした。

実験材料並びに方法

三重大学医学部附属動物実験施設で飼育した体重 8-16 kg の雑種成犬を雌雄の別なく用いて以下の実験を行った。

1. 実験群の作成

正常肝及び以下のごとく dimethylnitrosamine (DMNA) を経口投与して作成した硬変肝を肝切除の対象とした。また、肝細胞障害による急性肝不全のモデルとして DMNA を門脈内に投与して急性肝不全を作成し、拡大肝切除後の病態と比較検討した。

1) DMNA 肝硬変の作成

Kohno ら⁴⁾ の方法に従って正常雑種成犬に DMNA を1回量 $2\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{体重}$ の割合で、最初の2週間は週2回、その後6週間は週1回計 $20\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{体重}$ を経口投与し、Madden⁵⁾ の分類に従って組織学的に C-2 の肝硬変を示した20頭を用いた。

2) 急性肝不全の作成

24時間絶食させた正常雑種成犬に Nembutal 15 mg/kg・体重(以下同じ)の静脈麻酔下で、腹部正中切開で開腹し、三條ら¹²⁾の方法に従って生理的食塩水で10倍に希釈した DMNA 20 mg/kg・体重を門脈本幹に one shot 静注した。

3) 肝切除量と実験群の分類

犬の肝は大きく6葉に分葉しているが、正常犬の全肝重量に対する各肝葉の重量比から左2葉は40%領域、左4葉に尾状葉の乳頭突起部を含めると70%領域、さらに、左5葉にこの乳頭突起部を含めると84%領域となるため^{8,10)}、これら領域の肝切除をそれぞれ40%、70%及び84%肝切除とし、全例胆嚢摘出術を併施した。即ち正常犬並びに DMNA 肝硬変犬を24時間絶食後

Nembutal の静脈麻酔下で、腹部長正中切開で開腹し、正常犬に対しては70%及び84%肝切除、DMNA 肝硬変犬に対しては40%及び70%肝切除を行い、結局実験群を以下の5群に分けた。

I 群：正常犬70%肝切除群 (n=12)

II 群：正常犬84%肝切除群 (n=23)

III 群：DMNA 肝硬変犬40%肝切除群 (n=10)

IV 群：DMNA 肝硬変犬70%肝切除群 (n=10)

V 群：急性肝不全群 (n=10)

各群5頭は、実験モデル作成後12時間目に門脈及び肝静脈血中の胆汁酸値並びに肝組織血流量の測定を行った後、犠牲剖検した。

尚、各群とも実験モデル作成の術中及び術後12時間は頸静脈より10%ブドウ糖液を $5\text{ml}/\text{kg}/\text{h}$ 、その後の2日間は $1\text{ml}/\text{kg}/\text{h}$ 投与し、術後3日目以後は経口摂取のみとした。また、すべての手術操作は無菌的に行ったが術後は抗生物質 (Cefmetazole: CMZ 三共株式会社 500mg) を1日2回、3日間筋肉注射した。

2. 検索項目並びに方法

1) 生存率

術後12時間目に犠牲剖検した各群5頭を除いて、実験モデル作成後7日目の生存率を求めた。尚、術後24時間以内に死亡した犬は実験手技が不良であったものと考え本研究の対象から除外した。すべての実験動物は剖検し、生存率は術後7日目に犠牲剖検を行って検索した。肝不全の判定は一般肝機能検査成績が不良で死亡前の hepa-plastin test が10%以下を示し、理学的に黄疸が認められ、Smith¹⁴⁾ による犬の肝性脳症が Grade 2 以上を示したものとし、これらに剖検肝の病理組織学的所見 (Hematoxylin-Eosin 染色) を加えて総合的に判定した。

2) 一般肝機能検査

各群とも実験モデル作成の1時間前と作成後6, 12, 24時間目及び3, 7日目に頸静脈より採血し、血清の総ビリルビン値 (T. Bil: Jendrassik 法), glutamic pyruvic transaminase (GPT: UV 法), hepa-plastin test (HPT: ヘパプラスチンキット, エーザイ) を測定した。

3) 血清胆汁酸の検索

①採血部位と時期：末梢血については一般肝機能検査と同一の血液を用いて検索した。さらに前述のごとく術後12時間目に犠牲剖検した各群5頭については開腹直後及び実験モデル作成後12時間目にそれぞれ頸静脈、門脈本幹、右肝静脈より同時に採血して検索した。

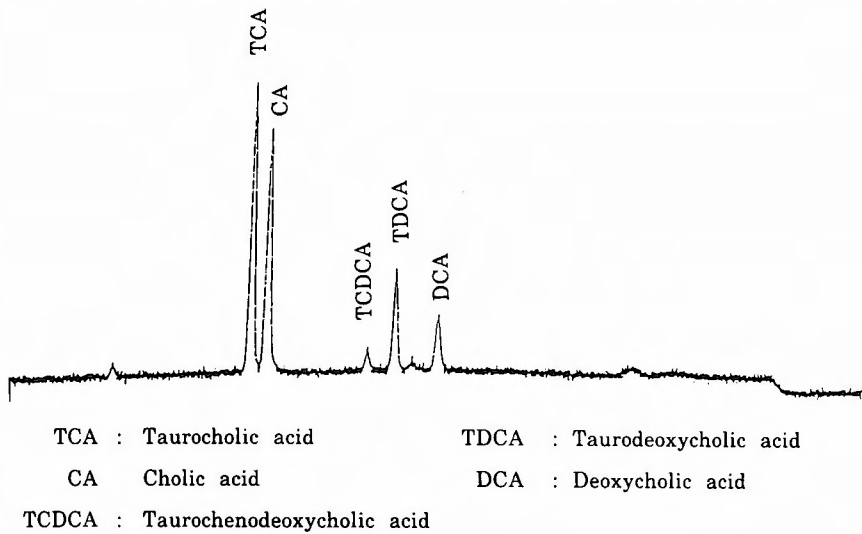


図1 正常犬の末梢血清胆汁酸分画のクロマトグラム

②総胆汁酸値並びに胆汁酸分画の測定方法：血清総胆汁酸値（以下TBAと略）の測定はエンザバイルキット（第一化学薬品）を用いて酵素比色法により行った。

血清胆汁酸分画の測定はOkuyamaら⁹⁾の方法に従って、3 α -hydroxysteroid dehydrogenase (3 α -HSD)を固定化した酵素カラム（E-3 α -HSD，積水化学工業）を用い，高速液体クロマトグラフシステム（日立655型）により各胆汁酸分画を測定した。尚，分離カラムはメディポーラ BILE（積水化学工業）を，螢光検出器は日立650-40を用いた。溶離液としてはA液：CH₃CN/CH₃OH/30mMCH₃COONH₄，20/20/60(PH 7.05)，B液：CH₃CN/CH₃OH/30mMCH₃COONH₄，30/30/40(PH 7.35)の2種類を用い，gradient 条件は0分にA/Bが100/0，10分にA/Bが80/20，40分にA/Bが0/100に設定した。反応液は0.2mMの β -NAD溶液（1mMEDTA，10mM KHPO₄，0.045% 2-Mercaptoethanol，PH 7.8）を流量1ml/minで用いた。血清の前処理は，逆相分配方式の serumout-25カラムを用いた血清自動前処理装置セラマウト（積水化学工業）により行い，高速液体クロマトグラフシステムに組み込んだ。このシステムにより非硫酸抱合，非グルクロン酸抱合型の胆汁酸15分画の純品混合液は極めて良好にかつ同時に分離され，これにより測定した正常犬血清のクロマトグラムを図1に示した。人とは異なり犬血清の抱合型胆汁酸はグリシン抱合型は検出されずタウリン抱合型のみであったので，以下本研究で抱合型とはタウリン抱合型を示す。尚，犬血清で

は ursodeoxycholic acid，lithocholic acid の各抱合型と遊離型及び，chenodeoxycholic acid の遊離型は検出されず，本法で検出された正常犬血清の胆汁酸分画は，taurocholic acid (TCA)，cholic acid (CA)，taurochenodeoxycholic acid (TCDCA)，taurodeoxycholic acid (TDCA)，deoxycholic acid (DCA) の5分画であった。

尚，肝静脈血及び門脈血については総胆汁酸値や胆汁酸分画の値を測定した他，さらにそれぞれの肝静脈血及び門脈血中の比率についても検索した。

4) 肝組織血流量の測定

門脈及び肝静脈血中の胆汁酸の変動を検索するためには術後12時間で犠牲剖検した各群5頭について肝切除前及び肝切除後3，6，9，12時間目に余喜多ら¹⁵⁾の方法に従って，水素ガスクリアランス式組織血流量計(MIT 技研)を用い肝組織血流量を測定した。

5) 統計学的検討

実験成績は平均値±標準偏差 (Mean±SD) で示し，有意差検定は Student's t-test を用い， $p<0.05$ を有意と判定した。

実 験 成 績

1. 生存率

各群の7日目の生存率はI群：85.7%，II群：33.3%，III群：60.0%，IV群：20.0%，V群：0%，であり，拡大肝切除のII群，IV群では肝切除後早期に肝不全で死亡するものが多く1週生存率は低率であった。一方，

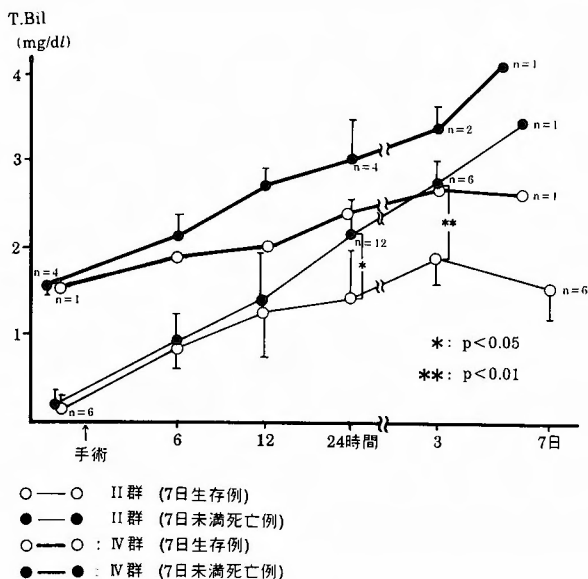


図4 拡大肝切除(Ⅱ群及びⅣ群)術後の血清総ビリルビン値(T. Bil)の変化(7日未満死亡例と7日生存例の比較)

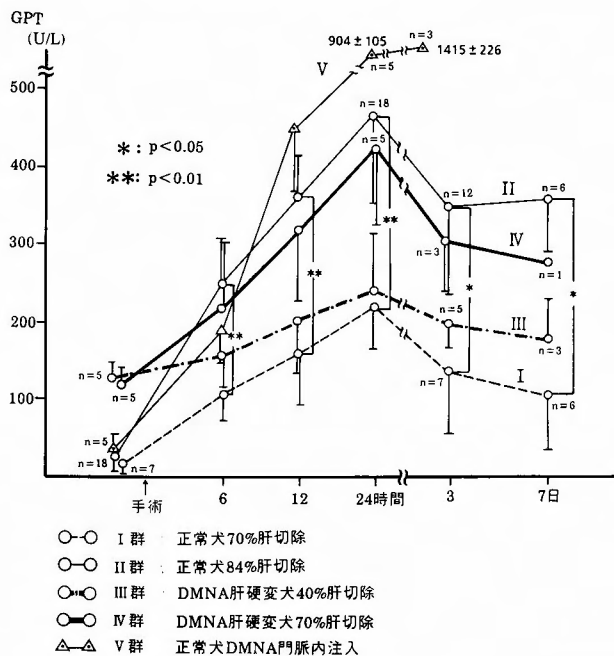


図5 GPT の 変 化 (Ⅰ群～Ⅴ群)

死亡例ではⅡ、Ⅳ群ともに血清 T. Bil は術後増加を続けて死亡したが，7日生存例ではともに術後3日目にピークをとり以後低下傾向を示した．特にⅡ群では術

後24時間目及び3日目の値が7日生存例で 1.44 ± 0.51 ($n=6$), 1.92 ± 0.35 ($n=6$) と7日未満死亡例の 2.17 ± 0.40 ($n=12$), 2.75 ± 0.28 ($n=6$) に比しそれぞれ有意

に ($p<0.05$, $p<0.01$) 低値を示した (図4).

GPT の術後の推移をみると, V群が術後急上昇し1000以上の高値を示して死亡したのに対し, 肝切除のI~IV群ではいずれも術後24時間目に最高値をとり, しかも500以上の高値を示さずその後低下しており, 急性肝不全のV群と明らかに異なった推移を示した. また肝切除のI~IV群では特に拡大肝切除のII群, IV群が著明な高値を示し, かつII群はI群に比し有意に高値を示したが(図5), II群及びIV群の7日生存例と7日未満死亡例の間ではそれぞれ有意の差を認めなかった.

HPT の術後の推移をみると, V群が術後急速に低下して死亡したのに対し, 肝切除のI~IV群では各群とも術後1-3日目に最低値をとった後再上昇を示した. 特に正常肝拡大切除のII群はI群に比し術後6時間以降有意に低値をとった(図6). また拡大肝切除のII群, IV群の7日生存例では術後3日目より上昇したのに対し, 7日未満死亡例では回復することなく低値をとったまま死亡した.

3. 血清胆汁酸

1) 末梢血

①総胆汁酸 (TBA, 酵素法): 術前の血清 TBA 値は

正常犬ではI群($n=7$): $3.2\pm2.1\mu\text{M}$ (以下単位略), II群 ($n=18$): 2.9 ± 1.6 , V群 ($n=5$): 3.3 ± 2.5 であって3群合わせて ($n=30$): 3.0 ± 1.4 であったのに対し, DMNA 肝硬変犬ではIII群 ($n=5$): 16.9 ± 4.6 , IV群 ($n=5$): 17.7 ± 4.5 , 両群合わせて ($n=10$): 17.3 ± 4.1 と有意 ($p<0.01$) に高値を示した.

一方, 術後の変化をみると, 急性肝不全のV群 ($n=5$) では術後急速に上昇し死亡前には 147.1 ± 25.2 と最高値を示したが, 肝切除の各群では共に術後12時間目でピークをとって上昇しかつ拡大肝切除のII群, IV群のピーク値は 96.3 ± 12.1 ($n=18$), 160.5 ± 21.7 ($n=5$) とそれぞれI群 16.6 ± 5.8 ($n=7$), III群 46.4 ± 8.2 ($n=5$)に比し有意 ($p<0.01$) に高い値を示した. この差は術後7日目においても認められ, 特にII群, ではI群に比して有意に ($p<0.05$) 高値を示した (図7). また拡大肝切除のII群, IV群で術後7日生存例と7日未満死亡例とを比較すると, 死亡例は生存例に比しより高値を示し, かつII群では術後6時間以降に死亡例の方が生存例に比し有意に高値を示した (図8).

即ち, さきに述べたごとく肝切除各群の一般肝機能の異常は肝切除後1-3日目に最も著しかったが, 血清TBA 値はこれらよりも早く術後12時間目にピークを

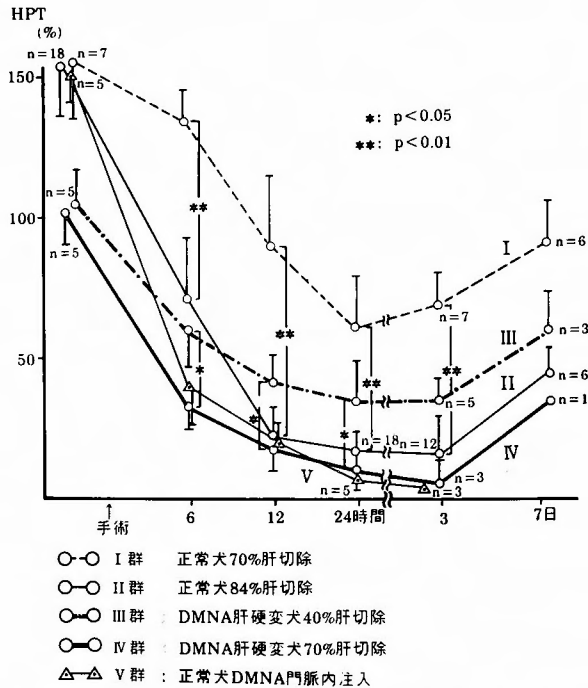


図6 ヘパプラスチンテスト (HPT) の変化 (I 群~V 群)

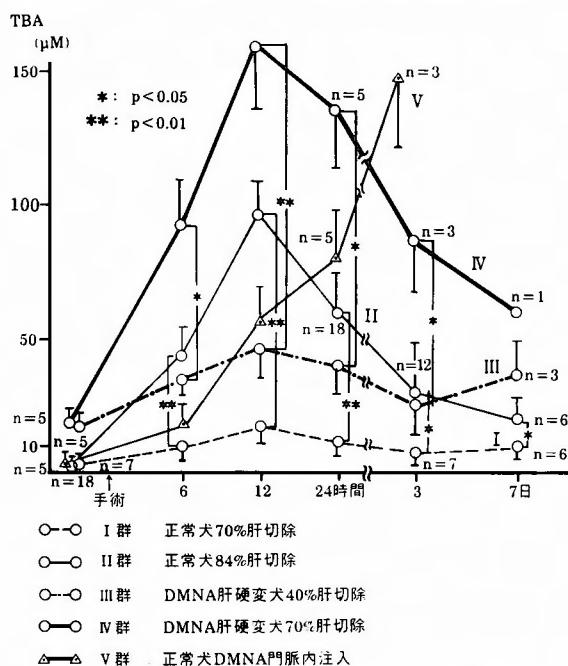


図7 血清総胆汁酸値 (TBA) の変化 (I 群～V 群)

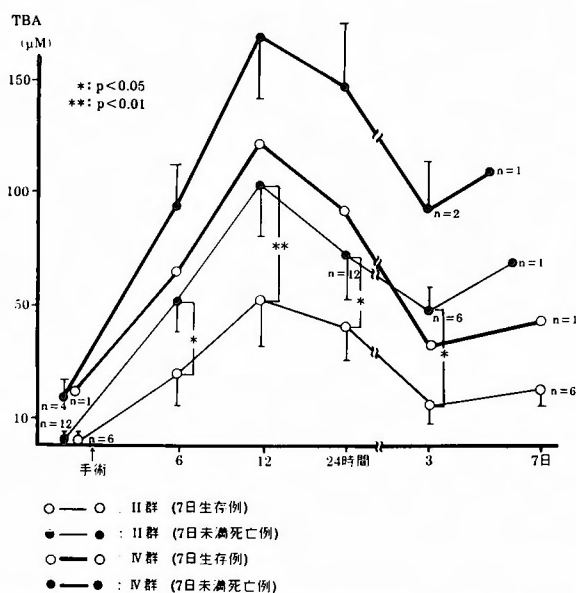


図8 拡大肝切除 (II 群及びIV 群) 術後の血清総胆汁酸値 (TBA) の変化 (7日未満死亡例と7日生存例の比較)

とって上昇した。また拡大肝切除群では7日生存例に比し，7日未満死亡例ではより高値を示した。

②胆汁酸分画：(a)術前値：DMNA肝硬変犬 (n=10)

では正常犬 (n=30) に比し，TCA，TCDCA，TDCA，CA，DCA の5分画ともそれぞれ有意 ($p<0.05$ または $p<0.01$) に高値を示した (表1)。(b)術後の成績：

表1 末梢血清中の胆汁酸分画値 (nmol/ml)

胆汁酸分画	術 前		術後12時間目				
	正常犬 n=30	DMNA 肝硬変犬 n=10	I 群 (n=5)	II 群 (n=5)	III 群 (n=5)	IV 群 (n=5)	V 群 (n=5)
TCA	0.26 ±0.11	1.15 ±0.45	0.45 ±0.23	5.09 ±1.85	1.29 ±0.82	32.2 ±13.5	9.24 ±4.53
TCDCA	0.04 ±0.01	0.13 ±0.05	0.06 ±0.10	1.04 ±0.50	0.44 ±0.23	3.60 ±1.40	1.60 ±0.40
TDCA	0.28 ±0.12	0.45 ±0.19	0.35 ±0.17	3.14 ±1.23	0.45 ±0.21	15.3 ±6.90	4.25 ±3.18
CA	0.15 ±0.08	0.51 ±0.23	0.45 ±0.23	0.51 ±0.17	3.04 ±1.31	2.30 ±1.45	n.d.
DCA	0.17 ±0.09	0.24 ±0.10	0.22 ±0.18	0.28 ±0.23	0.43 ±0.23	1.00 ±1.86	n.d.

*: p<0.05, **: p<0.01 n.d.: not detected

血清 TBA 値は肝切除後12時間目にピークを示したため、そのピーク時の血清胆汁酸分画について検討した。拡大肝切除の正常肝84%切除 (Ⅱ群) 及び硬変肝70%切除 (Ⅳ群) ではそれぞれ正常肝70%切除 (Ⅰ群) 及び硬変肝40%切除 (Ⅲ群) に比し、抱合型の TCA, TDCA, TCDCA が有意 (p<0.05または p<0.01) に高値を示したが遊離型の CA, DCA はⅠ, Ⅱ群間及びⅢ, Ⅳ群間で差は認められなかった。また急性肝不全のⅤ群ではⅠ~Ⅳ群と同様に TCA, TDCA, TCDCA

の順に高値を示したが、遊離型は検出されなかった (表1)。(c) 血清胆汁酸分画の総胆汁酸に占める比率: 術前の末梢血清中の CA, TCA, TCDCA, DCA, TDCA の総胆汁酸 (各胆汁酸分画の総和) に占める比率 (%) をみると、正常犬 (n=30) ではそれぞれ 16.7±4.5, 28.9±6.2, 4.4±1.9, 18.9±5.3, 31.1±8.1 であったが、DMNA肝硬変犬 (n=10) ではそれぞれ 20.6±7.4, 46.4±8.6, 5.2±1.7, 9.7±2.6, 18.1±5.5と肝硬変犬では一次胆汁酸である CA, TCA, TCDCA の比率が増加し、二次胆汁酸である DCA, TDCA の比率が減少を示していた。

一方、肝切除後12時間目の CA, TCA, TCDCA, DCA, TDCA の総胆汁酸に占める比率 (%) をみると正常肝切除群では、Ⅰ群: 28.8±7.8, 25.6±3.7, 7.4±2.7, 14.0±8.4, 23.2±6.3, Ⅱ群: 6.2±3.3, 51.5±11.9, 6.8±3.7, 9.4±4.0, 30.5±7.1 であり、また硬変肝切除群ではⅢ群: 54.5±14.7, 20.1±13.8, 7.5±3.6, 8.2±2.0, 8.6±3.6, Ⅳ群: 6.61±4.14, 56.2±11.0, 6.4±1.5, 1.4±2.1, 27.9±7.9であったのに対し、肝切除を行わずに DMNA の門脈内注入により急性肝不全を作成したⅤ群では、遊離型の CA, DCA が検出されず、抱合型の TCA が 65.6±8.3, TCDCA 12.5±3.6, TDCA 21.9±11.9であった (図9)。即ち、拡大肝切除のⅡ群, Ⅳ群の胆汁酸分画パターンは総胆汁酸中に占める TCA 及び TDCA の抱合型胆汁酸の比率が高く、両者で80%以上を示していたのに対し、Ⅰ群, Ⅲ群ではこれらの比率はあわせて、それぞれ 48.8±10.0%, 28.7±17.4%であって、遊離型の CA の割合がそれぞれ28.8±7.8%, 54.5±14.7

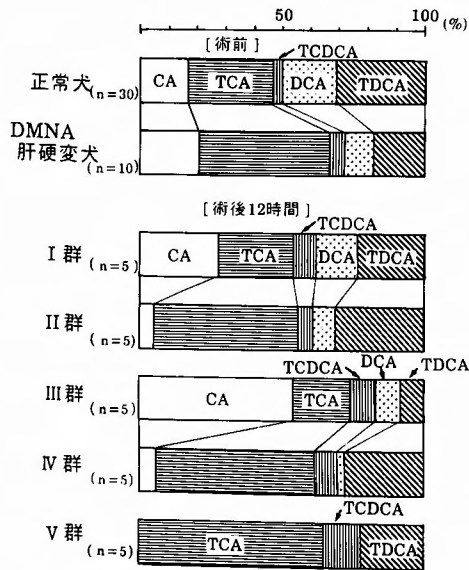


図9 末梢血清の総胆汁酸中に占める胆汁酸分画の比率

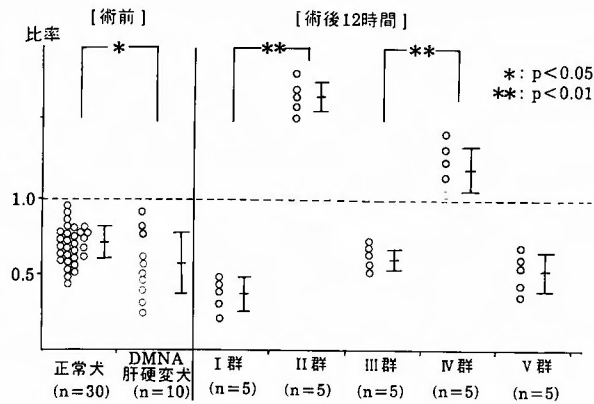


図10 肝静脈血中と門脈血中の総胆汁酸値の比率
(肝静脈血中総胆汁酸/門脈血中総胆汁酸)

％と著しく高く，拡大肝切除のⅡ，Ⅳ群や遊離型が検出されなかったⅤ群とは異なったパターンを示していた。

2) 肝静脈血及び門脈血

①総胆汁酸：肝静脈と門脈との血中TBA値の比をみると，術前では正常犬(n=30)，DMNA肝硬変犬(n=10)それぞれ 0.73 ± 0.12 ， 0.57 ± 0.22 と共に1以下であり，かつ肝硬変犬の方が有意($p < 0.05$)に低値を示していた。術後12時間目ではⅠ群(n=5)： 0.36 ± 0.11 ，Ⅱ群(n=5)： 1.18 ± 0.10 ，Ⅲ群(n=5)： 0.58 ± 0.07 ，Ⅳ群(n=5)： 1.21 ± 0.15 ，Ⅴ群(n=5)： 0.52 ± 0.12 であって，Ⅱ群はⅠ群に対し，Ⅳ群はⅢ群に比し，それぞれ有意($p < 0.01$)に高値を示し，しかも拡大肝切除のⅡ群，Ⅳ群ではこの比が全例1以上を示していた(図10)。

②胆汁酸分画：肝静脈と門脈との血中各胆汁酸分画値の比をみると，術前ではCA，TCA，TCDCA，DCA，TDCA各分画とも正常犬では $0.66 \sim 0.74$ の間であったがDMNA肝硬変犬では $0.52 \sim 0.63$ の間にあり，各分画ともそれぞれ肝硬変犬の方が低値を示す傾向にあった。

術後12時間目をみると，Ⅱ群，Ⅳ群では肝静脈と門脈の血中抱合型胆汁酸TCA，TCDCA，TDCAの比がすべて1以上を示したのに対し，Ⅰ群，Ⅲ群，Ⅴ群ではすべて1未満を示しており両者間に明らかに差を認めた。一方遊離型はⅤ群では検出されなかったが，Ⅰ～Ⅳ群ではすべてこの比が1未満を示し，各群間で差を認めなかった(表2)。

4. 肝組織血流量

DMNA肝硬変犬(n=10)の肝組織血流量は術前

表2 肝静脈血中と門脈血中の胆汁酸分画の比率(肝静脈血中各胆汁酸分画/門脈血中各胆汁酸分画)

胆汁酸分画	術前		Ⅰ群 n=5	Ⅱ群 n=5	Ⅲ群 n=5	Ⅳ群 n=5	Ⅴ群 n=5
	正常犬 n=30	DMNA 肝硬変犬 n=10					
TCA	0.74 ± 0.13	0.63 ± 0.18	0.66 ± 0.17	1.70 ± 0.58	0.58 ± 0.13	1.19 ± 0.12	0.47 ± 0.14
TCDCA	0.66 ± 0.10	0.58 ± 0.20	0.61 ± 0.18	1.56 ± 0.46	0.68 ± 0.20	1.07 ± 0.12	0.65 ± 0.18
TDCA	0.72 ± 0.12	0.61 ± 0.17	0.59 ± 0.14	1.52 ± 0.36	0.70 ± 0.09	1.22 ± 0.11	0.51 ± 0.15
CA	0.70 ± 0.13	0.52 ± 0.21	0.22 ± 0.10	0.84 ± 0.10	0.60 ± 0.11	0.87 ± 0.12	n.d.
DCA	0.69 ± 0.11	0.53 ± 0.22	0.16 ± 0.07	0.41 ± 0.08	0.57 ± 0.09	0.69 ± 0.13	n.d.

n.d. : not detected

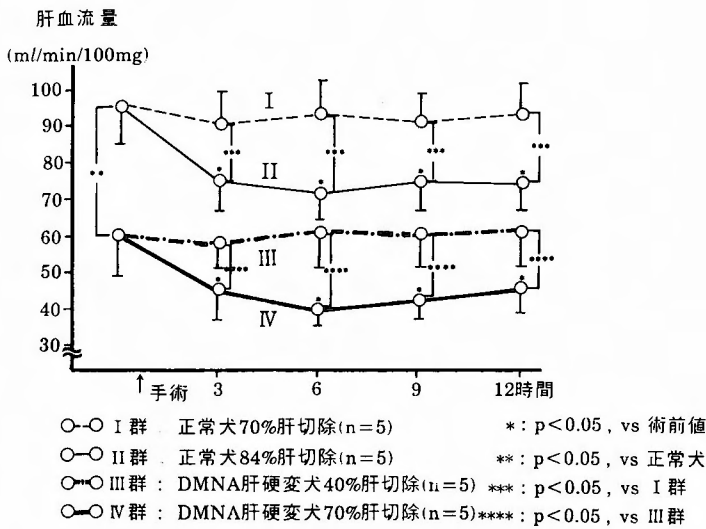


図11 肝切除後の残存肝組織血流量の変化（水素ガスクリアランス法）

60.3±10.5 ml/min/100 g（以下単位略）と正常犬（n=10）の95.4±10.7に比し、有意（p<0.01）に低値を示した。術後の肝血流量はI群、III群では減少が軽微で12時間目でもそれぞれ93.5±8.2、60.8±9.2であった。一方、拡大肝切除後では正常肝84%切除群（II群、n=5）及び硬変肝70%切除群（IV群、n=5）共に術前値に比し有意（p<0.05）に低値を示し、12時間目でもそれぞれ76.0±8.4、46.2±5.9といずれも術前値の80%以下に低下しており、拡大肝切除後では明らかに減少していた（図・11）。

5. 肝の組織学的所見

1) 術後12時間目犠牲性剖検例

術後12時間目に犠牲性剖検を行った各群5頭をみると、I、II群では正常な肝組織構造が保たれていたのに対して、III、IV群では正常の肝小葉構造はみられず、線維性組織の増加を認め、Madden 分類 C2 の肝硬変であった。また肝切除群（I～IV群）ではいずれも中心域における類洞の拡大やうっ血及び肝細胞の脂肪浸潤や胆汁色素沈着を認め、これらの変化は拡大肝切除のII、IV群で、特に毛細胆管や細胆管内の胆汁栓が著明であった。またV群では小葉中心性の肝壊死が広範囲に認められた。

2) 術後7日未満の死亡例

肝切除後死亡例では、いずれも中心域の類洞の拡大、うっ血、小葉内の細胞浸潤と肝細胞の萎縮や脂肪浸潤及び胆汁栓が中心域及び小葉中間帯から末梢にかけて

認められた（図・12）。V群では、小葉中心性にびまん性に著しい肝細胞壊死が認められた（図13）。

3) 術後7日目犠牲性剖検例

小葉中心域の毛細胆管内に胆汁栓と肝細胞に脂肪浸潤が軽度から中等度に認められた。

考 察

肝は胆汁酸代謝の中心的臓器であるが、肝広範切除後の胆汁酸代謝に関する詳細な研究はほとんど行われていない。そこで本研究は従来より承認されてきた肝切除限界^{13,14)}を超えて犬に正常肝84%切除及びDMNA 硬変肝70%切除の拡大肝切除を施行し、残存肝機能総量が高度に減少した状態における胆汁酸代謝を中心に検討した。

その結果、拡大肝切除後には対照とした正常肝70%切除や硬変肝40%切除後に比し、また拡大肝切除の中でも7日未満死亡例は7日生存例に比し、末梢血中の血清胆汁酸は著しく増加し、しかも一般肝機能検査としてのT. Bil, GPT 及びHPTが1-3日目に最も異常を示したのに対し総胆汁酸値はこれらより早く術後12時間目にピークを示して上昇しており、これが肝切除後の予後判定に有用と考えられた。即ち、正常では肝で合成され腸管へ排出された胆汁酸が腸肝循環により肝へ到達しこれが効率よく肝で摂取されるため、生理的には大循環への胆汁酸の漏出は少なく、通常末梢血中の血清総胆汁酸値は極めて低い。従って、本研究で

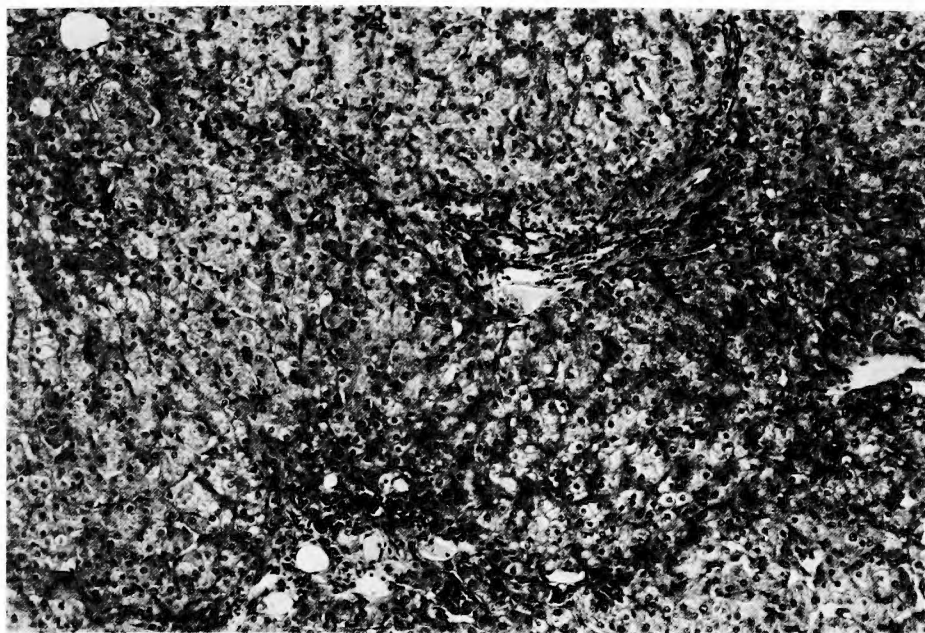


図12 DMNA 肝硬変犬70%肝切除 (Ⅳ群)，術後5日目死亡例の肝組織像
線維化の多い，正常構造の失われた肝臓で，小葉中心域の毛細胆管に
胆汁栓と類洞の拡大や細胞浸潤を認める (×100, H. E.)

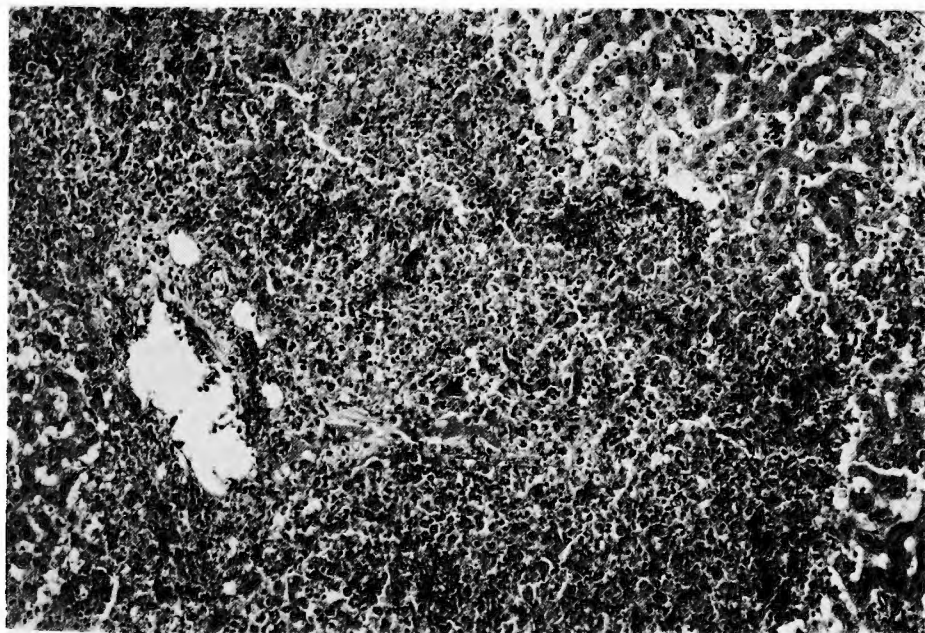


図13 正常犬 DMNA 門脈内注入 (Ⅴ群)，術後52時間目死亡例の肝組織像
小葉中心域にびまん性の肝細胞壊死を認める (×100, H. E.)

拡大肝切除後早期の胆汁酸の上昇機序を検討することは肝広範切除後の病態を明らかにし、ひいては肝切除限界の拡大をはかる上で極めて重要である。

Zieve ら¹⁷⁾はラットを用いた肝切除の研究で末梢血中総胆汁酸値は肝切除量が大きくなるほど増加し、そのピークも高く、腸肝循環を介して肝へ戻ってくる胆汁酸量と残存肝の胆汁酸処理能力との関係で、肝切除量が大きいかほど残存肝を通過して大循環に入る胆汁酸量が多くなることを指摘している。一方、正常肝とDMNA 硬変肝では、同じ肝切除量であっても術後の末梢血中総胆汁酸値の増加に差が認められる。即ち、Kawasaki ら³⁾は犬を用いた研究で、DMNA 硬変肝では正常肝に比し胆汁酸の carrier-mediated transport の障害による胆汁酸の肝での extraction が減少していると報告しており、肝切除量が同じであれば DMNA 硬変肝では正常肝よりも残存肝の胆汁酸処理能力は低下しているため、末梢血総胆汁酸値はより高値を示すものと考えられる。

従来から、肝切除が過大であると急激かつ広範な機能脱落及び門脈血流の変調それに伴う全身の循環障害を代償しえず、高度に肝機能が低下し容易に不可逆的な肝不全に陥り死亡することが指摘されてきた²⁾。本研究結果からも、過大な肝切除と考えられる正常肝84%切除及び DMNA 硬変肝70%切除では残存肝細胞機能総量の減少が著しく、術後1-3日目にすでに高度の肝機能障害を表して、術後1週間以内に肝不全のため高率に死亡した。

また、肝組織血流の面からみると正常肝70%切除あるいは DMNA 硬変肝40%切除などの肝切除では残存肝の有効肝血流量は比較的良好に維持されているのに対し、正常肝84%切除及び DMNA 硬変肝70%切除の拡大肝切除では術直後より残存肝の組織血流量は有意に低下しており、残存肝における微小循環の障害が指摘された。

以上より、拡大肝切除後早期には残存肝細胞機能総量の減少と肝微小循環の障害のために高度の肝細胞障害を来すが、組織学的には中心域における類洞の拡大、うっ血や肝細胞の脂肪浸潤像は高度であったが、肝細胞の壊死像は軽度であった。そこで、DMNA を門脈内に投与して massive な肝細胞壊死を発生させて急性肝不全モデルを作成し、拡大肝切除後の病態と比較検討した。末梢血中では両者共に術後早期に T. Bil, GPT, 総胆汁酸値が増加し HPT は減少しこれらの検査成績に差を認めず、また末梢血中で増加してい

る胆汁酸分画についてもその主体はいずれも TCA, TDCA, TCDCA の抱合型胆汁酸であったが、拡大肝切除のⅡ群、Ⅳ群では遊離型の CA, DCA も検出されたのに対して、急性肝不全のⅤ群では遊離型は検出されず両者間で明らかに異なっていた。

そこで肝静脈血中と門脈血中の胆汁酸を同時に測定したところ、急性肝不全群では肝静脈血中の抱合型の各種胆汁酸値はいずれも門脈血中よりも低値を示しかつ肝静脈血中에서도遊離型は検出されず、広範な肝細胞壊死による肝細胞での胆汁酸の取り込みの低下と合成の障害が考えられた。しかるに正常肝84%切除及び硬変肝70%切除の拡大切除群では逆に肝静脈血中の抱合型の各種胆汁酸値はそれぞれ門脈血中よりも高値を示し、また遊離型の胆汁酸も認められたが肝静脈血中では門脈血中よりも低値を示していた。これが組織学的に肝細胞壊死は軽度にとどまっていた拡大肝切除後の肝細胞障害と DMNA 門脈内注入により広範な肝壊死を発生した急性肝不全の病態との異なる点であった。

さらに、肝切除直後には末梢血中、即ち大循環中の胆汁酸値は肝切除量に応じて増加しているが、その増加の程度は正常肝84%切除及び硬変肝70%切除の拡大肝切除群で著しく、これら拡大肝切除後の大循環中の胆汁酸の増加を肝での胆汁酸の取り込みの低下¹⁾だけで説明することは困難である。即ち拡大肝切除後肝静脈血中の胆汁酸値の方が門脈血中よりも高かったことから、胆汁酸が肝臓より大循環中に多量に逆流しているものと考えられ、この病態は胆汁うっ滞の際の胆汁酸動態と類似しているものと考えられた。

肝広範切除後には一過性に黄疸が出現する¹¹⁾ことがあり、血液生化学的には、直接型ビリルビン優位の高ビリルビン血症と alkaline phosphatase の上昇を伴う閉塞性黄疸の型¹⁰⁾をとることが多く、肝のシンチスキャンでは肝内胆汁うっ滞に一致したパターン⁶⁾を示し、肝切除後は胆汁うっ滞の病像を示すことが指摘されている。本研究の結果から、肝で処理された胆汁酸が胆道系へ良好に排泄されるには正常肝では20%以上、硬変肝では60%以上の残存肝が必要であると考えられ、拡大肝切除により残存肝がそれ以下になると、胆汁酸の排泄が困難となって胆道系からあふれ大循環系に逆流するものと考えられる。

以上、肝切除限界を超えて拡大肝切除を行うと術後早期に残存肝の血流障害をおこし肝細胞障害が現れるだけではなく、肝内胆汁うっ滞により肝より大循環系への胆汁酸の逆流が起こって末梢血中の胆汁酸が上昇

するものと考えられた。即ち，拡大肝切除後早期の末梢血中胆汁酸の上昇機序は，胆道系への排泄障害による胆汁うっ滞と肝組織血流量の減少を伴った残存肝細胞機能総量の著しい減少によるものと考えられ，これらが拡大肝切除後の残存肝機能障害に関与し，予後を不良にしているものと考えられた。

結 語

雑種成犬を用い，従来承認されてきた肝切除限界を越えて，正常肝84%切除及び DMNA 硬変肝70%切除の拡大肝切除を行って，特に肝切除直後の胆汁酸代謝に注目して検討した。

1) 拡大肝切除後の1週生存率は正常犬84%肝切除で33.3%，肝硬変犬70%肝切除では20.0%と低率であり，死因はいずれも肝不全であったが，組織学的には肝細胞壊死の所見は軽度であって残存肝は中等度以上の胆汁うっ滞像を示していた。

2) 拡大肝切除後に残存肝の組織血流量は減少し，血清 T. Bil, GPT や HPT はいずれも 1-3日目に高度の異常を示した。しかるに，末梢血の総胆汁酸値をみると拡大肝切除後12時間目ですでにピークをとって異常高値を示した。

3) 拡大肝切除直後には末梢血中の総胆汁酸値は著明に増加し，かつ抱合型の TCA, TDCA, TCDCA がその増加の主体であった。また拡大肝切除後では肝静脈血中の胆汁酸値が門脈血中よりも高く，これらは通常の肝切除群や急性肝不全群とは異なっていた。

即ち，拡大肝切除後の予後は不良であり，特に術後早期の末梢血中胆汁酸値の上昇は高度の胆汁うっ滞と残存肝機能総量の著しい減少によるものと考えられた。

稿を終えるに臨み御指導，御校閲を賜った水本龍二教授に深甚なる謝意を表するとともに終始御指導頂いた野口孝助教授並びに御協力頂いた三重大学第1外科研究室の諸先生に感謝します。尚，本論文の要旨は第87回日本外科学会総会及び第23回日本肝臓学会総会で報告した。また，本研究の一部は昭和61年度科学研究費補助金（奨励研究 A，課題番号 61770970）によった。

文 献

- 1) 深野 茂：肝切除ラットの胆汁酸代謝に関する実験的研究。神戸大紀要40：91-103, 1979.
- 2) 本庄一夫，小坂 進：肝広範切除に関する諸問題。医学のあゆみ 39：429-439, 1961.
- 3) Kawasaki S, Umekita N, Beppu T, et al: Hepa-

- tic extraction of chenodeoxycholic acid in dogs chronically intoxicated with dimethylnitrosamine. *Biochem Pharmac* 33: 3219-3224 1984.
- 4) Kohno A, Mizumoto R, Honjo I: Changes after major resection of experimental cirrhotic liver. *Am J Surg* 134: 248-252, 1977.
- 5) Madden JW, Gertman PM, Peacock EE: Dimethylnitrosamine-induced hepatic cirrhosis: A new canine model of an ancient human disease. *Surgery* 68: 260-268, 1970.
- 6) McDermott WV: Metabolic changes and regeneration following hepatic resection. In *Surgery of the liver and portal circulation* edited by McDermott WV, Philadelphia, Lea & Febiger 1974 p. 141-151.
- 7) 水本龍二，野口 孝：術後肝不全の病態と対策。肝臓 28：136-138, 1988.
- 8) 野口 孝：閉塞性黄疸における肝予備力と肝切除限界の研究。日外会誌80：931-940, 1979.
- 9) Okuyama S, Kokubun N, Higashidate S, et al: A new analytical method of individual bile acids using high performance liquid chromatography and immobilized 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase in column form. *Chemistry Letters* 12: 1443-1446, 1979.
- 10) Pack GT, Mollander DW: Metabolism before and after hepatic lobectomy for cancer. *Arch Surg* 80: 685-692, 1960.
- 11) Royer M, Bogetti H: Major hepatic resection. *Rev Soc Argent Biol* 15: 297-304, 1939.
- 12) 三條健昌，比田井耕，深沢正樹：ジメチルニトロサミン門脈内投与による急性肝不全モデル犬の作成。肝臓 21：788, 1980.
- 13) Siegel B, Baldis LB, Dunn MR, et al: Humoral control of liver regeneration. *Surg Gyn Obst* 124: 1023-1031, 1967.
- 14) Smith AR, Rossi-Fanelli F, Freud H, et al: Sulfur-containing amino acids in experimental hepatic coma in the dog and monkey, *Surgery* 85: 677-683 1979.
- 15) 余喜多史郎，石川正志，古味信彦，他：水素ガスクリアランス法による肝組織血流量測定—電磁流量計と水素クリアランス法の比較。日消外会誌 19：1936-1941, 1986.
- 16) 吉峰修時：肝切除限界の拡大に関する実験的研究—特に過酸化脂質の変化と Coenzyme Q₁₀ の効果。肝臓 28：1474-1485, 1987.
- 17) Zieve L, Anderson WR, Lindblad S: Course of hepatic regeneration after 80% to 90% resection of normal rat liver. *J Lab Clin Med* 105: 331-336, 1985.