

## 局所肝虚血による変化について

川崎医科大学 救急医学

田 辺 潤

(昭和59年10月31日受付)

### Changes in the Liver after Recirculation of Liver Ischemia

Jun Tanabe

Department of Emergency Medicine,  
Kawasaki Medical School

(Accepted on October 31, 1984)

肝臓の虚血に対する耐容性を知るために、雑種成犬13頭を用いて、30分、60分の肝虚血を Pringle 法にて作製し、以下の結果を得た。

1) 30分虚血群では、血流再開後8時間まで6頭全例生存したのに対し、60分虚血群では7頭中1頭が生存したのみであった。

2) 血清化学検査では、血流再開後、30分虚血群では S-GOT, S-GPT, LDH, Al-P の上昇は比較的軽度であったが、60分虚血群では著明な上昇が見られた。

3) 組織像では、30分虚血群においては少数の肝細胞壊死、類壊死が認められたが、60分虚血群では多量の肝細胞壊死を認めたものまで種々の程度の組織像が見られた。

以上より、雑種成犬における肝虚血の耐容時間は30分から60分の間と考えられた。

In order to examine the tolerance of the liver to ischemia, liver ischemia was produced for 30 and 60 minutes using Pringle's maneuver in thirteen adult mongrel dogs and the following results were obtained.

1) In the 30 minute ischemia group, all six dogs survived, but in the 60 minute ischemia group, only one of seven dogs survived.

2) In a biochemical study of the 30 minute ischemia group, S-GOT, S-GPT, LDH and Al-P were moderately elevated, but in the 60 minute ischemia group, these data were markedly elevated.

3) In a histological study of the 30 minute ischemia group, a little hepatic cell necrosis or bionecrosis was observed. On the other hand, in the 60 minute ischemia group, variable degrees of histological change, including massive hepatic cell necrosis, were observed.

These findings suggest that the maximum safe period for liver ischemia is between 30 and 60 minutes.

Key Words ① Liver ischemia ② Recirculation

はじめに

著者らは前に Aortic occlusion balloon catheter 法を用いて、心停止蘇生後における各臓器の病態変化、特に肝臓、脾臓の臓器血流量、血清化学変化、組織学的変化に関して、雑種成犬を用いて実験的検討を行い、臨床的に心肺蘇生術の適応範囲内と考えられる10分前後の心停止では、肝臓、脾臓にあまり大きな障害を起こさないであろうとする結果を得た。<sup>1)</sup> 今回は局所性に肝臓の虚血を作製し、血流再開後の肝臓の変化、体循環動態の変化について検討を行い、雑種成犬における肝虚血の耐容性についての実験的考察を行った。

実験方法

実験動物は、体重12~15 kg の雑種成犬13頭を用いた。実験当日は絶食とし、飲水のみ可とした。麻酔は atropine sulfate 0.5 mg 筋注後 ketamine hydrochloride 10mg/kg の筋注により行い、筋弛緩剤である pancronium bromide 4 mg 静注後、気管内挿管を行った。肝虚血前における換気は酸素50%、笑気50%にて人工呼吸を行い、pH 7.35~7.45、PaCO<sub>2</sub> 35~45 mmHg になるように調節した。

1. 肝虚血犬の作製  
(Fig. 1)

肝虚血犬の作製は、まず外頸静脈に静脈路用のカテーテルを挿入し、ついで左側の大腿動静脈を露出切開して、動脈は動脈圧の測定、採血用に、静脈は門脈一大腿静脈シャント用にカ

テーテルを挿入した。腹部正中切開後、脾静脈を露出し、大腿静脈に挿入してあるカテーテルを門脈まで挿入し、門脈一大腿静脈シャントとした。同時に Heparin Na 250 U/kg を投与し、カテーテル内の塞栓を予防した。肝虚血の作製は Pringle 法<sup>2)</sup> によりナイロンテープ2本で肝動脈および門脈を結紮し、肝への流入血流を遮断した。肝虚血作製の確認は水素ガスクリアランス法により行った。肝虚血終了、血流再開後には protamine sulfate 2 mg/kg を使用し、heparin Na に拮抗させ、シャントチューブを抜去した。実験中、乳酸加リンゲル液を8~10 ml/kg/hr 投与した。血流再開後、昇圧剤の使用、代謝性アシドーシスの補正は行わなかった。

肝虚血時間は30分、60分とし、それぞれ6頭

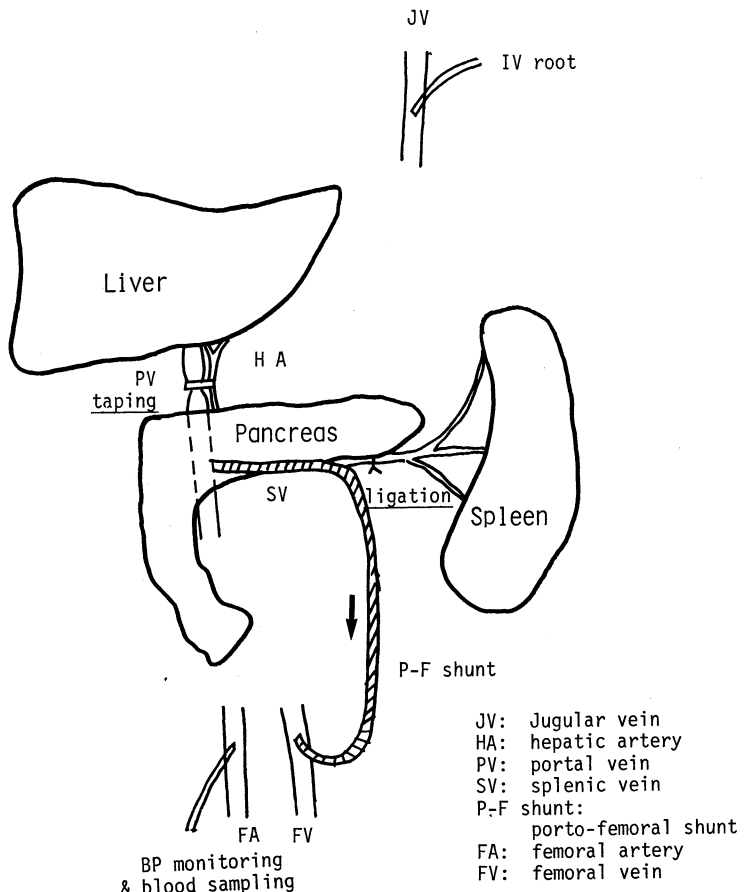


Fig. 1. Experimental model used to produce liver ischemia.

7頭ずつ実験を行い、血流再開後8時間までにおける肝臓の血清化学変化、組織学的変化、体循環動態変化の検討を行った。

## 2. 検査項目および方法

1) 動脈圧, 血清電解質, 動脈血液ガス分析, Ht 値

動脈圧は生体電気用記録装置 VC-9 (日本光電社製), 血清電解質 (Na, K) は炎光光度計法 (炎光光度計 FLM-3, ラジオメーター社製), 動脈血液ガス分析は, 血液ガス分析装置 BGA-30/MK-2 (ラジオメーター社製), Ht 値は遠心分離法にて測定した。

### 2) 血清化学変化

血清化学検査として S-GOT (UV 法), S-GPT (UV 法), LDH (UV 法), Al-P (PNP Rate assay), 血糖 (OTB 法), 総ビリルビン (アルカリアゾビリルビン法) につき検討した。

### 3) 組織学的変化

組織学的検討は, 30分群では血流再開8時間後の肝臓の組織を切り出し, 60分群では死亡時の組織を取り出し, 光学顕微鏡と電子顕微鏡にて検討した。切片の作製方法は以前紹介した方法と同じである。<sup>1)</sup>

## 結 果

30分虚血群では血流再開後, 全例が生存した。60分虚血群では血流再開後8時間まで, 7例中6例が死亡, 1例のみが生存した。死亡群は血流再開後3時間30分から7時間50分までに死亡平均約4時間50分であった。

1) 動脈圧, 血清電解質, 動脈血液ガス, Ht 値 (Figs. 2, 3)

i) 平均動脈圧 (B. P.) は血流再開後, 30分虚血群では一過性の低下を示すものの, その後8時間目まで, ほぼコントロール値に保たれた。これに対し60分虚血群では, 血流再開直後に低下し, その後やや回復傾向を示すものの, 再び進行性に低血圧を示し死亡した。

### ii) 血清電解質

Na は両群ともに有意な変化は示さなかった。K は30分群では有意な変化は見られなかつ

たが, 60分群では血流再開直後に増加し, やや回復傾向を示すものの, 死亡群では進行性にKの増加を示す例が多く見られた。

### iii) 動脈血液ガス

pH, BE は, 30分群では血流再開直後 pH 7.25, BE -8.5 前後の代謝性アシドーシスを示し, その後も pH 7.32, BE -5.0 前後の軽度の代謝性アシドーシスが持続した。60分群では血流再開直後 pH 7.20, BE -11.2 前後のより強い代謝性アシドーシスを示し, 死亡群では, さらに進行性の代謝性アシドーシスを示した。PaO<sub>2</sub> は30分群では有意な変化は見られなかった。60分群では血流再開直後より PaO<sub>2</sub> の低下を示す例も認められた。PaCO<sub>2</sub> は, 30分群では有意な変化は認められなかったが, 60分群ではやや増加傾向を認めた。

iv) Ht は両群ともに有意な変化を示さなかった。

### 2) 血清化学変化 (Figs. 4~6)

S-GOT は, 30分群では血流再開直後, 約100 karmen U 前後に上昇ののち, 8時間後までさほど変化しなかった。これに対し60分群では直後より平均700 karmen U に上昇し, 1時間後には約3000 karmen U と著明な上昇を示し, 生存例を除き死亡前まで上昇を示している。S-GPT は S-GOT と同様な経過を示した。LDH は30分群では血流再開後1時間まで上昇を示したが, 8時間後までには回復傾向を示した。60分群では血流再開直後より著明な上昇を示し, 死亡例ではその後も上昇を示したものが多かった。Al-P は30分群では8時間後に増加を示した。60分群では血流再開直後より上昇を示す例が多く見られた。総ビリルビンは30分, 60分群ともに有意な変化を示さなかった。血糖は, 30分群では血流再開直後に上昇し, その後はほぼ正常域に復した。60分群でも同様に血流再開直後の上昇を示したが, 死亡例には低血糖を示す例も見られた。

### 3) 組織学的変化 (Figs. 7~10)

30分虚血群の光顕像では, 小葉中心性に軽度のうっ血が見られる例が多く, 小数の肝細胞壊死, 類壊死を認めたものもあった。好中球の浸

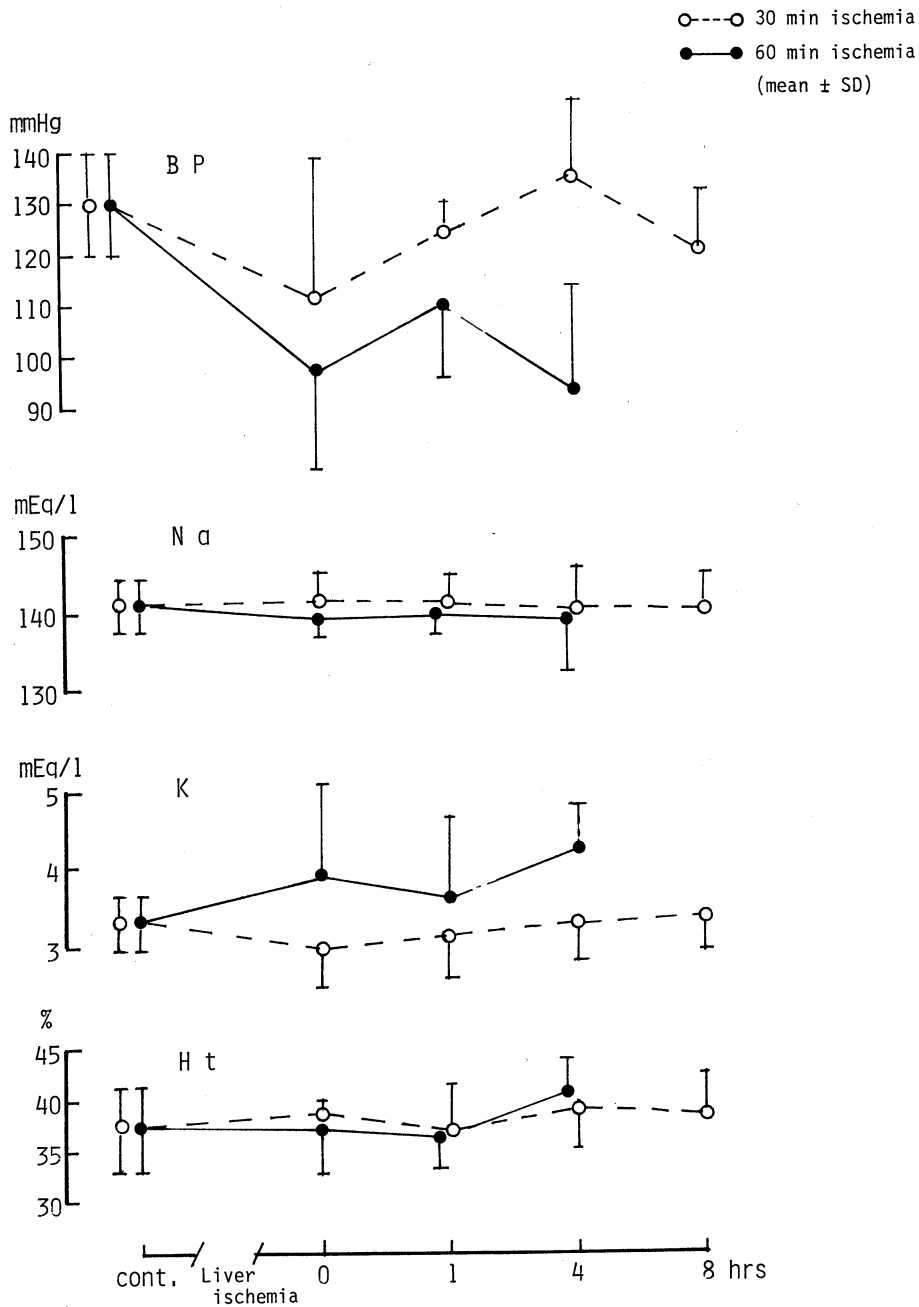


Fig. 2. Change in blood pressure, serum electrolyte and Ht following liver ischemia.

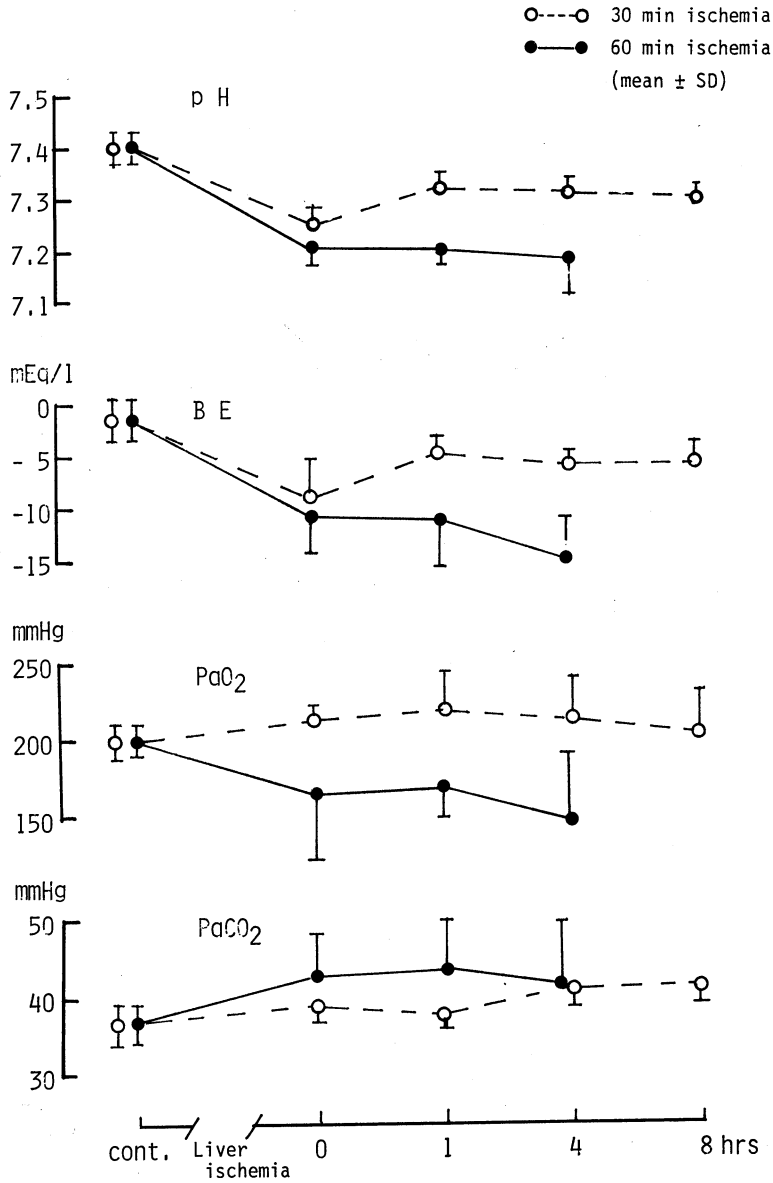


Fig. 3. Change in arterial blood gas analysis following liver ischemia.

潤がび慢性に認められる例も多かったが比較的軽度であった (Fig. 7). 電顕像ではグリコーゲンの減少, ミトコンドリアの軽度膨化傾向を示すものが多く見られた (Fig. 8).

60分虚血群では, 光顕像にて30分虚血群以上

に, 多量の肝細胞壊死を認めたものまで, 種々の肝細胞障害像がみられた (Fig. 9). 電顕像にては, ミトコンドリア, 細胞小器官の空胞性変化, グリコーゲン顆粒の著明な減少などがみられた (Fig. 10).

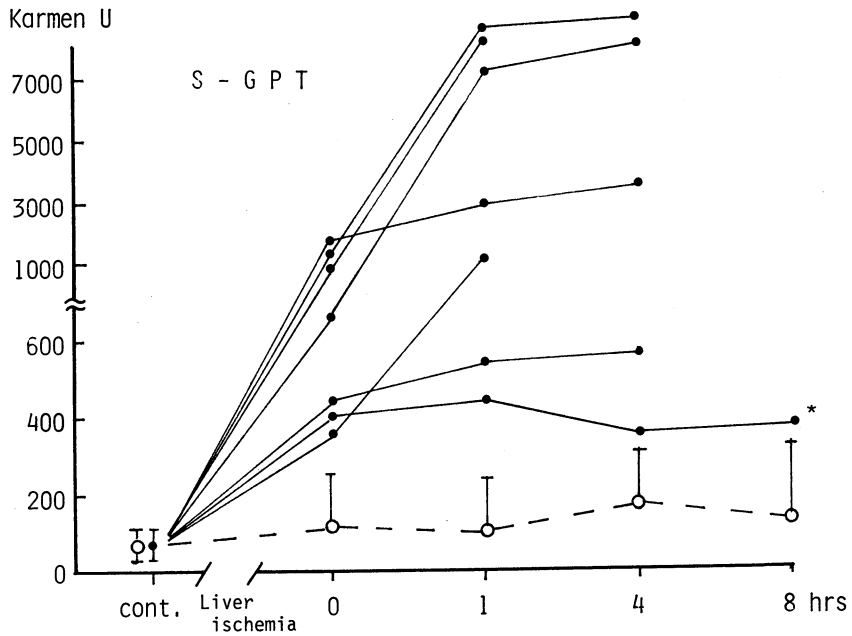
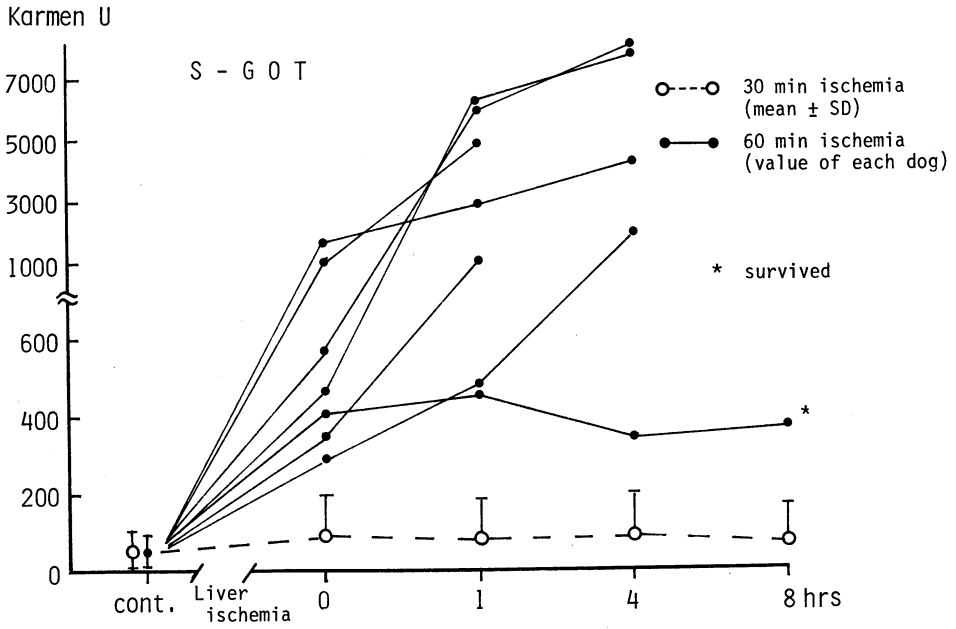


Fig. 4. Change in S-GOT and S-GPT following liver ischemia.

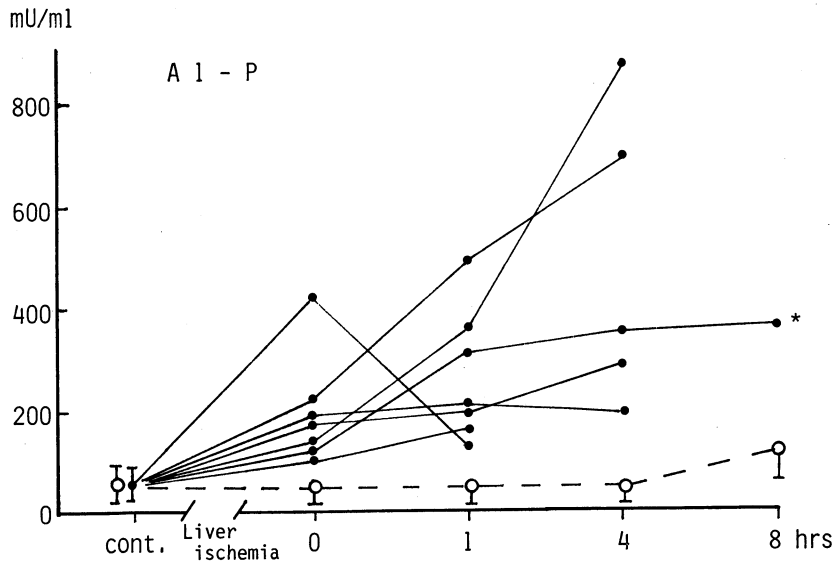
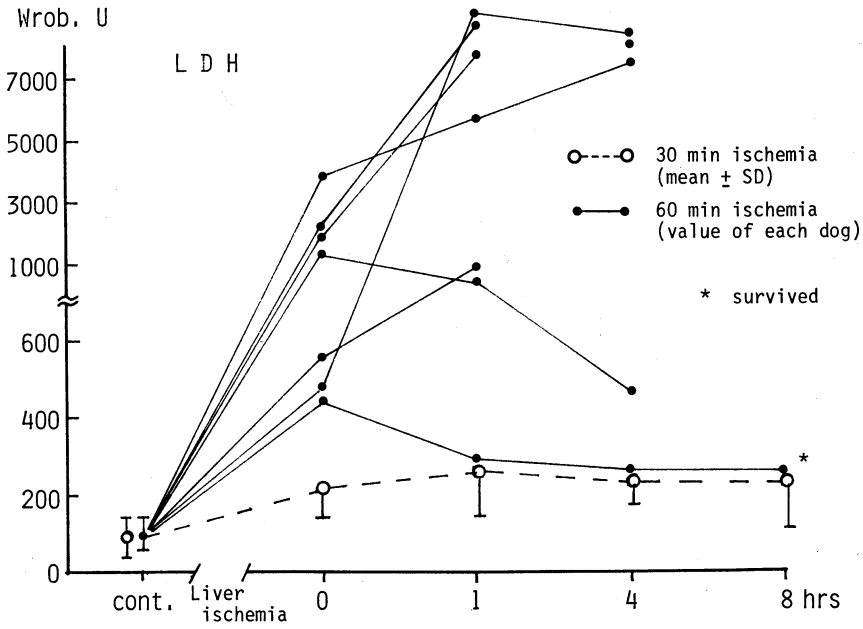


Fig. 5. Change in LDH and Al-P following liver ischemia.

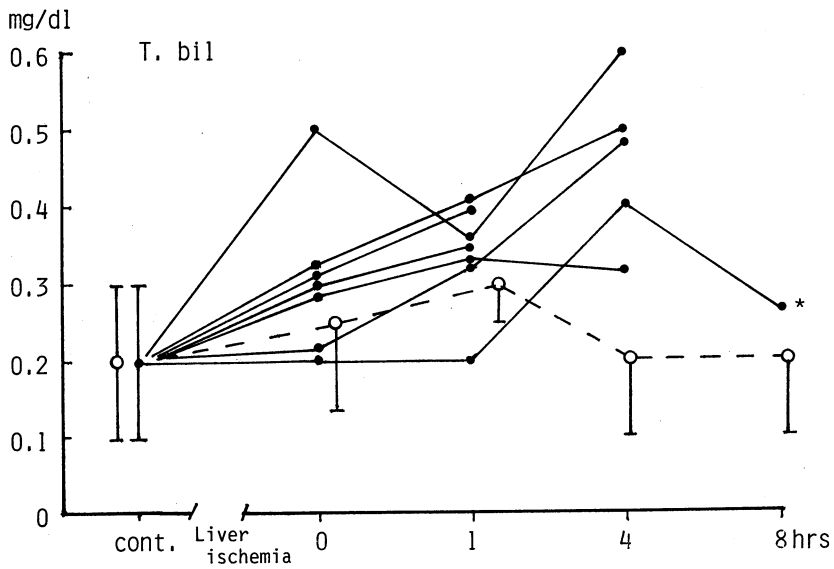
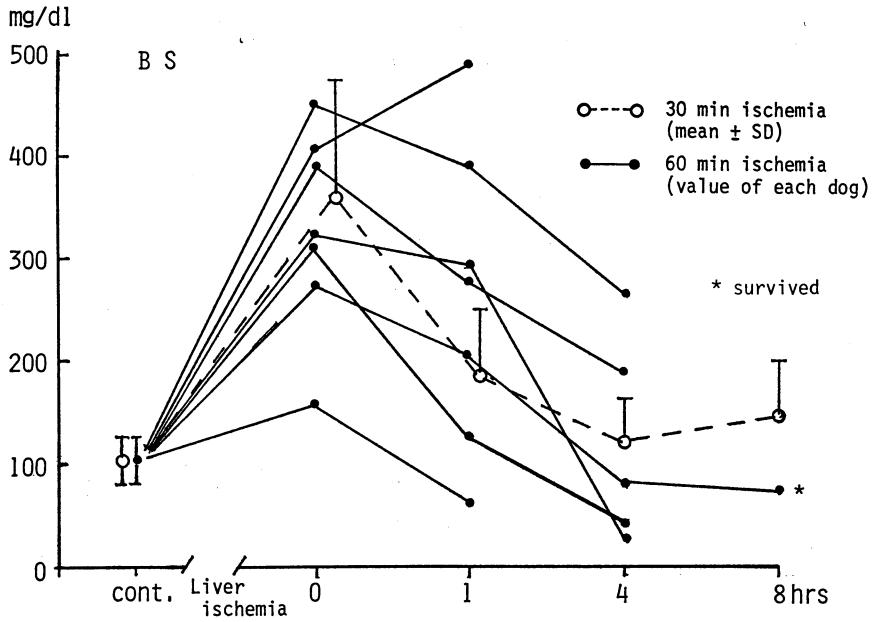
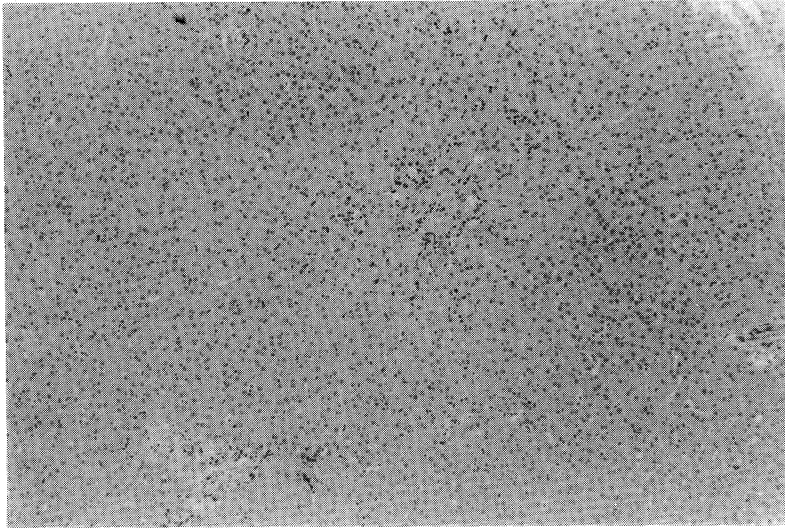
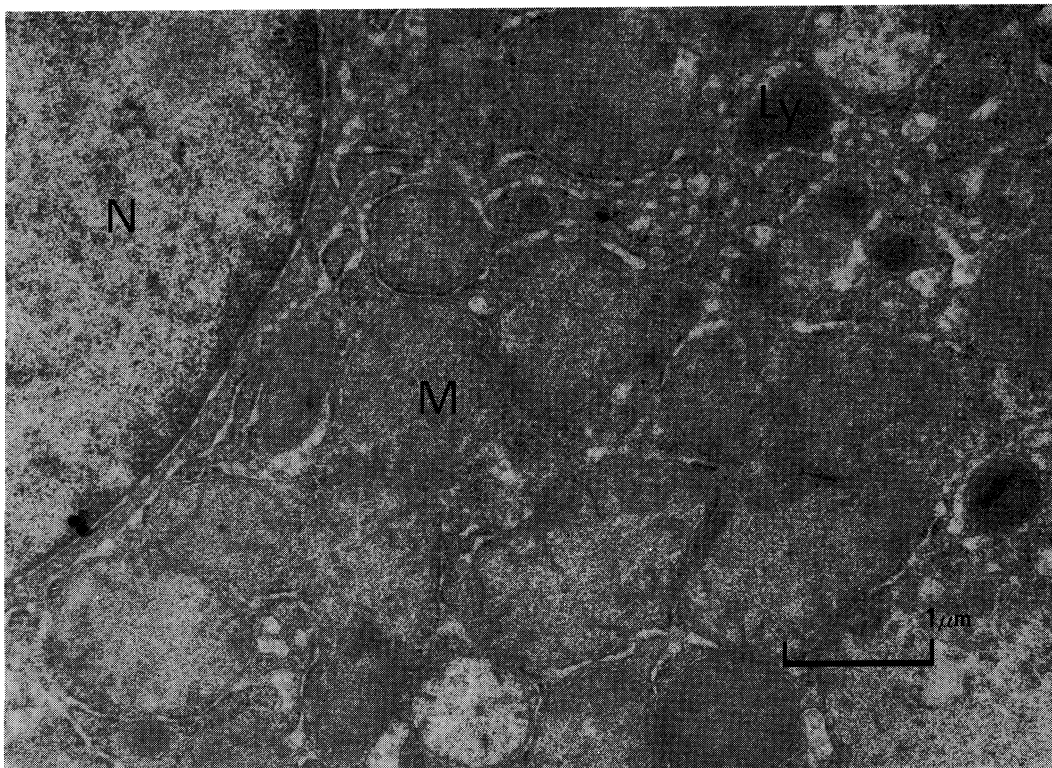


Fig. 6. Change in blood sugar and total bilirubin following liver ischemia.

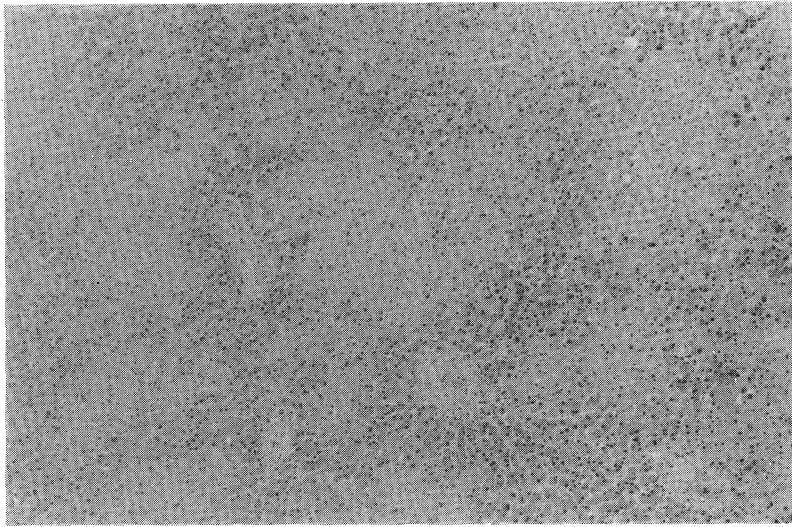




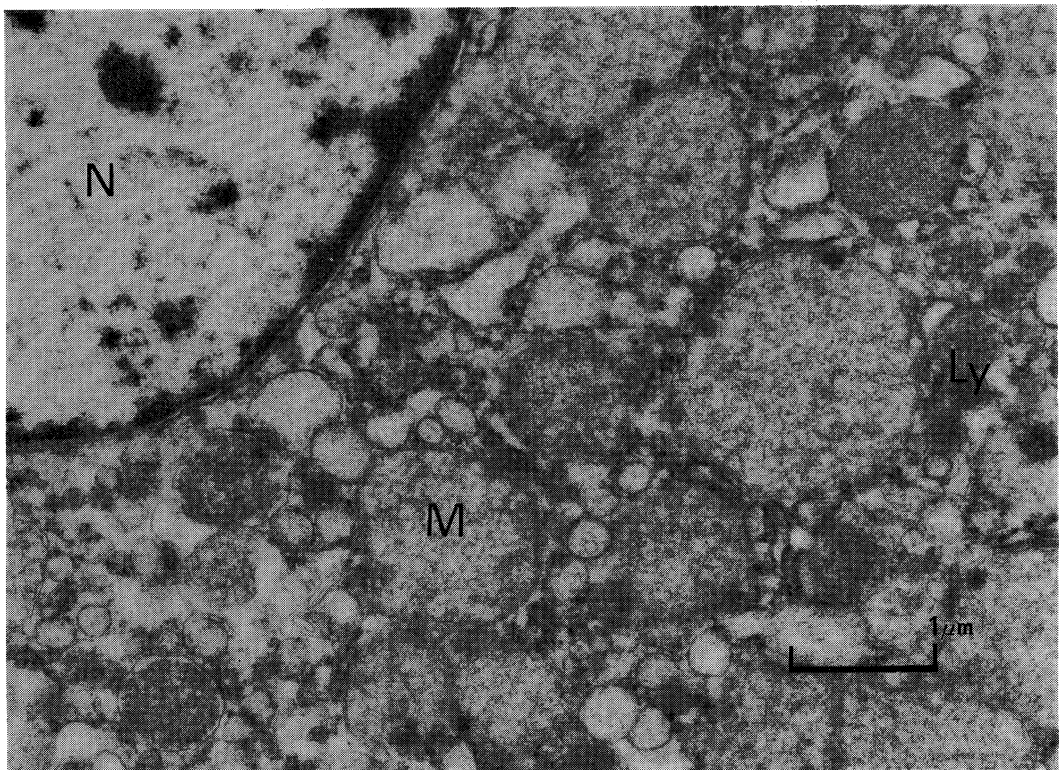
**Fig. 7.** Photomicrograph of the liver after 30 minutes ischemia. Congestion of the central zone and a few hepatic cell necrosis with mild neutrophils infiltration are seen. (H-E,  $\times 100$ )



**Fig. 8.** Electron micrograph of the liver after 30 minutes ischemia. Swelling of the mitochondria are seen.  
N: Nucleus M: Mitochondria L: Lysosome. (Uranyl-Lead stain,  $\times 10000$ )



**Fig. 9.** Photomicrograph of the liver after 60 minutes ischemia. Massive hepatic cell necrosis with congestion are seen.  
(H-E,  $\times 100$ )



**Fig. 10.** Electron micrograph of the liver after 60 minutes ischemia. Vacuolated mitochondria and organelles are seen.  
N: Nucleus M: Mitochondria L: Lysosome. (Uranyl-Lead stain,  $\times 10000$ )

## 考 察

肝臓では数多くの重要な代謝が行われており、肝細胞への血流、酸素供給が障害されると生体に大きな傷害を与えるものと思われる。

今回の実験結果において、肝虚血30分では、全例が生存し、血流再開後平均動脈圧もほぼコントロール値に回復し、代謝性アシドーシスの進行もみられず、S-GOT, S-GPT 等の血清化学変化も比較的軽度であり、組織学的にも肝細胞に少数の類壊死、壊死を認めたのみであり、電顕像においても軽度のミトコンドリアの膨化、グリコーゲン顆粒の減少をみたのみで、それほど大きな障害はみられなかったが、血流再開後8時間までに7例中6例が死亡し、平均動脈圧の遷延性の低下、進行性の代謝性アシドーシスを認め、血清化学変化ではS-GOT, S-GPT, LDH の著明な上昇を示し、組織学的にも大量の肝細胞壊死を認める例も見られ、60分虚血では肝に不可逆性変化を来すものと考えられた。この不可逆性変化をもたらす原因としては以下のことが考えられる。すなわち、まず肝臓への血流遮断により、肝細胞への酸素と基質の供給が減少する。そして肝のエネルギー産生の大部分はミトコンドリアの酸化的リン酸化に由来するが、肝の虚血によりこの機序は途絶してしまふ。さらに基質の供給が行われなばかりでなく、回路内の代謝産物はまずビルビン酸になり、次いで乳酸にはなるが、それから先には進行しない。したがって虚血中、嫌氣的代謝の起こっている細胞では大量の乳酸が蓄積される。また正常の好氣的代謝では1モルのブドウ糖から38モルのATPが生産されるのに対し、嫌氣的代謝ではたった2モルのATPが生産されるだけであり、個体生存に必要な細胞機能を維持するのに必要なだけのATPは長時間にわたる嫌氣性代謝ではとうてい得られない。同時に細胞内ATPの減少により細胞膜に存在するNa-pump ( $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ )の機能が低下し、細胞膜の脱分極、細胞内ナトリウムと水分の増加による細胞膨化が招来される。

これは“ショック細胞”と呼ばれるものであり、この状態になると細胞膜や細胞小器官の膜透過性が高まり水解酵素の逸脱などが起こりやすくなる。また細胞内アシドーシスの進行によりライソゾーム酵素の活性化が招来され、細胞の自己融解が起こり、細胞の不可逆的変性が起こり最終的には臓器の死を招くものと考えられる。<sup>3)-5)</sup>以上の理由により60分虚血では肝細胞の大量壊死を来したものと考えられる。

ところが一部の犬では病理学的にはさほど著明な変化を呈していない例も認められている。この原因としては肝への肝動脈、門脈以外の残存副血行路より、ある程度の肝血流が維持されたものと思われる。<sup>6)</sup>水素ガスクリアランス法による肝虚血の確認では、肝血流量はほぼ“ゼロ”であったが、ごく少量の肝血流量の場合はその正確な測定が困難であろうと思われる。文献的にはこれら側副血行路の肝血流量に占める割合は約10%とされており、<sup>7)-9)</sup>著者もインドシアニングリーン(0.5 mg/kg)を用いて肝虚血中の血中停滞率を測定したところ、インドシアニングリーン投与後20分での血中停滞率は平均88%であった。この残存側副血行路により肝細胞が温存され、種々の程度の組織学的変化をもたらしたものと思われる。これら側副血行路としては、冠状靭帯、三角靭帯、鎌状靭帯、胃肝靭帯などに沿った細動脈が挙げられている。<sup>6)</sup>また60分虚血群では組織学的に有意な変化を認めないのに死亡する例も見られるが、これらの原因として犬に特有な現象を考え合わさなくてはならない。まず第一に犬の門脈血中にはclostridial organismが含まれており虚血により感染性壊死を来すこと。<sup>10)</sup>第二は肝虚血により肝静脈が収縮し、いわゆる“outflow block”を起こす。これにより肝臓及び腹腔内臓器の腫大を来し、進行性の低血圧、アシドーシス、ついには死亡することである。<sup>11), 12)</sup>

また今回の実験では、血流再開後の代謝性アシドーシスの補正、抗生物質の投与、低血圧の補正などは行っておらず、これらの処置の有無も、血流再開後の肝臓の変化、体循環動態変化

に大きな役割を果たすのであろう。

肝虚血の耐容時間を延長させる方法としては、ステロイド剤<sup>13)</sup> クロールプロマジン<sup>14)</sup> ATP-MgCl<sub>2</sub><sup>15),16)</sup> 昇圧剤の使用<sup>17)</sup> 等について実験が行われているが、現在著者らは肝虚血時に低温下に乳酸加リンゲル液を肝動脈より注入することにより、耐容時間を延長させる実験を行っており、比較的良好な結果が得られている。

肝虚血の耐容時間については人、犬、ブタ、ラット等についての報告が見られるが、一定した見解は得られていない。これは動物種の違いもあろうが、虚血モデルにおける術中、術後管理の差なども挙げられよう。人の肝臓においては従来約20分間の肝虚血により不可逆性変化を示すと言われているが、Huguetら<sup>18)</sup>は臨床例において65分の常温下での虚血に耐えたと報告している。この報告では門脈一体循環バイパスは施行されていないが、これは人では肝臓への側副血行路が十分発達していることによるとの見解である。<sup>19),20)</sup> 他の実験動物の肝虚血モデルにおいては、門脈一体循環バイパスが行われるが、これが必要な理由は、門脈のうっ血による循環血漿量の低下、エンドトキシンの関与、不明の毒素、神経因子などの何らかの関与が考えられており、これらの原因により、門脈血シャントを造設しないときには、進行性の低血圧、アシドーシスを来し、死に至るからである。<sup>21),22)</sup>

犬での肝虚血の耐容時間に関しても、まだ一定した見解はなく、Hines<sup>23)</sup> Farkouhら<sup>9)</sup>は肝虚血の耐容時間を30~40分としているが、Mackenzie<sup>24)</sup>らは1時間までの虚血では生存可能であったとしている。ブタではFeindel,<sup>8)</sup> Harrisら<sup>7)</sup>が60分、90分の虚血を行ったが、死亡するブタはなく、180分の虚血ではトランスアミナーゼが高値を示し、組織学的にも種々の肝細胞壊死を認めたとし、90分までは虚血の

耐容時間であるとしている。ラットでも60~90分が安全限界とする報告も見られる。<sup>25)</sup>

最後に肝虚血の全身に及ぼす大きな影響としては、今回の60分虚血においても、血流再開直後より PaO<sub>2</sub> の低下を認めたが、有田ら<sup>26)</sup>は、肝虚血犬での血管外肺水分量の増加を報告しており、肺血管透過性の亢進による肺水腫を反映していることを示している。そのような呼吸不全発生の因子として、肝不全の際の内因性エンドトキシン、DIC、補体活性化による白血球凝集、網内系の機能低下、さらに、プロスタグランディン系物質、ライソゾーム酵素、superoxide radicals などによる可能性を指摘しており、今後も検討が加えられるものと思われる。

## 結 語

雑種成犬に30分、60分の局所性肝虚血を作製し、以下の結果を得た。

1) 30分虚血群では、血流再開後8時間まで6頭全例生存したのに対し、60分虚血群では、7頭中1頭が生存したのみであった。

2) 血清化学検査では、血流再開後 S-GOT, S-GPT, LDH, AL-P の上昇は30分虚血群では比較的軽度であったが、60分虚血群では著明な上昇が見られた。

3) 組織像では30分虚血群においては少数の肝細胞壊死、類壊死が認められたが、60分虚血群では多量の肝細胞壊死を認めたものまで、種類の程度の組織像が見られた。

以上より、雑種成犬における肝虚血の耐容時間は30分から60分の間と考えられる。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲をいただいた恩師小濱啓次教授、また多大な御援助をいただいた教室員諸兄に厚くお礼申し上げます。

この論文の要旨は第12回日本救急医学会総会において発表した。

## 参 考 文 献

- 1) 田辺 潤：心停止蘇生後の肝臓・脾臓の変化について。麻酔と蘇生 19：81—93, 1983
- 2) Pringle, J. H.: Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. Ann. Surg. 48:

541—549, 1908

- 3) 平良健康：肝虚血の耐容性と機能維持に関する実験的研究。日外会誌 81：427—440, 1980
- 4) 吉武潤一，野本保孝：代謝障害からみたショック治療。救急医学 8：307—315, 1984
- 5) Schumer, W.：ショックが細胞のエネルギー経路に及ぼす影響。In *The cell in shock*, 日本 Upjohn, 1981, pp. 12—14
- 6) Farkouh, E. F., Daniel, A. M. and Maclean, L. D.：The effect of collateral circulation on survival in liver ischemia. *J. surg. Res.* 11：130—134, 1971
- 7) Harris, K. A., Wallace, C. and Wall, W. J.：Tolerance of the liver to ischemia in the pig. *J. surg. Res.* 33：524—530, 1982
- 8) Feindel, C. M., Harper, R., Wallace, A. C. and Wall, W. J.：Tolerance of the liver to ischemia：an experimental study. *Can. J. Surg.* 24：147—149, 1981
- 9) Farkouh, E. F., Daniel, A. M., Beaudoin, J.-G. and Maclean, L. D.：Predictive value of liver biochemistry in acute hepatic ischemia. *Surg. Gynecol. Obstet.* 132：832—838, 1971
- 10) Chau, A. Y. S., Goldbloom, V. C. and Gurd, F. N.：Clostridial infection as a cause of death after ligation of the hepatic artery. *Arch. Surg.* 63：390—402, 1951
- 11) Walker, W. F., Macdonald, J. S. and Pickard, C.：Hepatic vein sphincter mechanism in the dog. *Br. J. Surg.* 48：218—220, 1960
- 12) Moreno, A. H., Rousselet, L. M., Burchell, A. R., Bono, R. F. and Burke, J. H.：Studies on the outflow tracts of the liver：II. On the outflow tracts of the canine liver with particular reference to its regulation by the hepatic vein sphincter mechanisms. *Am. Surg.* 155：427—433, 1962
- 13) Fornander, J., Hellmann, A. and Hasselgren, P. C.：Effects of Methylprednisolone on protein synthesis and blood flow in the postischemic liver. *Circ. Shock* 12：287—295, 1984
- 14) Chien, K. R., Abrams, J., Pfau, R. G. and Faiber, J. L.：Prevention by chlorpromazine of ischemic liver cell death. *Am. J. Pathol.* 88：539—553, 1977
- 15) Hirasawa, H., Chaudry, I. H. and Bave, A. E.：Improved hepatic function and survival with adenosine triphosphate-magnesium chloride after hepatic ischemia. *Surgery* 83：655—662, 1978
- 16) Ohkawa, M., Clemens, M. G. and Chandry, I. H.：Studies on the mechanism of beneficial effects on ATP-MgCl<sub>2</sub> following hepatic ischemia. *Am. J. Physiol.* 244：R695—702, 1983
- 17) Hasselgren, P.-O., Biber, B. and Forender, J.：Improved blood flow and protein synthesis in the postischemic liver following infusion of dopamine. *J. surg. Res.* 34：44—52, 1983
- 18) Huguet, C., Nordlinger, B., Galopin, J. J., Bloch, P. and Gallot, D.：Normothermic hepatic vascular exclusion for extensive hepatectomy. *Surg. Gynecol. Obstet.* 147：689—693, 1978
- 19) Michels N. A.：Nemer anatomy of liver-variant blood supply and collateral circulation. *J.A.M.A.* 172：125—132, 1960
- 20) Mays, E. T. and Wheeler, C. S.：Demonstration of collateral arterial flow after interruption of hepatic arteries in man. *N. Engl. J. Med.* 290：993—996, 1974
- 21) 中尾昭公：急性門脈遮断時の凝固線溶系変化に関する実験的研究。日外会誌 84：692—702, 1983
- 22) van der Meer, C., van der Kley, G. A. and Valkenburg, P. W.：Studies on the cause of death after permanent and temporary occlusion of the portal vein in rats. *Circ. Shock* 3：191—202, 1976
- 23) Hines, J. R. and Roncoroni, M.：Acute hepatic ischemia in dogs. *Surg. Gynecol. Obstet.* 102：689—694, 1956
- 24) Mackenzie, R. J., Furnival, C. M., Wood, C. B., O'keane, M. A. and Blumgart, L. H.：The

- effects of prolonged hepatic ischaemia before 70 per cent partial hepatectomy in the dog. *Br. J. Surg.* 64: 66—69, 1974
- 25) Marubayashi, S., Takenaka, M., Dohi, K., Egaki, H. and Kawasaki, T.: Adenine nucleotide metabolism during hepatic ischemia and subsequent blood reflow periods and its relation to organ viability. *Transplantation* 30: 294—296, 1980
- 26) 有田 明, 斎藤英昭, 磯山 徹, 渡辺千之, 望月英隆, 石山 賢, 玉熊正悦: 肝不全に伴う呼吸不全に関する実験的研究—イヌモデルの開発と連続的な肺水分量測定. *医学のあゆみ* 124: 818—820, 1983