Experimental Study on the Recovery Process of Bile Excretion and Indocyanine Green Transport during Liver Regeneration after Partial Hepatectomy

メタデータ	言語: jpn
	出版者:
	公開日: 2017-10-04
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者:
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7797

肝切除後の再生肝における胆汁分泌能ならびに Indocyanine Green 色素移送能の回復過程に関する実験的研究

金沢大学医学部外科学第二講座（主任：宮崎逸夫教授）
太　田　哲　生

(昭和60年5月7日受付)

本研究は，肝切除後の再生肝における胆汁分泌能ならびに indocyanine green (ICG)色素移送能の回復過程を知ることを目的とした．40%肝切除犬を作製し，経時的に胆汁組成の変動と ICG 色素の血中消失・胆汁中排泄の動態を検索した．その結果，以下の成績を得た．体重当たりの肝胆汁量は肝切除後1日目には減少し，3日目で術前値に復したが，肝重量当たりの肝胆汁量は1日目より有意に術前値を上回る分泌量を示した．胆汁浸透圧は肝切除後1日目より有意に低下し，胆汁 pH 値は1日目より有意に上昇した．胆汁中電解質のうち，Na^+値は全経過を通じて変動しなかったが，HCO_3^-値と Cl^-値は肝切除後1日目より有意に上昇した．胆汁酸については，血中胆汁酸値は肝切除後1日目で著増したが，以後漸減して28日目で術前値に復した．一方，胆汁中胆汁酸排泄量は，体重および肝重量当たりともに肝切除後早期では有意に減少したが，7日目で術前値に復した．しかし，胆汁酸濃度は7日目でも胆汁量増加に伴う相対的希釈のため低値を示した．ICG による色素移送能の推移をみると，ICG 最大除去率を示す ICG Rmax 値の回復は肝重量の回復に比べ著しく遅延した．ICG の移送能を表わす指標のうち，血漿消失率を示すK値，血漿から肝への移行率を示すa値および肝から胆汁への移行率を示すh値は，いずれも肝切除後1日目より切除量にほぼ比例して減少したが，7日目で術前値に復した．しかし，肝から血漿への移行率を示すb値の回復は遅延し28日目でも術前値より低値を示した．一方，ICG 色素の時間当たり胆汁中最大排泄量および回収率は，肝切除後7日目でも術前値より低値を示した．以上，肝胆汁量は肝切除後早期より回復したが，これは主として細胆管レベルでの胆汁分泌能亢進によるものであり，また ICG 色素移送能の面からみると，ICG 色素の類洞側肝細胞膜での摂取能および毛細胆管側肝細胞膜での排泄能に比べ，肝細胞内移送能の回復はかなり遅延することが示された．すなわち，肝切除後ではみかけ上胆汁分泌能が回復しているようにみえても，潜在的胆汁分泌障害は残っているものと結論された．

Key words　hepatectomy, liver regeneration, bile excretion, bile acid, indocyanine green transport

肝は大きな機能的予備能と旺盛な再生能を有する実質臓器であり，ヒトでは正常肝であれば70～80%の切除が可能であるともいわれている[1]．しかし，肝切除後早期に肝不全に陥り死亡に至る症例も少なからず経験する．すなわち，肝切除術に際しては肝の切除限界を知り，残存肝の病態・生理・代謝変動を十分把握することが重要である．

このような観点から，これまで肝切除に関する実験的あるいは臨床的研究が多く行われてきた．なかでも，肝切除後の肝再生をめぐって，再生促進因子や核酸・蛋白合成の制御機構に関する研究，さらに再生肝でのエネルギー代謝に関する研究が多い．一方，肝切除後の胆汁分泌量や各種薬剤の胆汁内排泄量の推移に関する研究も以前より手がけられている[2)~4)]．しかし，肝の

Abbreviations: CA, cholic acid; CDCA, chenodeoxycholic acid; DCA, deoxycholic acid; ICG, indocyanine green; ICG Rmax, maximal removal rate of ICG; LCA, lithocholic acid; Na^+-K^+-ATPase, Na^+-K^+-Adenosine triphosphatase, UDCA, ursodeoxycholic acid.

重要な機能の1つである胆汁分泌能に関して，その回復過程を胆汁の生成・排泄機構の面から論じた報告は少なく[5)~8)]，とくに胆汁組成の面から総合的に検討した報告は皆無といっても過言ではない．

そこで，著者は40%肝切除犬を作製して，再生肝における胆汁中の胆汁酸，コレステロール，ビリルビン，電解質成分などの推移について検索を行った．さらに，再生肝におけるインドシアニングリーン（indocyanine green, ICG）色素移送の動態も解析した．

その結果，肝切除後の再生肝における胆汁分泌能ならびにICG色素移送能の回復過程について興味ある知見を得たので報告する．

対象および方法

I．実験動物および方法

1．使用動物

体重10～13 kgの雑種成犬を使用した．検索頭数は，術前対照群として15頭，肝切除後1日目，3日目，7日目および28日目の各時期において，1群につき5～7頭を使用した．

2．40%肝切除犬の作製法と管理

術前約18時間の絶食後，初回に塩酸ケタミン12.5 mg/kg・硫酸アトロピン0.025 mg/kgを筋注して背臥位に固定した．その後，チオペンタールナトリウムを50 mg静注し，経口的に気管カニューレを挿入して酸素・笑気・ミオブロック®にて調節呼吸を行った．ついで，上腹部正中切開にて開腹し，図1に示すように肝左葉2区域（left central and left lateral lobes）を切除した．ただし，肝切除に際しては，正常犬15頭の全肝重量に対する肝左葉2区域の重量比が36.5%～42.5%（平均38.6%）であったため，以下肝左葉2区域を全肝の40%領域として扱った．

術中・術後の補液として，5～10%フルクトース加電解質輸液（フルクトラクト®，フィジオゾール3号F®）を1日1000～1500 ml 5日間使用した．また，全手術操作は無菌的に行ったが，術後感染予防として抗生物質（ceftizoxime,エポセリン®，藤沢薬品工業株式会社）を1日250 mg 5日間筋注した．なお，術後12時間目以降は自由に水や食餌を摂取させた．

3．胆汁採取および肝重量測定法

肝切除後1日目，3日目，7日目および28日目の各時期に再度全麻下（酸素，笑気，ハロセン，ミオブロック®を使用）にて開腹した．胆嚢管を結紮後，十二指腸近傍にて総胆管を切開して胆汁採取用のアトム静脈カテーテル（4号French size）を挿入して肝胆汁を採取し，検査に供した．

検査終了後，ただちに屠殺し，残存肝を剔出して脱血後の肝重量を測定した．

II．検査項目および方法

肝切除前，肝切除後1日目，3日目，7日目および28日目の各時期に，以下の検査を行った．

1．肝重量回復率

40%切除肝より推定した肝切除前の全肝重量を100とし，肝切除後の各時期に測定した残存肝の重量を百分率でもって回復率とした．

2．血液の生化学的検査

股静脈より採血し，以下の項目を測定した．

1）血清総蛋白値，Biuret法[9)]

2）血清アルブミン値，BCG法[10)]

3）血清glutamic oxaloacetic transaminase値（血清GOT），U-V法[11)]

4）血清glutamic pyruvic transaminase値（血清GPT），U-V法[11)]

5）血清alkaline phosphatase値（血清Al-p），Kind-King法[12)]

6）血清γ-glutamyl transpeptidase値（血清γ-GTP），Orlowski変法[13)]

7）血清ビリルビン値，Jendrassik-Cleghorn法[14)]

8）血清総コレステロール値，酵素法[15)]

9）ヘパプラスチンテスト値（ヘパプラスチンテスト用試薬は，エーザイ株式会社製を用いた）

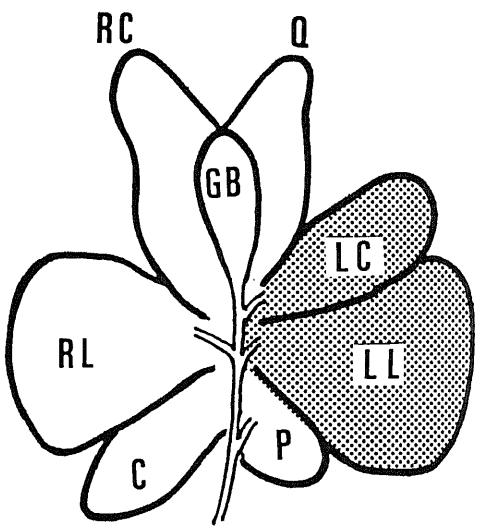

Fig. 1. Canine liver.
RL, right lateral lobe; RC, right central lobe; Q, quadrate lobe; LC, left central lobe; LL, left lateral lobe; P, papillary lobe; C, caudate lobe; GB, gallbladder. The shaded area represents the portion removed by the procedure of 40% hepatectomy.

10) 血清総胆汁酸値，酵素法[16]

11) 血清セクレチン値，radioimmunoassay 法

3．肝胆汁量の測定および胆汁の生化学的検査

前述したアトム静脈カテーテルより肝胆汁を採取して，以下の項目を測定した．

1）肝胆汁量

2）胆汁 pH 値（Tokyo Toa H M-1 OB 型 pH メーターを使用）

3）胆汁浸透圧，氷点降下法（アムコ株式会社製 Osmette A を使用した）

4）胆汁中胆汁酸値

胆汁酸定量には，酵素法[16]とガスクロマトグラフィー法の両者を併用した．ガスクロマトグラフィーによる胆汁酸定量法については，大浜の方法[17][18]に準じて図2のような手順で行い，これによって得られたグラフより，それぞれの数値を積分法で算出した．

なお，ガスクロマトグラフィーの器機は島津製 GC-7A（FID 検出器）を使用した．カラムには 0.2%Poly 1-110/クロモソルブで W-HP 80～100 メッシュを充塡し，内径 2.6 mm，長さ 2.6 m のものを使用した．温度条件はカラム部分 220°C，試料注入部および検出器は 240°Cとした．キャリアーガスとしてヘリウムを流速 60 ml/min で用い，チャートスピードは 5 mm とした．胆汁酸の検索項目は以下のごとくである．

i）総胆汁酸（total bile acids）；ii）コール酸（cholic acid, CA）；iii）ケノデオキシコール酸（chenodeoxycholic acid, CDCA）；IV）デオキシコール酸（deoxycholic acid, DCA）；V）リトコール酸（lithocholic acid, LCA）；VI）ウルソデオキシコール酸（ursodeoxycholic acid, UDCA）．

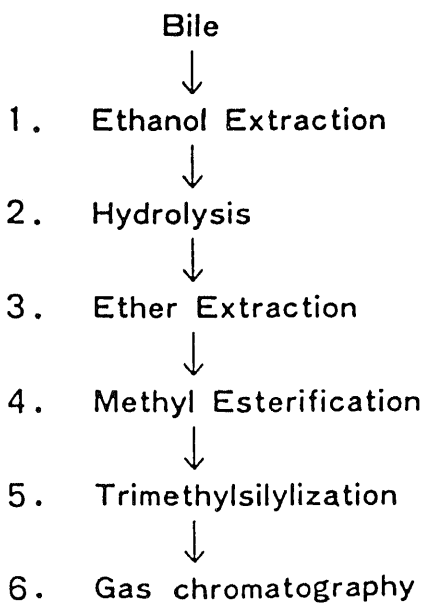

Fig. 2. Diagram of procedure for bile acid analysis.

5）胆汁中総コレステロール値，酵素法[15]

6）胆汁中総ビリルビン値，Jendrassik-Cleghorn 法[14]

7）胆汁中 Na^+値，イオン電極法

8）胆汁中 Cl^-値，イオン電極法

9）胆汁中 HCO_3^-値，Natelson 超微量ガス分析器による法[19]

4．ICG 色素負荷試験

肝切除後の再生肝における ICG 色素の肝細胞内摂取能，細胞内移送能および毛細胆管内への排泄能の回復過程を知る目的で，以下の項目について検索を行った．

1）血漿消失率（plasma disappearance rate, K 値）

2）ICG plasma transfer rate（a 値，血漿から肝への移行率；b 値，肝から血漿への移行率；h 値，肝から胆汁への移行率）

3）ICG 最大除去率（maximal removal rate of ICG, ICG Rmax 値）

4）胆汁中 ICG 色素排泄開始時間

5）時間当たりの胆汁中 ICG 色素排泄量および回収率

なお，これらの測定法は次のごとく行った．

i）採血および胆汁採取法

一側の股静脈に 21 ゲージの Hakko エラスター針を留置，他側の肘静脈より ICG 色素を 1 mg/kg 注入後，3，5，7，10，15，20，30，40，50，60 分の各時期にヘパリン処理した注射器にて約 2 ml 採血し，ICG 濃度を測定した．

胆汁は，前述した胆汁採取用アトム静脈カテーテルを遮光し，ICG 色素注入後 3 時間にわたり 15 分毎に肝胆汁量と胆汁中 ICG 濃度を測定した．これより，3 時間分の全 ICG 色素量を算出して ICG 色素排泄量とし，それを投与量で除したものを ICG 色素回収率とした．また，ICG 色素を注入後，その緑色色素が胆汁中に出現するまでの時間を測定し，これを色素排泄開始時間とした．

ii）ICG 測定法

採血した血液を遠沈（2000 回/10 分）して各血漿 0.5 ml を分離し，滅菌生理食塩水 2.5 ml で希釈してよく混和する．注入前の採血血漿を同様に処理してブランクとし，Beckman 分光光度計を用いて 805 nm におけ

る吸光度を測定する．あらかじめ作製した検量線により血漿ICG濃度を求めた．さらに，片対数グラフを用いて経時的な血漿ICG消失曲線を作図した．つぎに，この血漿ICG消失曲線を解析して，血漿と肝のtwo compartment systemを設置することより数式 $Ct = Ae^{-K_1 \cdot t} + Be^{-K_2 \cdot t}$ が成立し，次式

$$a = \frac{AK_1 + BK_2}{A + B}, \quad h = \frac{K_1 \times K_2}{a},$$

$$b = (K_1 + K_2) - (a + h)$$

より，ICG plasma transfer rate（a値，b値，h値）を算出した[20]．ただし，

Ct, t時のICG血漿濃度；

K_1, K_2,各fractionにおける血漿消失率；

A, K_1における理論的な零時でのICG血漿濃度；

B, K_2における理論的な零時でのICG血漿濃度；

e, 自然対数の底；

t, 任意の時間である．

K値は，片対数のグラフに3，5，7，10分後の血漿ICG濃度をプロットし，これら4点の1次回帰直線より零時での血漿ICG濃度（°C），濃度の半減時間（$t^{1/2}$）を求めて，次式より算出した．

$$K = \frac{0.693}{t^{1/2}}$$

ICG Rmax値は，ICG色素1 mg/kgと3 mg/kgの2点負荷法によりそれぞれK値を求め，これに各ICG色素投与量を乗じてICG除去率を求め，Lineweaver-Burk[21]に従って算出した．

胆汁中ICG濃度測定法は，まず胆汁0.1 mlに9.9 mlの滅菌蒸留水を加え100倍に希釈してよく混和した後，その1 mlに滅菌生理食塩水2 mlを加え3 mlの検体を作製した．そしてICG色素注入前の胆汁を同様に処理してブランクとし，Beckman分光光度計を用いて805 nmにおける吸光度を測定した．ついで，あらかじめ作製した検量線によりICG濃度を求めた．

Ⅲ．実験成績の統計学的検討

統計学的検討にはunpaired t-testを用いて平均値の有意差検定を行い，P値が0.05以下の場合に有意差ありと判定した．なお，成績はMean±S. E. M.で表わした．

成　　績

1．肝重量回復率の推移

40%肝切除後の残存肝重量の回復率をみると，肝切除後1日目で66.1±0.9%，3日目で74.1±2.1%7日目で90.7±1.7%と急速な増加を示し，28日目には99.1±3.4%と術前値に復した（図3）．

2．血液の生化学的検査成績

肝切除後の各時期における血液生化学的検査成績を表1に示す．

1）血清総蛋白値の推移

術前値は5.8±0.1 g/dlであり，肝切除後1日目で4.9±0.1 g/dlと有意（$p<0.01$）に減少し，3日目まで低値のまま推移した．しかし，その後は漸増し7日目にはほぼ術前値に復した．

2）血清アルブミン値の推移

術前値は2.3±0.1 g/dlであり，肝切除後1日目で1.9±0.1 g/dlと有意（$p<0.05$）に減少し，7日目まで低値のまま推移した．しかし，その後は漸増し28日目には術前値に復した．

3）血清GOT値の推移

術前値は24.0±1.8単位であり，肝切除後1日目で360.0±105.7単位と有意（$p<0.01$）に上昇したが，その後は漸減し28日目には術前値に復した．

4）血清GPT値の推移

全経過を通じてGOT値とほぼ同様の推移を示したが，常にGPT値>GOT値であった．

5）血清Al-p値の推移

術前値は4.2±0.6単位であり，肝切除後1日目で13.2±0.6単位，3日目で27.0±4.6単位，7日目で15.4±1.7単位と有意（$p<0.01$）に上昇したが，28日目には術前値に復した．

6）血清γ-GTP値の推移

全経過を通じて，変動はみられなかった．

7）血清総ビリルビン値の推移

全経過を通じて，変動はみられなかった．

8）血清総コレステロール値の推移

術前値は131.7±7.4 mg/dlであり，肝切除後1日目で101.7±11.2 mg/dlと有意（$p<0.05$）に低値を示したが，3日目以降ではほぼ術前と同値であった．

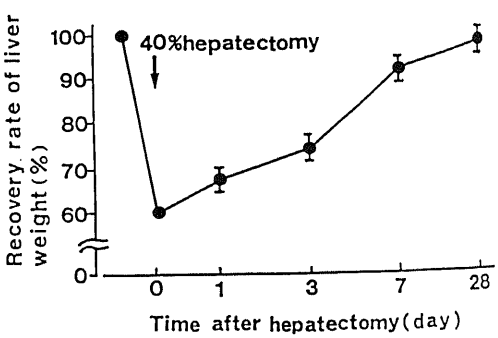

Fig. 3. Change in recovery rate of liver weight during liver regeneration after 40% hepatectomy for dogs. Each value represents the mean±S. E. M. in six to seven dogs.

9）ヘパプラスチンテスト値の推移

術前値は133.5±4.7%であり，肝切除後1日目で53.4±5.0%と有意（p<0.01）に減少した．しかし，その後は急増し7日目以降は術前とほぼ同値であった．

10）血清総胆汁酸値の推移

術前値は2.5±0.4 μM/lであり，肝切除後1日目で21.7±5.8 μM/lと有意（p<0.01）に上昇した．しかし，その後は漸減し28日目には術前値に復した．

11）血清セクレチン値の推移

全経過を通じて，変動はみられなかった．

3．肝胆汁量および胆汁の生化学的検査成績

1）肝胆汁量の推移

体重当たり肝胆汁量の術前値は6.88±0.30 μl/min/kgであり，肝切除後1日目には5.45±0.40 μl/min/kgと減少したが，3日目にはすでに術前値に復した．一方，肝重量当たり肝胆汁量の術前値は23.79±0.96 μl/min/100 g liverであるが，肝切除後1日目より27.87±1.95 μl/min/100 g liverと有意（p<0.05）に増加し，7日目まで高値を維持した．しかし，28日目には術前値に復した（表2，図4）．

2）胆汁のpH値の推移

術前値は8.19±0.03であり，肝切除後1日目で8.33±0.05と有意（p<0.05）に上昇した．その後も3日目で8.28±0.05，7日目で8.26±0.05と有意差を認めないものの高値を示した（表4，図5）．

3）胆汁の浸透圧値の推移

術前値は296±4 mOsm/lであり，肝切除後1日目

Table 1. Changes in serum biochemical components during liver regeneration after 40% hepatectomy in dogs

		Pro-ope.(15)	Time after hepatectomy			
			1 day (6)	3 days (6)	7 days (10)	28 days (8)
T. Protein	(g/dl)	5.8±0.1	4.9±0.1**	4.8±0.3**	5.4±0.2	6.1±0.1
Albumin	(g/dl)	2.3±0.1	1.9±0.1*	1.7±0.1**	1.8±0.1**	2.1±0.1
GOT	(U)	24.0±1.8	360.0±105.7**	90.3±13.6**	49.8±6.7**	28.4±2.6
GPT	(U)	35.0±7.5	588.9±161.2**	364.8±60.2**	138.5±21.6**	35.3±12.3
Al-p	(IU)	4.2±0.6	13.2±0.6**	27.0±4.6**	15.4±1.7**	5.8±1.1
γ-GTP	(IU)	1.7±0.2	3.8±0.3	2.0±0.3	2.4±0.6	2.5±0.5
T-Bilirubin	(mg/dl)	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1
T-Cholesterol	(mg/dl)	131.7±7.4	101.7±11.2*	128.3±13.9	145.5±15.1	154.8±23.9
H.P.T.	(%)	133.5±4.7	53.4±5.0**	72.1±4.6**	126.6±5.4	141.2±13.3
T.B.A.	(μM/ml)	2.5±0.4	21.7±5.8**	18.8±1.8**	8.5±1.2**	3.2±1.0
Secretin	(pg/ml)	89±10	81±11	74±6	74±6	74±7

Each value represents the mean±S.E.M. *Figures in parenthesis* indicate the number of dogs studied at each interval. *, significantly different from the value at pre-operation, p<0.05; **, significantly different the value at value at pre-operation, p<0.01. Pre-ope, pre-operation; T. or T-, total; H.P.T., hepaplastin test; T.B.A., total bile acids.

Table 2. Changes in liver weight, bile flow, bile acid concentration and excretin rate during liver regeneration after 40% hepatectomy in dogs

Time after hepatectomy	Recovery rate of liver weight	Bile flow rate		Bile acid concentration	Bile acid excretion rate	
	%	μl/min/kg body weight	μl/min/100 g liver	μM/ml	nM/min/kg body weight	nM/min/100 g liver
Pre-ope.(10)	—	6.88±0.30	23.79±0.96	36.5±1.7	270.7±43.5	930.3±109.8
1 day (6)	66.1±0.9	5.45±0.40	27.87±1.95*	18.6±1.3**	99.3±14.5**	489.6±73.8**
3 days (7)	74.1±2.1	6.98±0.47	31.84±2.46**	16.3±0.3**	117.2±5.3**	544.5±32.6**
7 days (7)	90.7±1.9	7.62±0.44	29.67±2.15*	27.4±3.7*	234.2±36.9	922.9±152.5
28 days (7)	99.1±3.4	6.34±0.20	22.08±1.72	39.6±4.1	253.6±26.5	854.8±118.6

Each value represents the mean±S.E.M. *Figures* in parenthesis indicate the number of dogs studied at each interval. * & **, refter to Table 1.

で282±4 mOsm/l，3日目で280±1 mOsm/l，7日目で281±4 mOsm/lと有意（$p<0.01$）に減少したが，28日目には術前値に復した（表4，図5）．

4）胆汁中胆汁酸値の推移

総胆汁酸濃度の推移をみると，術前値は36.5±1.7 μM/mlであり，肝切除後1日目には18.6±1.3 μM/mlと有意（$p<0.01$）に低値を示した．しかし，その後は漸増し28日目には術前値に復した（表2，図6）．

体重当たり胆汁酸排泄量の推移をみると，術前値は270.7±43.5 nM/min/kgであり，肝切除後1日目には99.3±14.5 nM/min/kgと有意（$p<0.01$）に減少した．しかし，その後は増加し7日目でほぼ術前値に復した（表2）．

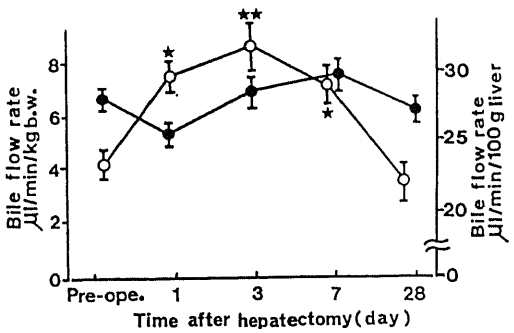

Fig. 4. Change in hepatic bile flow rate during liver regeneration after 40% hepatectomy for dogs. Hepatic bile flow rate: ●—●, μl/min/kg body weight; ○—○, μl/min/100g liver. Each value represents the mean±S. E. M. in four to ten dogs. ★, significantly different from the value at pre-operation, $p<0.05$; ★★, significantly different from the value at pre-operation, $p<0.01$.

肝重量当たり胆汁酸排泄量の推移をみると，体重当たり胆汁酸排泄量の推移と同様の傾向を示し，肝切除後7日目で術前値に復した（表2，図6）．

胆汁酸組成の推移をみると，術前のCAは56.4±3.5%であり，肝切除後1日目で87.0±2.5%と有意に増加し，28日目には術前値に復した．これに対して，DCAの術前値は30.5±2.7%であり，肝切除後1日目で2.7±1.7%と有意に減少し，28日目には術前値に復した．一方，CDCAとUDCAは肝切除前後で有意の変動はみられず，またLCAは全経過を通じて検出されなかった（表3）．

5）胆汁中総コレステロール値の推移

術前値は27.6±2.8 mg/dlであり，肝切除後1日目で39.8±3.3 mg/dlと有意（$p<0.05$）に高値を示したが，3日目以降は術前とほぼ同値であった（表4）．

6）胆汁中総ビリルビン値の推移

全経過を通じて，変動はみられなかった（表4）．

7）胆汁中 Na^+ 値の推移

全経過を通じて，変動はみられなかった（表4，図7）．

8）胆汁中 Cl^- 値の推移

術前値は79.1±3.1 mEq/lであり，肝切除後1日目には93.0±4.7 mEq/lと有意（$p<0.05$）に高値を示した．その後も，3日目で91.4±4.2 mEq/l，7日目で87.3±2.5 mEq/lと有意差を認めないものの高値を維持した（表4，図7）．

9）胆汁中 HCO_3^- 値の推移

術前値は27.5±1.1 mEq/lであり，肝切除後1日目には37.6±1.5 mEp/lと有意（$p<0.01$）に高値を示した．その後も，3日目で38.3±2.5 mEq/l（$p<0.01$），

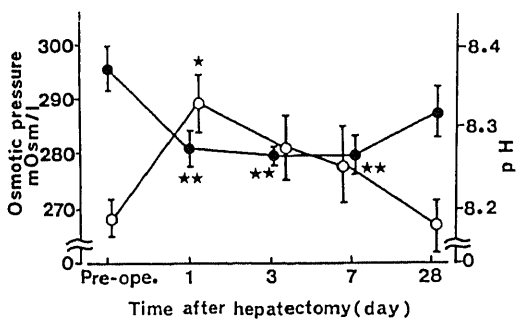

Fig. 5. Changes in osmotic pressure and pH of hepatic bile during liver regeneration after 40% hepatectomy for dog. ●—●, Osmotic pressure; ○—○, pH. Each value represents the mean±S. E. M. in six to fifteen dogs. ★&★★, refer to Fig. 4.

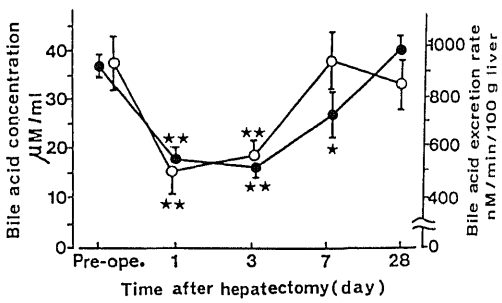

Fig. 6. Changes in bile acid concentration and excretion rate of hepatic bile during liver regeneration after 40% hepatectomy for dogs. ●—●, bile acid concentration; ○—○, bile acid excretion rate. Each value represents the mean ±S. E. M. in six to fifteen dogs. ★&★★, refer to Fig. 4.

7日目で30.9±0.7 mEq/l (p<0.05) と有意に高値を維持したが，28日目には術前値に復した(表4，図7).

4．ICG色素負荷試験成績

1）K値の推移

術前値は0.072±0.003 min^{-1}であり，肝切除後1日目で0.034±0.003 min^{-1}と術前値の約50%にまで減少した．しかし，その後は急速に増加し7日目で術前値に復した（図8）.

2）ICG plasma transfer rate（a値，b値，h値）の推移

術前のa値は0.065±0.003 mg. transfered/mg. content/min(以下，単位省略)，h値は0.059±0.003であり，肝切除後1日目でいずれも術前値の約50%にまで減少した．しかし，その後は急速に増加し7日目で術前値に復した(図8)．これに対して，b値の術前値は0.0017±0.0003であり，肝切除後1日目で0.0005±0.0001と術前値の約30%にまで減少した．しかし，その後は漸増するもその回復は遅延し，28日目でも術前値に復さなかった．(図9).

3）ICG Rmax値の推移

術前値は0.415±0.016 mg/kg/minであり，肝切除後1日目で0.104±0.078 mg/kg/minと術前値の約30%にまで減少した．しかし，その後は漸増するもの

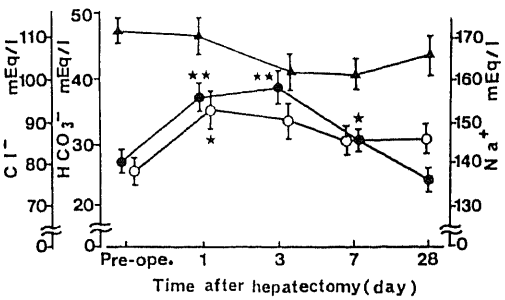

Fig. 7. Changes in bicarbonate (HCO_3^-), chloride (Cl^-) and sodium (Na^+) concentration of hepatic bile during liver regeneration after 40% hepatectomy for dogs. ●—●, HCO_3^-; ○—○, Cl^-; ▲—▲, Na^+. Each value represents the mean±S.E.M. io six to fifteen dogs. ★&★★, refer to Fig. 4.

Table 3. Changes in bile acid composition of hepatic bile during liver regeneration after 40% hepatectomy in dogs

Time after hepatectomy	Bile acid concentration (μM/ml)	Bile acid composition (%)				
		CA	DCA	CDCA	LCA	UDCA
Pre-ope. (10)	36.5±1.7	56.6±3.5	30.5±2.7	13.0±3.8	0	trace
1 day (6)	18.6±1.3	87.0±2.5**	2.7±1.7**	9.8±1.1	0	trace
3 days (7)	16.3±0.3	76.3±4.6**	16.2±3.6**	7.4±2.3	0	trace
7 days (7)	27.4±3.7	81.1±5.3**	9.4±5.3**	9.6±3.7	0	trace
28 days (7)	39.6±4.1	61.0±4.3	30.5±5.5	8.4±3.6	0	trace

Each value represents the mean±S.E.M. *Figures* in parenthesis indicate the number of dogs studied at each interval. CA, cholic acid; DCA, deoxycholic acid; CDCA, chenodeoxycholic acid; LCA, lithocholic acid. * & **, refer to Table 1.

Table 4. Changes in hehatic bile composition during liver regeneration after 40% hepatectomy in dogs

Time after hepatectomy	Bile acid (μM/ml)	Cholesterol (mg/dl)	Bilirubin (mg/dl)	Na^+ (mEq/l)	Cl^- (mEq/l)	HCO_3^- (mEq/l)	pH	Osm. Press (mOsm/l)
Pre-ope. (15)	36.5±1.7	27.6±2.8	56.2±8.0	172.2±3.5	79.1±3.1	27.5±1.1	8.19±0.03	296±4
1 day (6)	18.6±1.3**	39.8±3.3*	59.0±18.3	171.8 ±4.9	93.0±4.7*	37.6±1.5**	8.33±0.05*	282±4**
3 days (6)	16.3±0.3*	36.0±4.0	58.4±9.3	161,8±3.4	91.4±4.2	38.3±2.5**	8.28±0.05	280±1**
7 days (7)	27.4±3.7*	33.3±3.1	71.1±14.7	161.3±3.5	87.3±2.5	30.9±0.7*	8.26±0.05	281±4**
28 days (7)	39.6±4.1	25.5±3.3	54.0±2.7	167.9±3.2	88.0±2.3	25.6±1.1	8.17±0.04	287±5

Each value represents the mean±S.E.M. *Figures* in parenthesis indicate the number of dogs studied at each interval. Osm. Press., osmotic pressure. * & **, refer to Table 1.

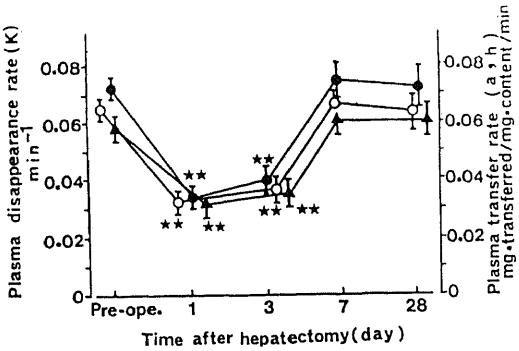

Fig. 8. Changes in plasma disappearance rate (K) and plasma transfer rate (a & h) of ICG during liver regeneration after hepatectomy for dogs. Dose of ICG injected intrvenously : 1mg/kg body weight. ●—●, K ; ○—○, a ; ▲—▲, h. Each value represents the mean±S. E. M. in five to eight dogs. ★★, refer to Fig. 4.

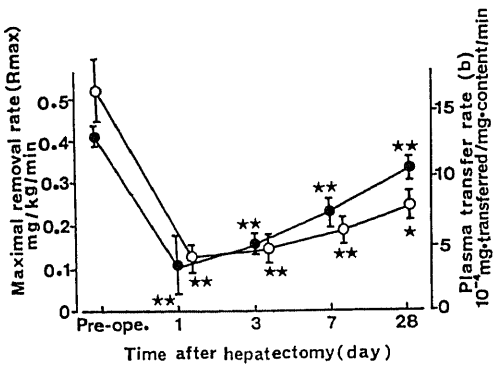

Fig. 9. Changes in plasma transfer rate (b) and maximal removal rate (Rmax) of ICG during liver regeneration after 40% hepatectomy for dogs. Dose of ICG injected intravenously : b, 1mg/kg body weight ; Rmax, 1 and 3mg/kg body weight. ●—●, Rmax ; ○—○, b. Each value represents the mean±S. E. M. in five to eight dogs. ★& ★★, refer to Fig. 4.

のその回復は遅延し，28日目でも術前値には復さなかった（図9）.

4）胆汁中ICG色素排泄開始時間

術前の正常肝では，ICG色素注入後8.5±0.6分でその緑色色素が胆汁中に出現したが，肝切除後3日目では12.6±0.2分と有意($p<0.01$)に延長した．また，7日目では9.8±0.4分と有意差を認めないもののやや延長しており，28日目でほぼ術前値に復した(表5).

5）時間当たりの胆汁中ICG色素排泄量および回収率

術前の正常肝での時間当たりICG色素排泄量は，

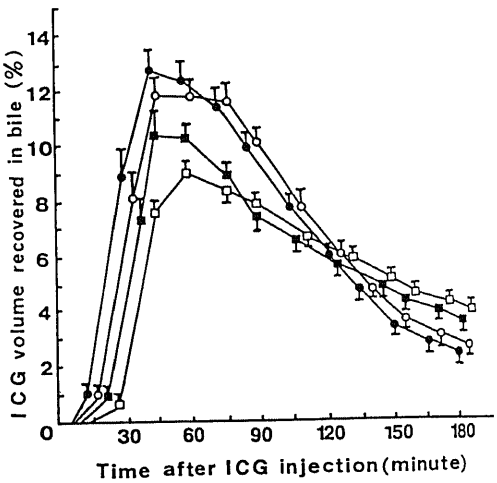

Fig. 10. Changes in ICG volume recovered in hepatic bile after ICG injection. Dose of ICG injected intravenously : 1mg/kg body weight. ●—●, pre-operation ; □—□, 3 days after hepatectomy ; ■—■, 7 days after hepatectomy ; ○—○ 28 days after hepatectomy. Each value represents the mean±S. E. M. in three to five dogs.

Table 5. Changes in starting time and recoverd voluffie (%) of biliary ICG excretion after ICG injection

Time after hepatectomy	starting time (minute)	Recovered volume (%) of ICG		
		1 hr	2 hrs	3 hrs
Pre-ope. (4)	8.5±0.6	34.7±2.5	69.6±4.4	82.6±7.4
3 days (3)	12.6±0.2**	20.2±1.5**	48.9±1.3**	66.7±0.6**
7 days (5)	9.8±0.4	29.2±1.3	56.9±1.3*	72.7±1.3*
28 days (5)	9.2±0.6	32.6±2.4	68.0±2.8	80.9±1.8

Dose of ICG injected intravenously: 1mg/kg body weight. Hepatic bile samples were collected at 15-minute intervals for 3 hours after ICG injection. Each value represents the mean ± S.E.M. *Figures* in parenthesis indicate the number of dogs studied at each interval. * & **, refer to Table 1.

30～45分で最高に達し，以後漸減した．ICG色素回収率は1時間値34.7±2.5%，2時間値69.6±4.4%，3時間値82.6±7.4%であった（表5，図10）．

肝切除後3日目では，時間当たりICG色素排泄量の最大値は正常肝に比べ低値であり，しかも最大値に達するまでの時間は45～60分と延長した．ICG色素回収率でも1時間値20.2±1.5%，2時間値48.9±1.3%，3時間値66.7±0.6%と，いずれも有意（$p<0.01$）に減少した（表5，図10）．

肝切除後7日目では，時間当たりICG色素排泄量の最大値は正常肝に比べ低値であったが，最大値に達するまでの時間は30～45分と回復した．しかし，ICG色素回収率では1時間値29.2±1.3%，2時間値56.9±1.3%（$p<0.05$），3時間値72.7±1.3%（$p<0.05$）と，正常肝に比べ有意に低値を示した（表5，図10）．

肝切除後28日目では，時間当たりICG色素排泄量の最大値およびICG色素回収率は，ともに正常肝とは有意差を認めないものの，やや低値を示した（表5，図10）．

考　　察

従来より，肝切除後の胆汁組成の推移についてはある程度の知見が得られている[2)~4)]．しかし，胆汁の生成・排泄機構に関しての知識が乏しく，この分野の研究は未開拓のまま残されていた．最近，胆汁生成を中心とした物質の肝細胞内摂取，肝細胞内移送および毛細胆管内排泄の機構に関する研究が盛んとなり，多くの知見が得られるに至った．このため，肝切除後の胆汁分泌能に関する研究報告が散見されるようになってきた[5)~8)]．

さて，胆汁生成機構に関する研究の目覚ましい発展の原動力の1つに，エリスリトールやマニトールを用いたクリアランス法による毛細胆管胆汁量測定法の確立があげられる[22)~24)]．すなわち，毛細胆管胆汁量を測定することで，胆汁分泌をその生成部位により肝細胞から生成される毛細胆管胆汁（canalicular bile）と，細胆管およびこれより遠位側胆管から生成される細胆管胆汁（ductular bile）とに分けて論ずることが可能となった．さらに，胆汁酸の定量が可能となった結果，毛細胆管汁には胆汁中胆汁酸排泄量の増加に比例して毛細胆管胆汁量の増加する分画（胆汁酸依存性胆汁分画）と，胆汁酸に依存しない分画（胆汁酸非依存性胆汁分画）とが存在することが明らかにされた[25)~28)]．

胆汁酸依存性毛細胆管胆汁の生成機序としては，胆汁酸の能動輸送に伴う胆汁の浸透圧を等張にもどすための水の受動輸送（いわゆる浸透圧利胆）が主因と考えられている．しかし，胆汁中に存在する胆汁酸のほとんどはミセルを作るため実際にはイオンとしては存在せず，むしろ胆汁酸のcounter cationとして同時に移動するNa^+イオンによる浸透圧利胆の重要性が指摘されている[29)~32)]．一方，胆汁酸非依存性毛細胆管胆汁の生成機序としては，毛細胆管側肝細胞膜に豊富に存在するNa^+-K^+-Adenosine triphosphatase（Na^+-K^+-ATPase）によるNa^+イオンの能動輸送に伴う水の受動輸送が主因と考えられている[25)26)]．

著者は，上述した胆汁生成機構に関するこれまでの知見をもとに，40%肝切除犬を作製して再生肝における胆汁中の胆汁酸や主要電解質の分析を行い，肝切除後の胆汁分泌能の回復過程を胆汁生成機構の面から検討した．また，同時に再生肝におけるICG色素移送の動態を解析し，その回復過程についても検討した．

著者の実験において，肝切除後の一般生化学的検査成績の推移をみると，従来の報告とほぼ一致している[33)~35)]．なお，本実験で得られた成績は，いずれも手術侵襲を含めた成績といえる．そこで，著者は手術侵襲の影響を知るため，単開腹のみを施行して，術後3日目における血清および胆汁の生化学的検査，ICG色素負荷試験を行った．その結果，測定値のいずれもが術前値と有意差を認めないとの結果を得た．したがって，肝切除後3日目以降の成績は手術侵襲の影響はなく，かつ肝切除後の病態を反映しているものと判断している．

以下，本研究を2つの観点から考察を加える．

Ⅰ．再生肝における胆汁分泌能の回復過程について

さて，正常肝であれば，肝切除後早期より残存肝に再生現象がみられることはよく知られた事実である．犬やラットを用いて70%肝切除を行うと，犬では6～8週，ラットでは2～4週で残存肝はもとの重量に復するといわれている[1)36)37)]．著者の40%肝切除犬でも，1週間でもとの重量の約90%，4週間で100%の回復が得られた．また，肝切除後の残存肝では早期より胆汁分泌量が回復することも知られており[2)5)38)]，著者の実験成績でも同様の傾向がみられた．とくに，肝重量当たりの肝胆汁量では，肝切除後1日目より術前値を上回る分泌量を認めたことより，肝切除後早期には胆汁分泌能が亢進しているといえる．

一方，肝切除後早期の胆汁酸代謝について，胆汁中胆汁酸排泄量の減少（ただし，胆汁酸組成比ではコール酸が優位となる），血中総胆汁酸値の上昇，尿中胆汁酸排泄量の増加がみられたとの報告がある[7)]．この場合，血中総胆汁酸値上昇の主因は胆汁酸の肝細胞内摂取能の低下によるものであり，その結果，尿中への胆汁酸排泄量が増加すると考えられている．著者の実験成績でも，肝切除後1日目には体重および肝重量当た

りの胆汁中胆汁酸排泄量はいずれも有意に減少し，血中総胆汁酸値も有意に上昇した．

このように，肝切除後の再生肝での肝胆汁量と胆汁中胆汁酸排泄量の推移をみると，肝切除後早期には胆汁中胆汁酸排泄量が減少しているにも拘らず，肝胆汁量はほぼ術前値のレベルにまで回復しているのがわかる．この現象に対して，Uesugi ら[5]は胆汁酸排泄量を横軸に，肝胆汁量を縦軸にプロットした場合，肝切除後早期ではその回帰直線の勾配が術前値に比べ大きくなること，さらに胆汁酸排泄量零を外挿した場合の肝胆汁量（y 切片）は肝切除後に減少することを指摘し，肝切除後早期の胆汁分泌量増加は胆汁酸非依存性胆汁分画によるものではなく，胆汁酸の単位排泄当たりの胆汁生成量（利胆効率）が肝切除後で大きくなるためであろうと推論している．この利胆効率の差に伴う胆汁量増加現象は，胆汁中胆汁酸濃度が臨界ミセル化濃度[39]以下に減少した場合や，胆汁中でミセルを作り難い胆汁酸が出現した場合にみられる[40]．これは，ミセルを形成しないで解離した胆汁酸が胆汁中でイオンとして存在し，その結果，浸透圧への貢献度が高くなるためであろうと理解されている．しかし，肝切除後早期の胆汁酸濃度は減少するものの，決して臨界ミセル化濃度以下にはならないし[5)40]，また著者のガスクロマトグラフィー法による胆汁酸組成の分析結果からでも，肝切除に伴い胆汁中でミセルを作り難い胆汁酸が急速に増加したとは考えにくい．このことより，肝切除後早期の胆汁分泌量の増加現象を胆汁酸の利胆効率の差でもって説明するには無理があると思われた．

いずれにしても，著者の実験成績をみると，肝切除後早期には 1）胆汁中胆汁酸排泄量が減少したこと，2）胆汁酸の counter cation として同時に移動し，また Na^+-K^+-ATPase によってもくみ出される Na^+ イオンの胆汁中濃度の増加がみられなかったこと，3）胆汁浸透圧が有意に低下したこと，は明らかである．したがって，胆汁酸依存性胆汁分泌は胆汁量増加を左右するまでには至っていないものと考えられた．

さて，細胆管は胆汁分泌機能と同時に水や電解質などの再吸収を営む機能を有し，毛細胆管胆汁を修飾して肝胆汁を作るといわれている．この細胆管では，セクレチン刺激により胆汁分泌能が亢進して胆汁量が増加する（セクレチン利胆）ことが知られている[41)~44)]．これは，胆汁酸による浸透圧利胆はエリスリトールやマニトールのクリアランス値（毛細胆管胆汁量）を増加させるが，セクレチンによる利胆では両物質のクリアランス値には変動がみられないとの実験結果に基づくものである[22)24)]．このセクレチン利胆時には，胆汁中へ HCO_3^-，Cl^-，Na^+ などの電解質排泄が増加し，とりわけ HCO_3^- 濃度の上昇が特徴的であるのに比べ，胆汁酸やビリルビン濃度は胆汁量増加に伴う相対的希釈により低値を示すといわれる．

ところで，セクレチンの利胆反応に類似した現象は，胆管拡張例や閉塞性黄疸に胆道感染が加わった場合，さらには閉塞性黄疸の解除後にもしばしばみられることが報告されている[45)~49)]．Preisig ら[45]は，胆汁流量と胆汁中総胆汁酸排泄量の回帰直線が黄疸患者（すなわち胆管拡張例）では上方に平行移動する事実から，胆汁酸に依存しない胆汁分泌が黄疸患者で増加すると結論し，その上さらに胆汁中 HCO_3^- や Cl^- の排泄量が増加することから，細胆管レベルでの胆汁分泌が亢進するためと推論している．著者の実験成績においても，肝切除後早期の胆汁量増加時には胆汁中胆汁酸排泄量および胆汁酸濃度は減少したが，胆汁中 HCO_3^- と Cl^- の排泄量および濃度は有意に増加した．また，胆汁中胆汁酸排泄量が術前値に復した肝切除後 7 日目でも，胆汁中胆汁酸濃度は胆汁量増加に伴う相対的希釈のため低値を示していた．これらの成績は，セクレチンによる利胆反応と極めて類似している．したがって，著者は Preisig ら[45]の推論と同様，肝切除後早期の胆汁分泌量を左右する因子は，主として細胆管レベルでの胆汁分泌亢進によるものであろうとの結論に達した．しかも，この胆汁分泌亢進は肝重量回復（すなわち形態的肝再生）の推移にほぼ一致してみられたことが注目される．ただし，この結論をさらに直接的に証明するには，エリスリトールやマニトールのクリアランス値を測定すべきことはいうまでもない．

このように，肝切除後早期の胆汁分泌量増加の原因を細胆管レベルでの胆汁分泌能亢進に求めることはできたが，つぎに，その刺激因子が一体何であるかが問題となる．これまでに，セクレチンと類似の利胆作用をもつものとして，コレシストキニン－パンクレオザイミン[50)51)]，セルレイン[51)]，ガストリン[51)52)]，vaso-active intestinal peptide[53)]，グルカゴン[54)]など種々の消化管ホルモンが知られており，これらは食物摂取刺激時に観察される細胆管胆汁の分泌亢進に重要な役割を演じていることが指摘されている[55)56)]．このほか，プロスタグランディン E_2 にもセクレチンと類似した利胆作用を有することが実験的に証明されており[57)]，利胆剤として使用した臨床報告例が散見される[58)59)]．このプロスタグランディン E_2 は肝切除後の肝再生の引き金物質の 1 つとしても注目されており[60)~62)]，肝切除後の再生肝での胆汁分泌を論ずるうえで非常に興味ある物質である．

著者の今回の実験成績からでは，末梢血液中のセクレチン濃度は肝切除前後で有意差はみられなかった．

ただし，門脈血中のセクレチン濃度の測定がなされていないので，セクレチン利胆の関与の有無については現在のところ言及できない．しかし，現時点での著者の考えを述べると，肝切除後の肝再生に関与するといわれるプロスタグランディンE_2やグルカゴンはもとより，上述した種々の消化管ホルモンなど複数の因子が複雑に絡み合って細胆管レベルに作用し，胆汁分泌亢進を招来するのであろうと推察している．

II．再生肝における ICG 色素移送能の回復過程について

ICG 色素は，静脈内に投与されると，速やかに肝細胞内に取り込まれ高率に胆汁中へ排泄されるため，広く肝機能検査法の1つとして用いられてきた．とくに，本色素は肝外摂取および肝外排泄を認めず，抱合型を作らず腸肝循環もないことから[63)~65)]，肝の色素移送の解明にも有用な色素と考えられている．榎本ら[66)]，金井[67)]，浪久ら[68)]は，ICG 色素静注後の血漿消失曲線を解析し，血漿および肝の two compartment system を設置することにより，$Ct=Ae^{-K_1 \cdot t}+Be^{-K_2 \cdot t}$ が成立し，この式より求めた plasma transfer rate（a 値，b 値，h 値）は ICG 色素の肝細胞内摂取能や肝細胞から毛細胆管内への排泄状態，すなわち肝細胞膜の機能をよく反映すると報告している．浅野ら[69)]や清水ら[70)]も，肝機能障害を有する症例，とくに閉塞性黄疸症例に対し肝の機能的予備能の指標の1つとして plasma transfer rate の測定を行い，障害肝の病態解明に役立ててきたことを報告している．

さて，肝切除後の残存肝では，形態的肝再生に比べ機能的肝再生が遅延することがよく知られている．著者の実験成績でも，機能的肝細胞量を表わすとされている ICG Rmax 値（機能的肝再生の指標）の回復は，肝重量（形態的肝再生の指標）の回復に比べ遅延するという結果を得ている．そこで，著者は肝切除後の機能的肝再生の過程を，再生肝における ICG 色素移送能の面から検討した．

まずK値の推移をみると，肝切除後1日目には肝細胞数の減少に伴いK値も減少したが，その後は漸増し肝切除後7日目には術前値に復した．これは，肝重量回復率の推移とほぼ同様の傾向を示した．すなわち，肝切除後のK値の推移は再生肝の肝重量とよく相関するものであり，この成績は藤本ら[71)]の報告と一致するものであった．また，a 値や h 値についてもK値とほぼ同様の推移を示しており，肝切除後7日目には ICG 色素の類洞側肝細胞膜での摂取能および毛細胆管側肝細胞膜での排泄能は，ほぼ術前値のレベルにまで回復したものと推察される．これに対して，b 値は ICG Rmax 値と同様の推移を示しており，a 値や h 値に比べその回復は遅延し，肝切除後 28 日目でも術前値より低値を示していた．

一方，ICG 色素の胆汁中排泄動態の推移をみると，肝切除後7日目では ICG 色素の胆汁中排泄開始時間は術前値に比べ有意差を認めないがやや延長しており，また，ICG 色素の時間当たり最大排泄量の減少や回収率の低下が有意に認められた．このことは，ICG 色素の胆汁中排泄動態からみれば，肝切除後7日目でもまだ ICG 色素の胆汁中排泄遅延が存在したことになる．

ところで，前述したように，肝切除後7日目には胆汁中胆汁酸排泄量は術前値に復しており，胆汁酸依存性胆汁分泌能はほぼ回復していることが予想される．このことより，胆汁酸依存性を示すと考えられている ICG 色素の毛細胆管内排泄能も[72)]，肝切除後7日目にはほぼ回復していると推察される．これは，肝切除後7日目で h 値が術前値に復したこととも一致するものである．したがって，肝切除後7日目で ICG 色素の類洞側肝細胞膜での摂取能および毛細胆管側肝細胞膜での排泄能がほぼ術前値のレベルに回復したにも拘らず，時間当たり胆汁中最大排泄量の減少および回収率の低下が認められた原因として，著者は，ICG 色素の肝細胞内での移送能の回復遅延が第一義であると考えている．また，b 値の回復遅延は ICG 色素の肝細胞内での移送能の回復遅延を反映しているとも推察でき，このことは，b 値の低下は肝細胞そのものの機能低下を反映するとした佐々木[73)]，浅野[74)]の実験成績とも一致するものであった．

結　　論

著者は，肝切除後の再生肝における胆汁分泌能ならびに ICG 色素移送能の回復過程を知る目的で，40%肝切除犬を作製し，経時的に胆汁中の胆汁酸，ビリルビン，電解質成分など，胆汁組成の変動について検索を行い，ICG 色素の血漿消失および胆汁中排泄の動態を解析した．その結果，以下の成績を得た．

1．肝切除後の残存肝重量の回復率をみると，7日目で約 90%，28 日目で 100%の回復が得られた．

2．肝重量当たりの肝胆汁量は，肝切除後1日目より術前値を上回る分泌量を示した．また，体重当たりの肝胆汁量は3日目に術前値に復した．

3．末梢血中セクレチン濃度は肝切除後で変動をみなかったが，胆汁浸透圧は肝切除後1日目より有意に低下し，胆汁 pH 値は1日目より有意に上昇した．この傾向は7日目までみられた．一方，胆汁中 Na^+値は全経過を通じて変動しなかったのに対し，HCO_3^-値と Cl^-値は肝切除後1日目より有意に上昇した．

4．血清総胆汁酸値は，肝切除後1日目で著明に上昇したが，以後漸減し28日目には術前値に復した．一方，胆汁中胆汁酸排泄量の推移をみると，体重および肝重量当たりともに有意に減少し，7日目で術前値に復した．しかし，胆汁酸濃度は7日目でも胆汁量増加に伴う相対的希釈のため低値を示した．

5．血清ビリルビン値および胆汁中ビリルビン値は，全経過を通じて変動はみられなかった．

6．ICGによる色素移送能の推移をみると，ICG Rmax値（機能的肝再生）の回復は，肝重量（形態的肝再生）の回復に比べ著しく遅延した．K値，a値およびh値は，いずれも肝切除後1日目より切除量にほぼ比例して減少したが，7日目で術前値に復した．しかし，b値の回復は遅延し，28日目でも術前値より低値を示した．一方，ICG色素の時間当たり胆汁中最大排泄量および回収率は，肝切除後7日目でも術前値より有意に低値を示した．

以上より，肝胆汁量は肝切除後早期より回復したが，その胆汁量を左右するのは主として細胆管レベルでの胆汁分泌能亢進によるものであり，またICG色素移送能の面からみると，ICG色素の類洞側肝細胞膜での摂取能および毛細胆管側肝細胞膜での排泄能に比べ，肝細胞内移送能の回復はかなり遅延することが示された．すなわち，肝切除後ではみかけ上胆汁分泌能が回復しているようにみえても，潜在的胆汁分泌障害は残っているものと結論された．

謝　辞

稿を終るに臨み，御指導，御校閲を賜った恩師宮崎逸夫教授に深甚なる謝意を捧げます．また，終始直接御教示を戴いた金沢大学医療技術短期大学部の永井宅和教授に篤く感謝の意を表します．

なお，本論文の要旨は，第26回日本消化器病学会大会（昭和59年10月，千葉市）および第85回日本外科学会総会（昭和60年4月，仙台市）において発表した．

文　献

1）**Pack, G. T., Islami, A. H., Hubbard, J. C. & Brasfield, R. D.**: Regeneration of the human liver after major hepatectomy. Surgery, **52**, 617-623 (1962).

2）**Kijima, K.**: An experimental study on bile excretion in regenerated liver. Arch. Jpn. Chir., **35**, 224-252 (1966).

3）**Leong, G. F., Pessotti, R. L. & Brauer, R. W.**: Liver function in regenerating rat liver. $CrPO_4$ colloid uptake and bile flow. Amer. J. Physiol., **197**, 880-886 (1959).

4）**Klaassen, C. D.**: Comparison of the effects of two-thirds hepatectomy and bile duct ligation on hepatic excretory function. J. Pharmacol. Exp. Ther., **191**, 25-31 (1974).

5）**Uesugi, T., Bognacki, J. & Levine, W. G.**: Biliary excretion of drugs in the rat during liver regeneration. Biochem. Pharmacol., **25**, 1187-1193 (1975).

6）**市川博和・山中功二・横田　峻・林　雅造・樋口章夫・水本龍二・本庄一夫**：再生肝における胆汁分泌機序．肝臓，18, 128 (1977).

7）**深野　茂**：肝切除ラットの胆汁酸代謝に関する実験的研究．神大医紀，**40**, 91-103 (1979).

8）**Sanz, A., Zamora, S., Lopez, M. A. & Esteller, A.**: Relative changes in bile secretion during rat liver. Rev. esp. Fisiol., **39**, 455-460 (1983).

9）**水野映二・仁科甫啓・北村元仕**：血清総蛋白定量法の改良．臨床病理，**19**, 427-430 (1971).

10）**Doumas, B. T., Watson, W. A. & Biggs, H. G.**: Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. Clin. Chim. Acta, **31**, 87-96 (1971).

11）**日本消化器病学会肝機能研究会**：血清トランスアミナーゼ測定標準操作法補遺．医学のあゆみ，**69**, 577-579 (1969).

12）**渡辺賢誠・津田登代子・北村元仕**：血清アルカリホスファターゼ測定法．臨床病理，**15**, 708-712 (1967).

13）**Szasz, G.**: Reaction-rate method for γ-glutamyltransferase activity in serum. Clin. Chem., **22**, 2051-2055 (1976).

14）**Jendrassik, L. & Cleghorn, R. A.**: Photometrische Bilirubinbestimmung. Biochem. Z., **289**, 1-14 (1936).

15）**Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S. G., Richmond, W. & Fu, P. C.**: Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin. Chem., **20**, 470-475 (1974).

16）**Schwarz, P., Bergmann, K. & Paumgertner, G.**: A simple method for the estimation of bile acids in serum. Clin. Chim. Acta, **50**, 197-206 (1974).

17）**南部勝司・黒田博之・浪久利彦・大浜宏文・前田稔**：Ursodeoxycholic acidによるコレステロール系胆石の溶解機序と血清胆汁酸の定量分析について．日消病会誌，**75**, 1768-1780 (1978).

18）**岩渕仁寿**：各種消化管疾患における胆嚢胆汁の胆汁酸の組成．日消病会誌，**75**, 869-881 (1978).

19) **斉藤正行**：超微量血液ガス分析器の日常検査への利用．臨床検査，**1**, 49-55 (1957).

20) **Barber-Riley, G., Goetzee, A. E., Richards, T. G. & Thomson, J. Y.**: The transfer of bromsulphthalein from the plasma to the bile in man. Clin. Sci., **20**, 149-159 (1961).

21) **Lineweaver, H. & Burk, D.**: The determination of enzyme dissociation constants. J. Am. Chem. Soc., **56**, 658-666 (1934).

22) **Forker, E. L.**: Two sites of bile formation as determined by mannitol and erythritol clearance in the guinea pig. J. Clin. Invest., **46**, 1189-1195 (1967).

23) **Forker, E. L.**: Bile formation in guinea pigs: analysis with inert solutes of graded molecular radius. Am. J. Physiol., **215**, 56-62 (1968).

24) **Wheeler, H. O., Ross, E. D. & Bradley, S. E.**: Canalicular bile production in dogs. Am. J. Physiol., **214**, 866-874 (1968).

25) **Berthelot, P., Erlinger, S., Dhumeaux, D. P. & Preaux, A.**: Mechanism of phenobarbital-induced hypercholeresis in the rat. Am. J. Physiol., **219**, 809-813 (1970).

26) **Erlinger, S., Dhumeaux, D. P., Berthelot, P. & Dumont, M.**: Effect of inhibitors of sodium transport on bile formation in the rabbit. Am. J. Physiol., **219**, 416-422 (1970).

27) **Wheeler, H. O.**: Secretion of bile acids by the liver and their role in the formation of hepatic bile. Arch. Intern. Med., **130**, 533-541 (1972).

28) **Boyer, J. L. & Bloomer, J. R.**: Canalicular bile secretion in man: studies utilizing the biliary clearance of [^{14}C] -mannitol. J. Clin. Invest., **54**, 773-784 (1974).

29) **Sperber, I.**: Secretion of organic anions in the formation of urine and bile. Pharmacol. Rev., **11**, 109-134 (1959).

30) **Blitzer, B. L. & Boyer, J. L.**: Cellular mechanism of bile formation. Gastroentelology, **82**, 346-357 (1982).

31) **木谷健一**：胆汁分泌機構．胆と膵，**1**, 1199-1206 (1980).

32) **木谷健一・金井節子**：胆汁分泌機構－新旧の概念の比較と二三の私見－．治療学，**6**, 769-776 (1981).

33) **水本龍二・大沢二郎**：肝切除後の長期管理．外科治療，**32**, 396-404 (1975).

34) **Aronsen, K. F. & Ericsson, B.**: Metabolic changes following partial hepatectomy in dogs. Acta. Chir. Scand., **134**, 282-286 (1968).

35) **Mochinaga, N.**: Lipid Metabolism in partially hepatecto mized dogs and effect of hepatic periarterial neurectomy. Jpn. J. Surg., **11**, 115-123 (1981).

36) **Higgins, G. H. & Anderson, R. M.**: Experimental pathology of the liver. Arch. Pathol., **12**, 186-202 (1931).

37) **Bucher, N. L. R. & Glinos, A. D.**: The effect of age on regeneration of rat liver. Cancer Res. **10**, 324-33 (1950).

38) **Klaassen, C. D.**: The effect of altered hepatic function on the toxicity, plasma disappearance and biliary excretion of diethylstilbestrol. Toxicol. Appl. Pharmacol., **24**, 142-149 (1973).

39) **Carey, C. M. & Small, D. M.**: Micelle formation by bile salts, physical-chemical and thermodynamic considerations. Arch. Intern. Med., **62**, 608-615 (1963).

40) **木谷健一**：胆汁酸依存胆汁と胆汁酸非依存胆汁．医学のあゆみ，**108**, 275-281 (1979).

41) **Wheeler, H. O. & Mancusi-Ungaro, P. L.**: Role of bile ducts during secretin choleresis in dogs. Am. J. Piysiol., **210**, 1153-1159 (1966).

42) **Preisig, R., Cooper, H. L. & Wheeler, H. O.**: The relationship between taurocholate secretion rate and bile production in the unanesthetized dog during cholinergic blockade and during secretion administration. J. Clin. Invest., **41**, 1152-1162 (1962).

43) **Waitman, A. M., Dyck, W. P. & Janowitz, H. D.**: Effect of secretion and acetazolamide on the volume and electrolyte composition of hepatic bile in man. Gastroenterology, **56**, 56, 286-294 (1969).

44) **Larsem, J. A. & Krarup, N.**: The effect of secretin on bile production, splanchnohepatic hemodynamics and liver function in cats. Acta Physiol. Scand., **102**, 420-424 (1978).

45) **Preisig, R., Bucher, H., Stirnemann, H. & Tauber, J.**: Postoperative choleresis following bile duct obstruction in man. Rev. Franc. Etuces. Clin. etBiol., **14**, 151-158 (1969).

46) **Turnberg, L. A., Jones, E. A. & Sherlock, S.**: Biliary secretion in a patient with cystic dilatation of the intrahepatic biliary tree. Gastroenterology, **54**, 1155-1161 (1968).

47) **斉藤信義・吉田全准**：術後胆汁分泌の検討－Tibbling 法による mannitol clearance の測定．医学

のあゆみ，**110**, 225-228 (1979).

48) 白川洋一・玉熊正悦：胆道閉塞解除後の胆汁分泌．医学のあゆみ，**115**, 911-919 (1980).

49) 岩永昌敏：閉塞性黄疸に関する実験的研究．十全医会誌，**92**, 610-625 (1983).

50) Thulin, L.: The choleretic effect of pure natural cholecystokinin in dogs. Acta Chir. Scand., **139**, 635-640 (1973).

51) Jones, R. S. & Grossman, M. I.: Choleretic effects of cholecystokinin gastrin II and caelurein in the dogs. Am. J. Physiol., **219**, 1014-1018 (1970).

52) Zaterka, S. & Grossman, M. I.: The effect of gastrin and histamine on secretion of bile. Gastroenterology, **50**, 500-505 (1966).

53) Makhlouf, G. M., Yau, W. M0, Zfass, A. M., Said, S. I. & Bodanszky, M.: Comparative effects of synthetic and natural vasoactive intestinal peptide on pancreatic and biliary secretion and on glucose and insulin blood levels in the dog. Scand. J. Gastroentertol., **13**, 759-765 (1978).

54) Russell, T. R., Searle, G. L. & Jones, R L.: The choleretic mechanisms of sodium taurocholate, secretin and glucagon. Surgery, **77**, 498-504 (1975).

55) Jones, R. S. & Grossman, M. I.: The choleretic response to feeding in dog. proc. Soc. Exp. Biol. Med., **132**, 708-711 (1969).

56) Strasberg, S. M., Ilson, R. G., Siminovitch, K. A., Brenner, D. & Palaheimo, J. E.: Analysis of the components of bile flow in the rhesus monkey. Am. J. Physiol., **228**, 115-121 (1975).

57) Krarup, N., Larsem, J. A. & Munck, A0: Secretin-like choleretic effect of prostaglandins E_1 and E_2 in cats. J. Physiol., **254**, 813-820 (1976).

58) Hirzig, J.: Prostaglandin E_2-A potent choleretic drug in congenital biliary atresia. 16th annual Meeting of Pacific Association of Pediatric Surgeons. Abstracts, p150, Fukuoka, 1983.

59) 岩渕　真・内藤真一・大沢義弘・山下芳朗・松田由紀夫・内藤万砂文・松浦恵子・八木　実：利胆剤の使用と術後の胆汁流出－プロスタグランディンE_2の利胆効果について－．小児外科，**16**, 801-805 (1984).

60) Miura, Y. & Fukui, N.: Pleiotypic responses of regenerating liver. Adv. Enz. Reg., **14**, 393-405 (1976).

61) 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).

62) Rixon, R. H. & Whitfield, J. F.: An early mitosis-determining event in regenerating rat liver and its possible mediation by prostaglandins or thromboxane. J. Cell. Physiol., **113**, 281-288 (1982).

63) Wheeler, H. O., Cranston, W. I. & Meltzer, J. I.: Hepatic uptake and biliary excretion of indocyanine green in the dog. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **99**, 11-14 (1958).

64) Cherrick, G. R., Stein, S. W., Leevy, C. M. & Davidson, C. S.: Indocyanine green: Observations on its physical properties, plasma decay and hepatic extraction. J. Clin. Invest., **39**, 592-600 (1960).

65) Rapaport, E., Ketterer, S. G. & Wiegand, B. D.: Hepatic clearance of indocyanine green. Clin. Res., **7**, 289-290 (1959).

66) 榎本浩昌・井上喜美雄・増田武弘・溝口とく子・中沢幸胤：ICG 血中消失曲線に関する研究．診療と新薬．**6**, 1035-1040 (1969).

67) 金井卓也：肝の Indocyanine green (ICG)移送に関する臨床的研究．日消会誌，**69**, 228-243 (1972).

68) 浪久利彦・稲見義明・南部勝司：ビリルビン代謝および移送．医学のあゆみ，**86**, 484-489 (1973).

69) 浅野栄一・永川宅和・宮崎逸夫：閉塞性黄疸と ICG plasma transfer rates. 日消会誌，**78**, 2351-2356 (1981).

70) 清水康一・浅野栄一・東野義信・佐久間寛・滝　邦和・高田道明・倉知　圓・永川宅和・宮崎逸夫：ICG Rmax, ICG plasma transfer rates 測定併施症例の検討．薬理と治療，**10**, 69-74 (1982).

71) 藤本隆敏・武田博士・大下　勝・山岡義生・小沢和恵・本庄一夫：肝 ICG 摂取機構の解析－肝の機能的予備力判定の一助として－．ICG 研究会講演集，15-21 頁，第一製薬株式会社，1976.

72) 土佐征英・小笠原孟史・勝馬芳徳・堀土雅秀・上田　敬・岡上　武・奥野忠雄・瀧野辰郎：ICG の肝摂取，排泄に及ぼす胆汁酸の影響－肝小葉レベルでの検討－．肝臓，**25**, 742-748 (1984).

73) 佐々木紘昭：閉塞性黄疸に関する実験的研究－とくに，肝細胞機能障害を中心として－．十全医会誌，**87**, 1-17 (1978).

74) 浅野栄一：閉塞性黄疸に関する実験的研究－黄疸遷延因子の追求，とくに胆道感染について－．十全医会誌，**87**, 497-517 (1978).

Experimental Study on the Recovery Process of Bile Excretion and Indocyanine Green Transport during Liver Regeneration after Partial Hepatectomy

Tetsuo Ohta, Department of Surgery (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 – J. Juzen Med. Soc., **94**, 525–539 (1985)

Key words: hepetectomy, liver regeneration, bile excretion, bile acid, indocyanine green transport

Abstract

The present study was pursued to examine the recovery process of bile excretion and indocyanine green (ICG) transport during liver regeneration after partial hepatectomy. Forty per cent hepatectomy was carried out on mongrel dogs weighting 10 to 13 kg. On the lst, 3rd, 7th, and 28th days after hepatectomy, the bile flow and chemical composition of hepatic bile were examined. Furthermore, ICG test was done at each interval. The bile flow rate per unit body weight slightly decreased on the 1st day and rapidly returned to preoperative level on the 3rd day, while the bile flow rate per unit liver weight increased significantly on the 1st day and remained high till the 7th day. The osmotic pressure of bile decreased and the pH of bile tended to be alkaline for the first 7 days after hepatectomy. Among the changes in electrolytes of bile the sodium ion concentration showed no appreciable changes at each interval, while the bicarbonate and chloride ion concentration showed a moderate increment for the first 7 days after hepatectomy. The total bile acid concentration in serum increased significantly on the 1st day and returned to preoperative level on the 28th day. In contrast, the biliary acid excretion rate decreased significantly on the lst day but rapidly returned to preoperative level on the 7th day. The bile acid concentration in bile on the 7th day, however, showed a lower level than that at preoperation due to relative dilution of the increased bile flow. The K-value representing the plasme disappearnce rate of ICG, the a-value representing the transfer rate of ICG from plasma to liver and the h-value repersenting the transfer of ICG from liver to bile decreased nearly in proportion to loss of liver mass on the lst day and returned to preoperative level on the 7th day. The b-value representing the rate of ICG from liver to plasma and the Rmax-value representing the maximal removal rate of ICG also decreased on the 1st day and thereafter gradually increased, but did not return to preoperative level even on the 28th day. The maximal excretion rate and recovery volume of ICG in bile on the 7th day showed a lower level than those at preoperation. These results indicate that the bile flow rate is recovered in the early period mainly due to the increment of ductular bile fraction, and that the recovery of intracellular transport of ICG after hepatectomy is fairly delayed compaired with that of hepatic uptake and biliary excretion of ICG. From the above, it is suggested that a latent disturbance of bile excretion still remains even at the period of apparent recovery of the bile flow rate after heatectomy.