

# 肝硬変症における肝再生と体液性肝再生 因子受容体との関連

山口大学医学部外科学教室第2講座（指導：石上浩一教授）

森 岡 秀 之

〔原稿受付：昭和61年1月27日〕

## Regeneration of Cirrhotic Remnant Liver after Partial Hepatectomy, Especially the Relationship between Insulin Receptor and Hepatic Regeneration

HIDESHI MORIOKA

The 2nd Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine  
(Director: Prof. Dr. KOICHI ISHIGAMI)

The regenerative activity of the cirrhotic liver parenchyma after partial hepatectomy is markedly poor, and clinically liver surgery is quantitatively restricted because that hepatocellular carcinoma is usually accompanied with liver cirrhosis. It has been generally recognized that administration of glucagon and insulin stimulates the regeneration of residual liver. These hepatotrophic factors, however, seem to be not so effective for cirrhotic liver. The author supposed the receptors of these factors may be damaged in cirrhotic liver hepatocytes and studied the uptake of transportally injected  $^{125}\text{I}$ -labelled insulin into normal or cirrhotic rat liver hepatocytes. Further, the author examined the effectiveness of glucagon, insulin and prostaglandin  $\text{E}_1$ , as hepatotrophic factors, to the rat liver regeneration after 70% partial hepatectomy. The results were as follows:

- 1) DNA synthesis rates in residual livers at 24 hours after hepatectomy were accelerated by administration of glucagon and insulin. However, glucagon and insulin seemed to be not so effective for cirrhotic livers.
- 2) Prostaglandin  $\text{E}_1$  stimulated hepatic regeneration in normal livers only, but in cirrhotic livers, DNA synthesis rates were markedly accelerated using with glucagon and insulin.
- 3) There was a tendency to inhibit the increase of serum GOT, GPT and ALP by administration of glucagon and insulin, or glucagon, insulin and prostaglandin  $\text{E}_1$ .

Key words: Experimental liver cirrhosis, Hepatic regeneration, Glucagon and Insulin, Prostaglandin  $\text{E}_1$ , Insulin receptor.

索引語：実験肝硬変症，肝再生，グルカゴン-インスリン，プロスタグランディン  $\text{E}_1$ ，インスリン受容体。

Present address: The Second Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine, Ube, Yamaguchi, 755, Japan.

- 4) In normal livers, uptake of  $^{125}\text{I}$ -insulin into hepatocytes was more active than in cirrhotic livers.

The present study indicates that administration of prostaglandin  $\text{E}_1$  with glucagon and insulin is effective to cirrhotic liver regeneration and that insulin receptors may be sustained some damage in cirrhotic liver hepatocytes.

## はじめに

肝臓の膨大な機能的予備力および再生能は古くから注目され、研究されてきた課題である。正常の肝臓では、70～80%の切除が可能であり、切除直後の代謝負荷を残存肝の機能的予備力で克服するとともに、一定期間後には量的、質的に切除前状態に復することが確認されている<sup>11,18,34)</sup>。この肝再生能に関する研究は数多く、1950年の Christensen ら<sup>9)</sup> による肝再生実験を初めとして、肝再生に関与する体液性因子の存在が注目されるようになり、やがて肝再生促進因子としてのインスリン、グルカゴンの有効性に関する報告が相次いで見られるようになってきた<sup>4,5,6,35,37)</sup>。

肝臓外科の臨床における最大の問題点は、肝細胞癌が高率に肝硬変症を伴っており、機能的予備力、肝再生能ともに低下が見られるために、術後合併症が発生しやすく、切除量の制限を余儀なくされるということである。ここでグルカゴン-インスリン補充投与が硬変肝切除後の残存肝再生に対し、いかなる程度の有効性を持つかが重要となってくる。正常肝と比較すると、硬変肝では残存肝の再生能が低下しており<sup>31,33)</sup>、また術後のグルカゴン、インスリン投与も正常肝におけるほどの有効性は認められないようである<sup>29)</sup>。そこで著者は、この硬変肝再生における体液性因子に対する反応性の低下を、肝細胞表面の受容体の障害との関連において解明しようと考えた。インスリン受容体の分布に関する研究は最近、急速に進んできており<sup>23)</sup>、Bergeron ら<sup>3)</sup> は肝細胞と肝内皮細胞表面に  $^{125}\text{I}$ -インスリンの受容体をオートラジオグラフィー (以下 ARG と記す) で証明している。著者は、ラット実験モデルにおいて約70%肝切除を施行し、残存肝再生に対するグルカゴン-インスリンの有効性を確認するとともに、 $^{125}\text{I}$ -インスリンを膵内分泌抑制ラット実験モデルに門脈内投与し、正常肝、硬変肝におけるインスリン受容体の局在、分布を ARG により観察した。更に、最近、肝再生に影響を及ぼすとの報告が見られる<sup>21,22,24)</sup> プロスタグランディン (以下 PG と記す)  $\text{E}_1$  についても、

その残存肝の再生能に対する促進効果の有無を検討した。

## 実験方法

### 1. 実験動物及びその管理

体重 200 g 前後の雄性ドンリュウラットを用い、飼料はオリエンタル製固型飼料 (MF) とし、水とともに自由に摂取させた。正常肝ラット、硬変肝ラットとも実験に供する前に2カ月間飼育した。

### 2. 硬変肝の作成

四塩化炭素 ( $\text{CCl}_4$ 、和光) 吸入法<sup>7,25)</sup>を用い、約40×30×30 cm のプラスチック製ボックス内に2、3匹のラットを入れ、約 500 ml/分の四塩化炭素ガスを5～8分間注入した。この操作を週2回、8週間にわたって繰り返した。硬変肝作成中は、四塩化炭素に対する感受性を高めるため飲用水中にペントバルビタール (Nembutal, Abbott) を 1 ml/100 ml の割合で添加した<sup>8,25)</sup>。

### 3. 肝切除操作

まず予備実験として、Higgins-Anderson<sup>18)</sup> の方法に従い正常肝ラット、硬変肝ラットそれぞれに肝切除を施行すると同時に残存肝を摘出し、重量を測定、切除率を算定し、正常肝ラット、硬変肝ラット両者の肝切除率に有意差のないことを確認した。

本実験モデルは以下のように作成した。まずペントバルビタール麻酔下に尾静脈を露出し、ポリエチレンチューブ (82L13, 八光) を尾静脈から下大静脈まで挿入、固定した。チューブの反対側は、注入ポンプ (Perista Pump, SJ-1211, ATTO) に接続し、図1に示す輸液を行った。更に実験目的に応じて、輸液中に  $\text{PGE}_1$  (Prostandin, 小野) 1  $\mu\text{g}$ /100 g 体重/day, グルカゴン (glucagon, Novo) 0.1 mg/100 g 体重/day, インスリン (イスジリン-20, シミズ) 0.2 U/100 g 体重/day を添加投与した。なお、輸液注入速度は 1 ml/100 g 体重/hr. とした (図1)。

次いで、Higgins-Anderson<sup>18)</sup> の方法に従い70%肝

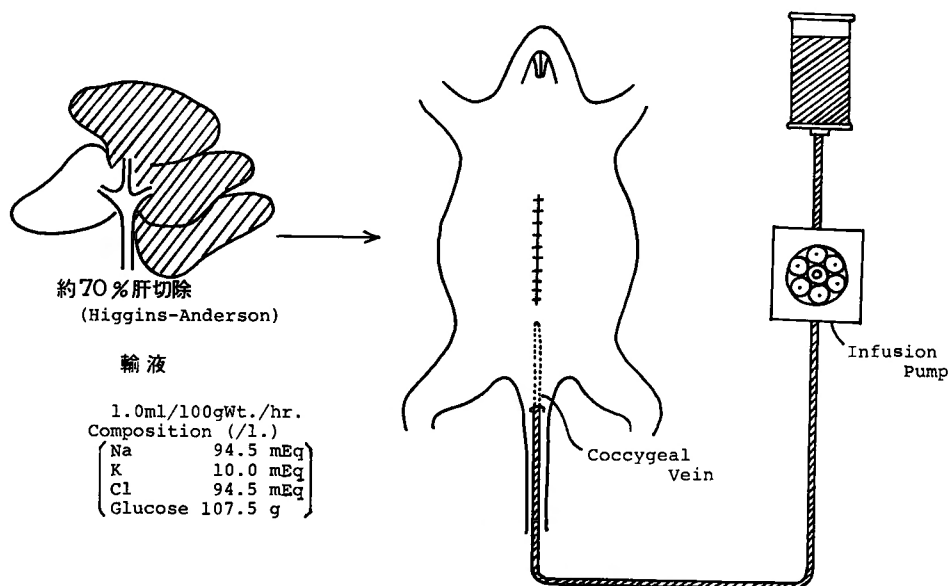


図1 実験モデル

切除を施行したラットを正常肝群、硬変肝群それぞれ4群に分け、以下の処置を施した。

- I. 対照群：輸液単独投与。
- II.  $\text{PGE}_1$  群：輸液+ $\text{PGE}_1$  投与。
- III. GI 群：輸液+グルカゴン+インスリン投与。
- IV. GI+ $\text{PGE}_1$  群：輸液+グルカゴン+インスリン+ $\text{PGE}_1$  投与。

各群とも術後24時間で犠牲死させ、採血及び標本採取を行った。なお、肝切除操作はすべて午後4時から6時の間に行った。

## 検 索 項 目

### 1. DNA 合成細胞

70%肝切除22時間後、 $^3\text{H}$ -thymidine (Specific activity 2Ci/mmol, 1 mCi/ml) を体重 1 g あたり 0.5  $\mu\text{Ci}$ 、大腿静脈より投与した。投与2時間後に屠殺し、再生肝を摘出し、ブアン固定、パラフィン包埋ののち厚さ 5  $\mu$  の組織切片標本を作成した。ARG は標本の脱パラ後、富士フィルム社製 ET2F 感光乳剤を使用し、dipping を行い、14日目に現像、定着後 Hematoxyline-Eosin 染色（以下 HE 染色と記す）を行った。DNA 標識率については、400倍拡大下にて肝小葉辺縁、中心部それぞれ無作為に10視野ずつ観察し、5個以上の感光銀粒子を持つ細胞を DNA 標識細胞として算出した。

### 2. 再生率の測定

肝再生率は Fishback<sup>11)</sup> による計算式を用いた。すなわち、予備実験にて求めた切除率より逆算して、切除時推定全肝重量を求め、再生肝重量を除した値(%)を用いた。

$$\text{再生率}(\%) = \frac{\text{再生肝重量} \times 100}{\text{切除時推定全肝重量}}$$

$$\text{推定全肝重量} = \text{切除肝重量} \times \frac{100}{\text{切除率}(\%)}$$

### 3. 血液生化学検査

GOT, GPT, LDH は紫外部測定法により、ALP は p-ニトロフェニールリン酸基質法により、総蛋白はビウレット法により測定した。

### 4. 肝細胞におけるインスリン受容体の観察

まず、正常肝ラットおよび硬変肝ラットにソマトスタチン (B 165, UCB) 20  $\mu\text{g}/100 \text{ g}$  体重/hr. を持続静注し、投与開始30分後および60分後の門脈血中インスリン濃度を二抗体法による Radioimmunoassay にて測定、内因性のインスリン分泌が十分に抑制されていることを確認した<sup>20,29)</sup> (図2)。次いで、同様の操作を行ったラットに対し、ソマトスタチン投与開始60分後、 $^{125}\text{I}$ -インスリン (porcine, receptor grade,  $\geq 2000 \text{ Ci/m mol}$ ) を体重 100 g あたり 1  $\mu\text{Ci}$  門脈内投与し、

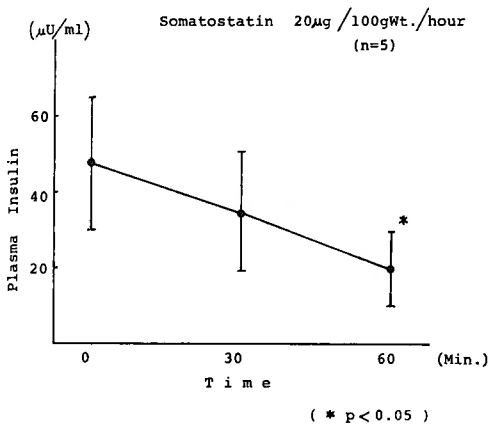


図2 ソマトスタチンによるインスリン分泌の抑制

一定時間後 (5, 10, 20分) に生理食塩水を経門脈的に灌流させ、受容体非結合の標識インスリンを可及的に除去し、ただちに肝組織を採取した. 2.5%グルタルアルデヒド固定ののち脱水, パラフィン包埋を行い, 厚さ 5μ の組織切片標本を作成した. DNA 合成細胞の検索と同様に ARG を行ったが, 比放射活性が微小

であるため dipping 後の現象, 定着は 4 週間後とした. その後, HE 染色を施し, 光学顕微鏡にて観察, 検討を行った.

成績

1. 肝切除率

正常肝ラット, 硬変肝ラットそれぞれ20匹を対象として肝切除率を求めた. その結果, 正常肝ラットで  $68.6 \pm 2.8\%$ , 硬変肝ラットで  $69.8 \pm 2.7\%$  であり, 両者間に有意差なく, 肝重量再生率は肝切除率を一律に 70% として算定した.

2. DNA 合成細胞

図3は, 肝切除24時間後の  $^3\text{H}$ -thymidine 取込み細胞, すなわち DNA 合成細胞の比率を各群間で比較したものである. 正常肝群では, 対照群で  $9.1 \pm 1.1\%$  であったのに対し,  $\text{PGE}_1$  単独投与群でも  $15.9 \pm 2.9\%$  と有意 ( $p < 0.01$ ) に高く, 更にグルカゴン-インスリン群で  $24.5 \pm 6.9\%$ , グルカゴン-インスリン+ $\text{PGE}_1$  群で  $30.0 \pm 9.4\%$  であり, 上昇が認められた. 一方, 硬変肝群では, 対照群で  $6.0 \pm 2.3\%$  であったのに対し,

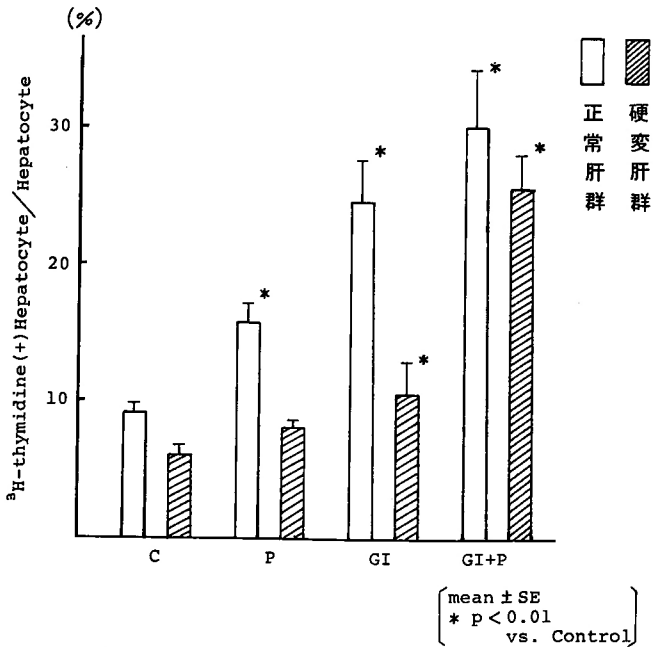


図3 DNA 合成細胞比率 (70%肝切除 24時間)  
C : 対照群  
P :  $\text{PGE}_1$  群  
GI : グルカゴン-インスリン群  
GI+P : グルカゴン-インスリン+ $\text{PGE}_1$  群

PGE<sub>1</sub> 群では  $7.9 \pm 1.4\%$ , グルカゴン-インスリン群では  $10.5 \pm 5.2\%$  であり, 対照群とさほど差が見られないにもかかわらず, グルカゴン-インスリン+PGE<sub>1</sub>

群では  $25.5 \pm 5.6\%$  と正常肝群に匹敵するほどの活発な合成能が認められた ( $P < 0.01$ ). すなわち, PGE<sub>1</sub> は正常肝においては単独でもその再生を促進する作用が

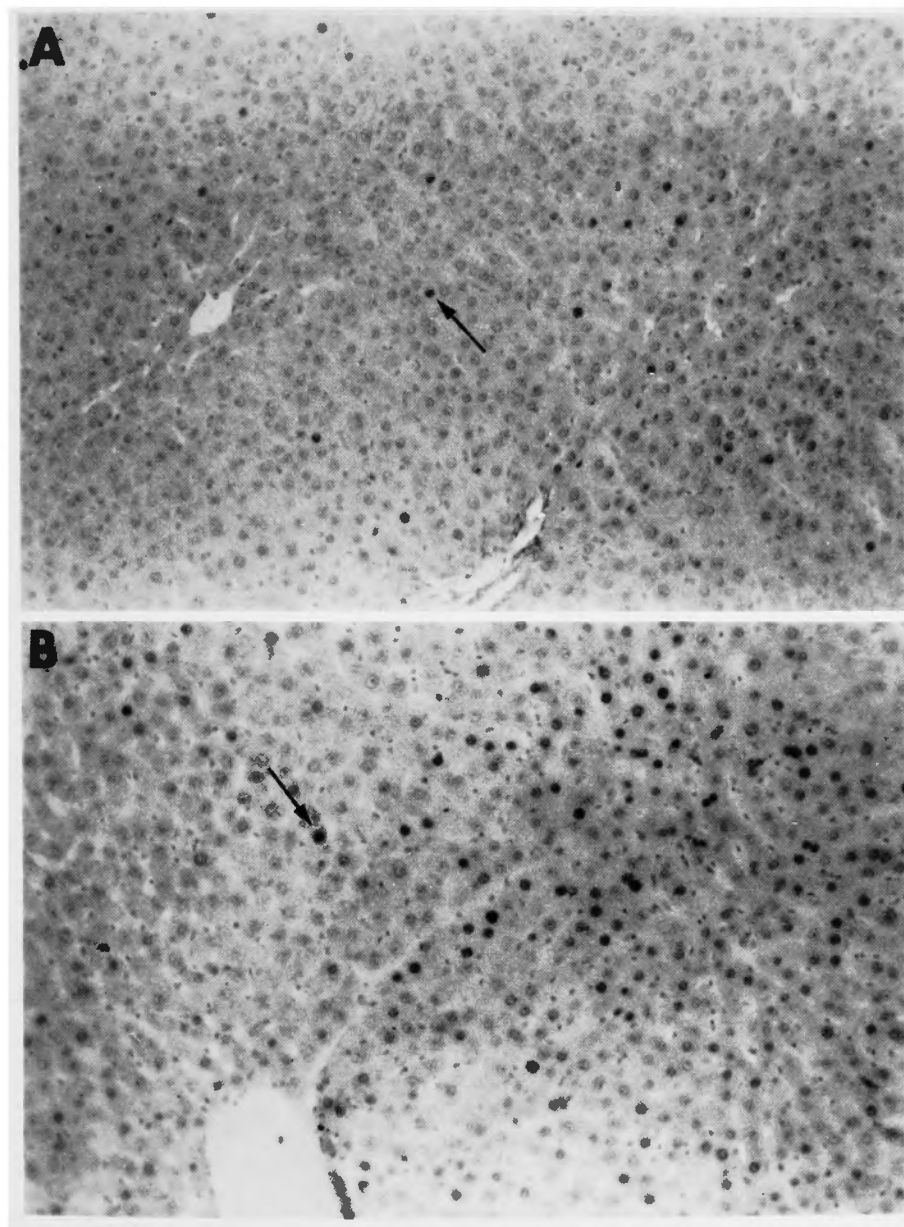


図4 肝切除後24時間における残存肝オートラジオグラム  
(<sup>3</sup>H-Thymidine, 正常肝群,  $\times 100$ )

A. 対照

B. グルカゴン-インスリン+PGE<sub>1</sub> 投与

Bにおいて DNA 合成細胞 (→) の増加が著しい.

DNA 合成細胞は肝小葉辺縁に集中する傾向を認める.

あることが示されたが、硬変肝においてはグルカゴン-インスリンとの併用によりその作用が特に増強されていた。図4, 5に正常肝, 硬変肝における ARG を

示す。DNA 合成細胞の小葉内分布を見ると、正常肝群では小葉辺縁部に集中する傾向が見られたが、硬変肝群ではほぼ全体に散在し、局在する傾向は認められ

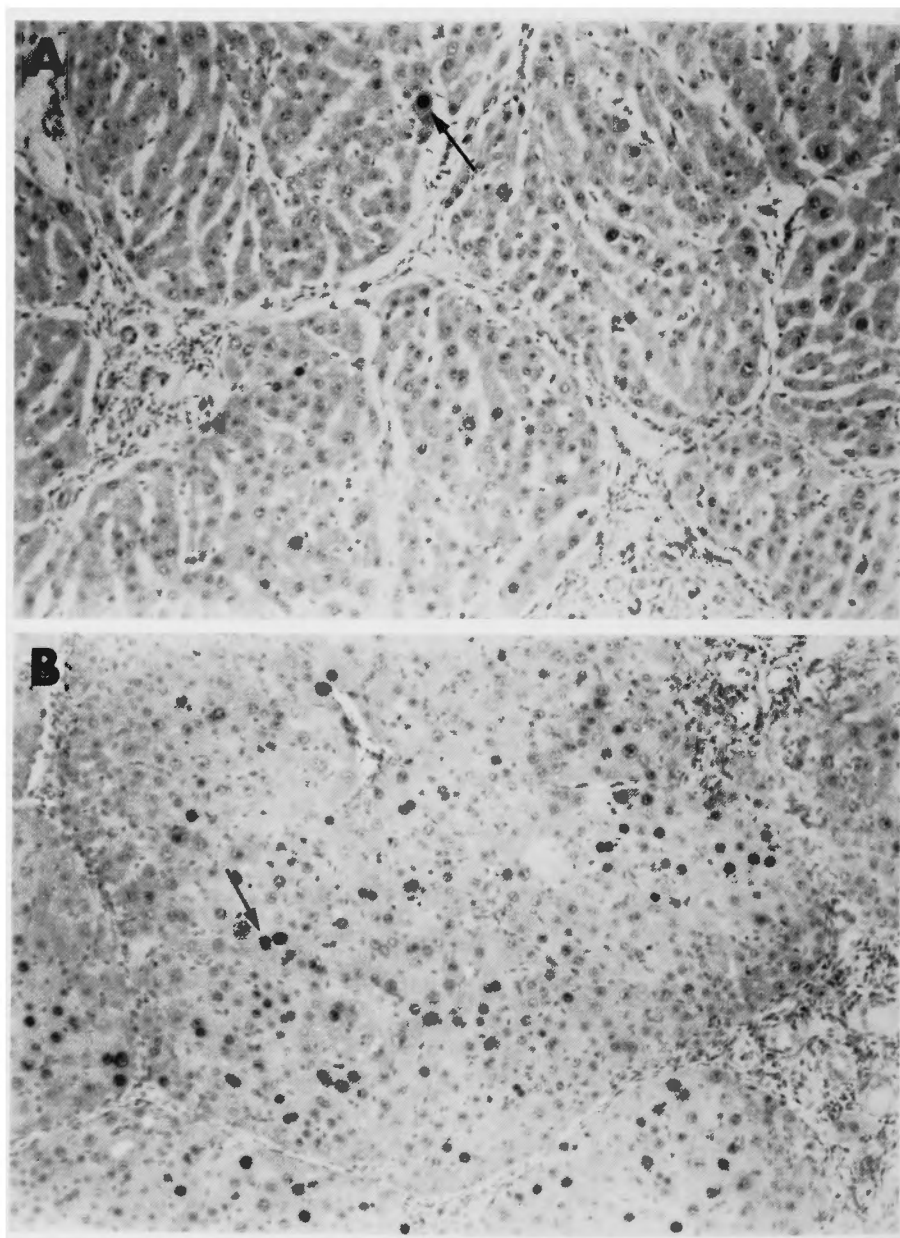


図5 肝切後24時間における残存肝オートラジオグラム  
( $^3\text{H}$ -Thymidine, 硬変肝群,  $\times 100$ )

A. 対照

B. グルカゴン-インスリン+ $\text{PGE}_1$  投与

Bにおいて DNA 合成細胞 ( $\rightarrow$ ) の著増を認める。

DNA 合成細胞は偽小葉全体に散在する。

表1 肝重量再生率 (肝切後24時間, %)

|                           | 正常肝群      | 硬変肝群      |
|---------------------------|-----------|-----------|
| I. 対照群                    | 39.8±1.03 | 36.3±1.50 |
| II. PGE <sub>1</sub> 群    | 40.8±1.52 | 36.8±1.85 |
| III. GI 群                 | 41.8±1.25 | 38.6±0.94 |
| IV. GI+PGE <sub>1</sub> 群 | 43.8±1.70 | 39.0±0.40 |
| Mean±SE n=4~5             |           | (*p<0.05) |

なかった。

### 3. 肝重量再生率

肝切除24時間後における肝重量再生率を表1に示す。PGE<sub>1</sub> 群では、正常群で40.8±1.52%, 硬変肝群で36.8±1.85%, グルカゴン-インスリン+PGE<sub>1</sub> 群では、正常肝群で43.8±1.70%, 硬変肝群で39.0±0.40%であり、正常肝群が硬変肝群より有意 (p<0.05) に高く、また、対照群、グルカゴン-インスリン群においても同様の傾向が認められたが、術後24時間の時点では著差を示すまでには至らなかった。

### 4. 血液生化学検査

GOT は、正常肝群でグルカゴン-インスリン群およびグルカゴン-インスリン+PGE<sub>1</sub> 群が、硬変肝群でグルカゴン-インスリン群が、それぞれ対照群より有

意 (p<0.01, p<0.05) に低値を示し、GPT は、正常肝群でグルカゴン-インスリン群のみが対照群より有意 (p<0.05) に低値を示した。また、LDH は、硬変肝群でグルカゴン-インスリン+PGE<sub>1</sub> 群のみが対照群より有意 (p<0.05) に低値を示し、ALP は、正常肝群でグルカゴン-インスリン群とグルカゴン-インスリン+PGE<sub>1</sub> 群が対照群より有意 (p<0.01) に低値を示した。総蛋白では各群間に有意差を認めなかった(表2, 3)。

### 5. 肝細胞におけるインスリン受容体の観察

図6に正常肝および硬変肝における<sup>125</sup>I-インスリン経門脈投与10分後のARGを示す。感光銀粒子は肝細胞膜から細胞質内に集積し、類洞内には殆ど認められなかった。正常肝では大部分の肝細胞に活発な取り込みが見られたのに対し、硬変肝では各細胞間で取り込

表2 血液生化学検査 (肝切後24時間, 正常肝群)

|                       | GOT (U)       | GPT (U)      | LDH (U)     | ALP (U)      | TP (g/dl) |
|-----------------------|---------------|--------------|-------------|--------------|-----------|
| 術 前                   | 68.8± 19.7    | 23.3± 14.2   | 270.8±123.4 | 55.5± 19.7   | 6.2±0.5   |
| 対 照 群                 | 544.0±123.0   | 283.6±107.8  | 477.6±301.4 | 174.4± 80.6  | 5.0±0.5   |
| PGE <sub>1</sub> 群    | 410.4±104.6   | 238.8± 67.7  | 409.6±146.6 | 126.1± 25.4  | 4.7±0.5   |
| GI 群                  | 288.0± 62.9** | 170.0± 89.0* | 378.2±159.8 | 62.0± 24.4** | 4.6±0.4   |
| GI+PGE <sub>1</sub> 群 | 301.8± 88.5** | 207.6± 60.4  | 330.4±105.1 | 74.1± 10.4** | 5.0±0.7   |

(Value of x±S.E. n=5)

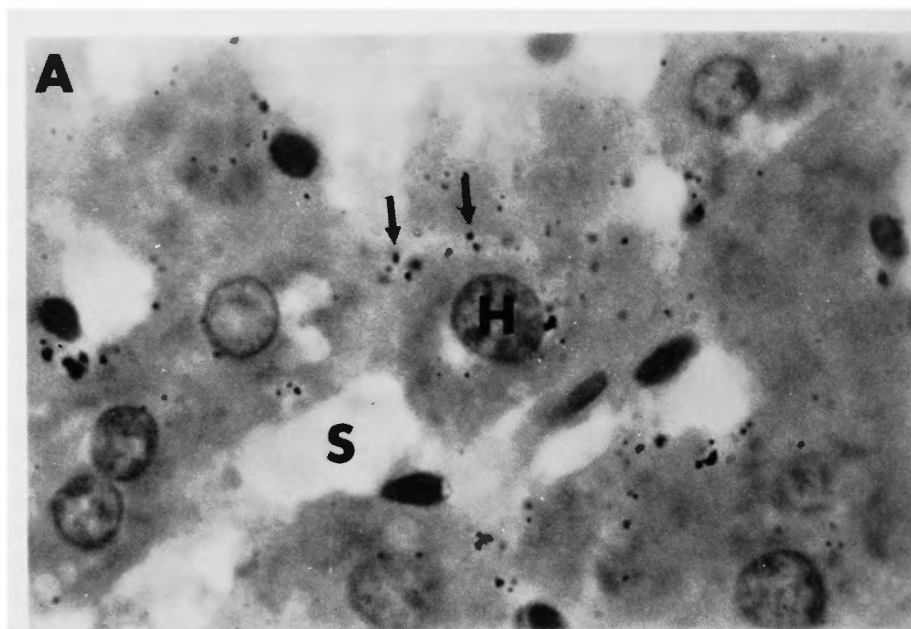
(\*p<0.05, \*\*p<0.01)

表3 血液生化学検査 (肝切後24時間, 硬変肝群)

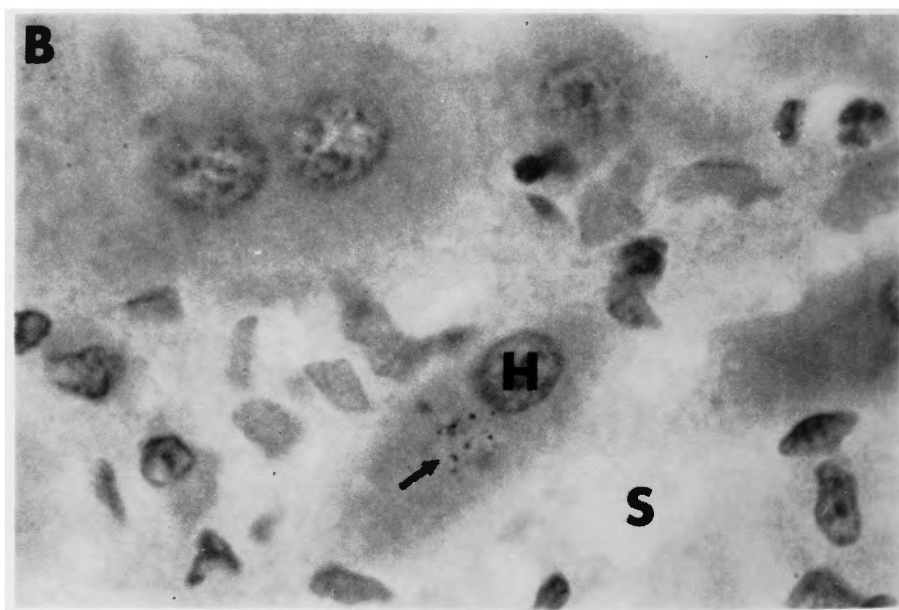
|                       | GOT (U)      | GPT (U)     | LDH (U)      | ALP (U)     | TP (g/dl) |
|-----------------------|--------------|-------------|--------------|-------------|-----------|
| 術 前                   | 161.8± 29.8  | 57.0± 25.0  | 505.0± 87.9  | 71.8± 22.9  | 5.7±0.5   |
| 対 照 群                 | 532.5±247.0  | 219.0±120.3 | 603.8±313.7  | 128.4± 52.2 | 4.9±0.2   |
| PGE <sub>1</sub> 群    | 439.0±139.1  | 210.8± 82.0 | 394.5±202.0  | 101.7± 22.4 | 4.6±0.8   |
| GI 群                  | 316.3±103.3* | 159.5± 49.6 | 395.8±102.7  | 86.2± 53.4  | 4.4±0.6   |
| GI+PGE <sub>1</sub> 群 | 367.8± 96.9  | 154.3± 31.2 | 308.3±134.9* | 95.2± 19.6  | 4.8±0.4   |

(Value of x±S.E. n=4~5)

(\*p<0.05)



A. 正常肝



B. 硬変肝

図6 A. ラット正常肝における  $^{125}\text{I}$ -Insulin オートラジオグラム  
( $^{125}\text{I}$ -Insulin 経門脈投与後10分,  $\times 1000$ )

B. 硬変肝細胞では  $^{125}\text{I}$ -Insulin の取り込みが不良である (→).

H: Hepatocyte S: Sinusoidal lumen

みの程度の差が大きく, また感光銀粒子の密度も疎であった.  $^{125}\text{I}$ -インスリン投与5分後, 20分後の ARG

においても同様の所見が得られたが, 時間による感光銀粒子の分布および局在の変化は明らかではなかった.

## 考 按

1894年 Meister<sup>26)</sup> が肝部分切除後の肝再生について報告して以来、肝再生を主題として臨床、基礎の両面から膨大な研究がなされてきた。さらに1950年 Christensen ら<sup>9)</sup> の実験をはじめとして肝再生促進因子の存在が注目されるようになり、その本態を究明すべく、様々の実験方法が試みられ<sup>5, 6, 30, 35, 36, 38)</sup>、肝再生における門脈性因子、とくに腓ホルモンの意義が次第に明らかにされるに至った。現在グルカゴン、インスリンは一般的に肝再生促進因子として理解されている。しかしながら、グルカゴン、インスリンによる肝再生の促進機序が完全に解明されたわけではなく、また、その有効性を否定する研究報告も見られないわけではない<sup>13)</sup>。DNA 合成の亢進なしに細胞分裂は起こりうるとされているが<sup>17)</sup>、再生率の評価には、最近では主に DNA 合成能が一般的に用いられている。著者は正常肝ラットおよび四塩化炭素吸入法にて作成した硬変肝ラットに70%肝切除を施したのち腓ホルモンを投与し、肝切除24時間後の肝細胞 DNA 合成能を検討した。その結果、前述のように、腓ホルモン投与群において DNA 合成の亢進が認められ、腓ホルモンの再生促進因子としての有効性を確認しえた。また、硬変肝においては DNA 合成能が概ね低下しており、腓ホルモンに対する反応性の低下についても確認することができた。一方、PG と肝再生との関連については、最近種々の検討がなされており、MacManus ら<sup>24)</sup> は、肝部分切除ラット再生肝において肝切除後早期の PGE<sub>2</sub>、PGF<sub>2α</sub> の生合成が亢進しており、さらに PG 合成阻害剤であるインドメサシン投与により肝細胞の DNA 合成が阻害されたと報告している。神崎ら<sup>21)</sup> は、インドメサシンをラットに投与後、肝切除を行い、チミジンキナーゼの活性低下、DNA 合成率の低下を認めたこと、肝臓の体外灌流中に PGE<sub>1</sub> あるいは PGF<sub>2α</sub> を添加すると、細胞内の cyclic-GMP 濃度が上昇し、cyclic-GMP を添加すると、オルニチンデカルボキシラーゼおよびチロジニアミントランスフェラーゼが誘導されたことなどから、肝再生の引き金物質として PG を想定した。また加登ら<sup>22)</sup> は、D-galactosamin-HCl を用いた急性肝障害ラットに対し PGE<sub>1</sub> とグルカゴン、インスリンを併用することにより、肝 DNA 合成が相乗的に促進されたと述べている。今回の著者の実験では、正常肝に対しては、グルカゴン-インスリンと比較すれば弱くはあったが、PGE<sub>1</sub> 単独投与で

も肝再生を促進する効果が現れ、更にグルカゴン、インスリンと併用することにより、グルカゴン、インスリン投与に上回る効果を得ることができた。一方硬変肝に対しては、PGE<sub>1</sub> 単独投与の有効性は認められなかったものの、グルカゴン、インスリンとの併用により著しい再生促進効果を認めた。この成績からも、臨床応用としての肝臓外科における PGE<sub>1</sub> の有用性が期待しうるものと考えられ興味深い。PGE<sub>1</sub> を肝再生促進因子としてとらえる場合、肝血流量との関連が重要であると思われる。Geumei ら<sup>14)</sup> は、犬を用いた実験において PGE<sub>1</sub> 静注による肝動脈、門脈血流の増加と肝動脈圧、門脈圧の低下を報告しており、PGE<sub>1</sub> による肝再生促進効果は門脈血流増加を介しての間接的なものと推測することもできる。現在、臨床的な PGE<sub>1</sub> の応用は、四肢動脈閉塞性疾患の治療、あるいは血管造影などに限られている。PGE<sub>1</sub> は生体内において非常に速やかに失活するため、門脈から肝臓へ十分量を供給するためには多量の経静脈投与を必要とする。今回、著者が用いた PGE<sub>1</sub> 投与量はむしろ大量投与に近い。逆に肝再生促進効果を得るためには、それだけの投与量を必要とするともいえる。PGE<sub>1</sub> の化学的安定性、投与経路、投与量など臨床応用に残された問題点は多いが、今後の検討を要する重要な課題であると思われる。

さて、正常肝再生に対するグルカゴン、インスリンの有効性に関する研究は数多く報告されているが<sup>5, 6, 12, 35~37)</sup>、硬変肝再生とグルカゴン、インスリンに関する報告は比較的少ない<sup>27, 29)</sup>。長尾<sup>29)</sup> は、DAB 肝硬変においては、エネルギー代謝、核酸代謝からみて、肝切除後の代謝負荷に対して適応できず、円滑な残存肝再生が営み得ない状態であると述べ、硬変肝の切除後にグルカゴン、インスリンを投与し、その有効性を示し、障害肝に残存する潜在予備力がグルカゴン、インスリンにより賦活されることを示唆している。しかしながら、グルカゴン、インスリン補充投与の効果は正常肝と比較して硬変肝では極めて低く、このことは著者の実験でも示された。この原因を解明するために、著者は肝細胞レベルでの門脈性因子に対する受容体の変化を想定し、特にインスリン受容体を取りあげた。細胞レベルでのインスリンの作用は、インスリン分子が細胞膜表面に存在する受容体と結合したのち細胞内に取り込まれ、更に細胞内小器官と結合し、核、ミトコンドリア、ゴルジ装置などに直接作用すると考えられている<sup>15, 16, 28)</sup>。このインスリン移送過程におい

て受容体との結合が障害されると、細胞内作用としての情報伝達も当然妨げられ、肝再生促進作用も発揮することができなくなると考えられる。インスリンに対する細胞受容体の分布、局在を可視的に示す研究は、比較的多く見られ<sup>1~3,32)</sup>、Bergeron ら<sup>3)</sup>の報告によると、肝細胞1個あたりのインスリン受容体は細胞表面に $10^5$ 個と計算され、 $^{125}\text{I}$ -インスリン投与後の時間経過とともに10分でゴルジ装置およびリソゾームに、20分で空胞に集積したと述べている。また、Goldfine ら<sup>10)</sup>は、肝細胞表面で受容体と結合したインスリンの細胞内取り込みについて考察し、受容体結合インスリンのたどる経路には2つのルートがあることを示した。すなわち、細胞表面の受容体と結合したインスリンは、一方では受容体とともに細胞内へ取り込まれ、リソゾームに達したのちインスリンは破壊されて胆道へ排出され、他方ではインスリンのみが細胞内へ入り、細胞内の受容体と結合するとしている。インスリンの細胞内への取り込みが障害されているとすれば、このようなインスリンのたどる経路の中での、どの段階における障害であるのかが問題となる。著者の実験では、正常肝細胞に対し、硬変肝細胞での $^{125}\text{I}$ -インスリン取り込みの不良を認めたが、一部の硬変肝細胞では細胞質内に多量の集積像を見るものもあり、必ずしも投与 $^{125}\text{I}$ -インスリンと細胞表面の受容体との反応が起りにくい状態にあるとは考えにくい。従って、硬変肝細胞表面におけるインスリン受容体になんらかの変化が生じていると考えるのが妥当であろう。光顕レベルでは、取り込まれた $^{125}\text{I}$ -インスリンが肝細胞内のどの器官に存在しているのかを判断することは不可能であり、硬変肝細胞では取り込まれたインスリンの移送が遅延していることも否定できない。しかし、少なくとも硬変肝細胞表面における $^{125}\text{I}$ -インスリンと受容体との結合障害があることは間違いないと思われる。インスリン受容体に変化が生じているとしても、量的な変化であるのか質的な変化であるのかは不明である。いずれにしても、硬変肝再生に対するグルカゴン-インスリン投与の効果が不良であることの要因として、このような受容体結合のレベルにおける障害が示唆されるところである。今回の著者の実験では、特にインスリン受容体のみをとりあげて検討したが、同時に硬変肝細胞のグルカゴン受容体になんらかの変化が生じていることは十分に推測しうる。インスリンが細胞内小器官に直接作用して細胞増殖を調節すると理解されている<sup>15)</sup>のに対し、グルカゴンは adenyl cyclase-

cyclic AMP 系を介して細胞内の cyclic AMP 濃度を上昇させることにより、そのホルモン作用を発揮するとされる<sup>10,19)</sup>。作用機序の異ったこれら2つの腺ホルモンが肝再生に対しては協調的に働くと考えられているわけであるが<sup>6,29)</sup>、いずれのホルモンに対しても肝細胞に特異的な受容体が存在し、結合してはじめてその作用が発現するのであるから、インスリン受容体についてのみ云々することは硬変肝の再生不良を理解するには不十分といわざるをえない。インスリン、グルカゴンのみならず、受容体の本態について、まだまだ数多くの研究課題が今後に残されているが、肝再生促進効果を期待した“グルカゴン-インスリン療法”を確立するうえでも興味深い問題点であるといえよう。

## む す び

硬変肝における肝切除後の残存肝再生に対する体液性因子の影響、とくにグルカゴン-インスリン、 $\text{PGE}_1$ の有効性に関する実験的研究を行うとともに、肝細胞におけるインスリン受容体の分布、局在を ARG により正常肝、硬変肝において比較、検討し、以下の結論を得た。

1. 70%肝切除後24時間における残存肝の DNA 合成細胞比率は、硬変肝群が正常肝群より有意 ( $p < 0.01$ ) に低値を示した。特に  $\text{PGE}_1$  単独投与群、グルカゴン-インスリン投与群にこの傾向が強く見られた。
2. 正常肝群、硬変肝群ともにグルカゴン-インスリン投与により、残存肝再生が促進された。 $\text{PGE}_1$  の肝再生促進効果については、グルカゴン-インスリンとの併用において著明に現れたが、単独投与では弱く、特に硬変肝群では対照群との間に有意差を認めることができなかった。
3. 肝切除後24時間における肝重量再生率では、 $\text{PGE}_1$  単独投与群およびグルカゴン-インスリン、 $\text{PGE}_1$  併用群において、硬変肝群は正常肝群に対し有意 ( $p < 0.05$ ) に低値を示した。
4. 血液生化学検査では、正常肝群においてグルカゴン-インスリン投与群およびグルカゴン-インスリン、 $\text{PGE}_1$  併用群で GOT, GPT, ALP の上昇が抑制される傾向にあったが、硬変肝群においては特に差が認められなかった。
5. 正常肝、硬変肝の両者において $^{125}\text{I}$ -インスリンによる ARG を行ったところ、硬変肝では $^{125}\text{I}$ -インスリンの細胞内への取り込みが不良であり、肝細胞表面のインスリン受容体になんらかの変化が生じていること

が示唆された。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った石上浩一教授に深甚なる謝意を表するとともに、御協力をいただいた第2外科学教室の諸先生方に御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Bergeron JJM, Levin G, Sikstrom R, et al: Polypeptide hormone binding sites in vivo: Initial localization of  $^{125}\text{I}$ -labelled insulin to hepatocyte plasmalemma as visualized by electron microscope radioautography. *Proc Nat Acad Sci USA* **74**: 5051-5055, 1977.
- 2) Bergeron JJM, Rachubinski R, Scarle N, et al: Polypeptide hormone receptors in vivo: Demonstration of insulin binding to adrenal gland and gastrointestinal epithelium by quantitative radioautography. *J Histochem Cytochem* **28**: 824-835, 1980.
- 3) Bergeron JJM, Sikstrom R, Hand AR, et al: Binding and uptake of  $^{125}\text{I}$ -insulin into rat liver hepatocytes and endothelium. An in vitro radioautographic study. *J Cell Biol* **80**: 427-443, 1979.
- 4) Bucher NLR, Scott JF, Aub JC: Regeneration of the liver in parabiotic rats. *Cancer Res* **11**: 457-465, 1951.
- 5) Bucher NLR, Swaffield MN: Regeneration of liver in rats in the absence of portal splanchnic organs and a portal blood supply. *Cancer Res*, **33**: 3189-3194, 1973.
- 6) Bucher NLR, Swaffield MN: Evaluation of a humoral factor in liver regeneration in rats by synergistic action on insulin and glucagon. *Proc Nat Acad Sci* **72**: 1157-1160, 1975.
- 7) Campbell JAH: Experimental non dietary cirrhosis in rats. *Br J Exp Path* **42**: 290-295, 1961.
- 8) Chatamra K, Proctor E: Phenobarbitone-induced enlargement of the liver in the rat: Its relationship to carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Br J Exp Path* **62**: 283-288, 1981.
- 9) Christensen BG, Jacobsen E: Studies on liver regeneration. *Act Med Scand* **234**: 103-108, 1950.
- 10) Exton JH, Lewis SB, Ho RJ, et al: The role of cyclic AMP in the interaction of glucagon and insulin in the control of liver metabolism. *Ann NY Acad Sci* **185**: 85-100, 1971.
- 11) Fishback FC: A morphologic study of regeneration of the liver after partial removal. *Arch Path* **7**: 955-977, 1929.
- 12) Fisher B, Szuch P, Fisher ER: Evaluation of a humoral factor in liver regeneration utilizing liver transplants. *Cancer Res* **31**: 322-330, 1971.
- 13) Freise J, Mueller WH, Broelsch CE: Accumulation of insulin and glucagon in the liver (via portal vein catheter or with liposomes) does not stimulate liver cell regeneration after partial hepatectomy in normal or portocaval shunted rats. *Res Exp Med* **180**: 31-39, 1982.
- 14) Geumei A, Bashour FA, et al: Prostaglandin  $\text{E}_1$ : Its effects on hepatic circulation in dogs. *Pharmacology* **9**: 336-347, 1973.
- 15) Goldfine ID: Does insulin need a second messenger?. *Diabetes* **26**: 148-155, 1977.
- 16) Goldfine ID, Kriz BM, Wong KY: Entry of insulin into target cells in vitro and in vivo. In *Receptor-mediated binding and internalization of toxins and hormones* edited by Middlebrook JL, Kohn LD. New York, Academic Press, 1981, p. 233.
- 17) Grundmann E, Bach G: Amitosen, Endomitosen und Mitosen nach Partieller Hepatektomie. *Beitr Pathol Anat* **123**: 144-172, 1960.
- 18) Higgins GM, Anderson RM: Experimental pathology of the liver. 1. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Path* **12**: 186-202, 1931.
- 19) 堀江浩章, 松山辰男, 垂井清一郎: Glucagon 研究の最近の進歩—Glucagon 受容体およびグリセニンについて—. *日本臨床* **39**: 3016-3019, 1981.
- 20) Johnson DG, Ensink JW, Koerker D, et al: Inhibition of glucagon and insulin secretion by somatostatin in the rat pancreas perfused in situ. *Endocrinology* **96**: 370-374, 1975.
- 21) 神崎頼仁, 福井紀子, 三浦義彰: 肝臓の再生のきっかけについて. *医学のあゆみ* **108**: 455-461, 1979.
- 22) 加登康洋, 田中延善, 服部 信: プロスタグランディンと肝. *最新医学* **38**: 2134-2138, 1983.
- 23) 河野哲郎: インスリンの受容体とホルモン作用. *臨床検査 MOOK* **15**: 6-12, 1983.
- 24) MacManus JP, Braceland BM: A connection between the production of prostaglandins during liver regeneration and the DNA synthetic response. *Prostaglandins* **11**: 609-620, 1976.
- 25) Mclean EK, Mclean AEM, Sutton PM: Instant cirrhosis—An improved method for producing cirrhosis of the liver in rats by simultaneous administration of carbon tetrachloride and phenobarbitone—. *Br J Path* **50**: 502-506, 1969.
- 26) Meister vV: Rekreation des Lebergewebes nach Abtragung ganzer Leberlappen. *Beitr Pathol Anat* **15**: 1-116, 1894.
- 27) 三谷 進, 菅原克彦, 河野信博: 消化管ホルモンと肝再生. *日外会誌* **77**: 1193-1195, 1976.
- 28) 水平敏知: 受容体の組織細胞化学的アプローチ. *臨床検査 MOOK* **15**: 329-354, 1983.
- 29) 長尾 桓: 肝再生における膵ホルモンの有効性に関する実験的研究. *日外会誌* **80**: 685-700, 1979.

- 30) Price JB, Takeshige K, Max MH, et al: Glucagon as the portal factor modifying hepatic regeneration. *Surgery* **72**: 74-82, 1972.
- 31) Rabinovici N, Wiener E: Liver regeneration after partial hepatectomy in carbon tetrachloride-induced cirrhosis in the rat. *Gastroenterology* **40**: 416-422, 1961.
- 32) Schlessinger J, Shechter Y, Willingham MC, et al: Direct visualization of binding, aggregation, and internalization of insulin and epidermal growth factor on living fibroblastic cells. *Proc Nat Acad Sci USA* **75**: 2659-2663, 1978.
- 33) 白倉徹哉: 肝切除後残存肝の再生肥大に関する実験的研究及び臨床的知見. *日外会誌* **77**: 1394-1410, 1976.
- 34) Simpson DP: Hepatic regeneration and hyperplasia. *Med Clin North Am* **47**: 765-777, 1963.
- 35) Starzl TE, Halgrimson CG, Francavilla FR, et al: The origin, hormonal nature, and action of hepatotrophic substances in portal venous blood. *Surg Gyn Obst* **137**: 179-197, 1973.
- 36) Starzl TE, Porter KA, Kashiwagi N, et al: Portal hepatotrophic factors, diabetes mellitus and acute liver atrophy, hypertrophy and regeneration. *Surg Gyn Obst* **141**: 843-858, 1975.
- 37) 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.
- 38) Whittmore AD: Hepatic regeneration in the absence of portal viscera. *Surgery* **77**: 419-426, 1975.