黄疸肝切除後の肝再生に関する実験的研究(特に核酸蛋白代謝について)

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/2297/8840

金沢大学十全医学会雑誌　第89巻　第3号　382－402　(1980)

黄疸肝切除後の肝再生に関する実験的研究
(特に核酸蛋白代謝について)

金沢大学第二外科教室（主任：宮崎逸夫教授）
楊　伯仁

(昭和55年5月29日受付)

本論文の要旨は，第15回日本消化器外科学会総会に於いて発表した。

近年，肝切除の手術手技並びに術後管理技術の向上によって，広範肝切除術が広く行なわれるようになり，胆嚢癌，肝門部癌などの黄疸を伴う患者に対しても肝切除を必要とする機会が増えつつある[1)2)]．このような閉塞性黄疸肝に対する肝切除限界に関しては未解決の問題が多く，残存肝の機能を解明することは重要な課題である．

肝切除後の病態に関しては先ず1931年Higgins及びAnderson[3)]が簡易なラット肝大量切除法を紹介した以後，数多くの研究結果が報告されている．すなわち肝葉の一部を切除すると残存肝では肝細胞増殖促進物質と抑制物質のバランスが失われ，DNA合成，RNA合成，蛋白合成などが盛んとなり，肝細胞の分裂が著しく亢進し[4)]，ミトコンドリアの機能亢進が関与していることが判明した[5)6)]．一方，胆汁うっ滞による黄疸肝では，ビリルビン又は胆汁酸により，肝ミトコンドリア膜が強く障害され，肝ミトコンドリア機能は低下すると報告されている[7)~11)]．しかしこのような黄疸肝に肝切除を加えた際の残存肝の再生については，いまだ不明な点が多く，特に残存肝における核酸，蛋白合成能と肝機能の経時的推移に関する報告はみられない．

そこで著者は閉塞性黄疸肝切除後の残存肝における再生状態，肝細胞機能を把握するため，閉塞性黄疸ラットを作成し，70％肝切除を行い，肝再生の急性期[4)]における残存肝の肝内核酸，蛋白含量を経時的に測定し，また^{3}H－Thymidine，^{3}H－Leucineを用いて，肝DNA合成活性，肝蛋白合成活性を測定した．更に黄疸肝切除前後の肝組織標本を作成し，肝細胞再生の状態を検討した．又，血液一般肝機能検査及びビタミンK_1負荷ヘパプラスチンテストなどの臨床的検査により，肝切除後の残存肝機能を検討するとともに，更に血清ミトコンドリアGOTを測定し，肝ミトコンドリア機能との関連性を検討した．その結果，閉塞性黄疸肝切除後の残存肝における核酸，蛋白合成能及び肝細胞機能面で興味ある知見を得たので報告する．

材料および方法

1．実験動物

実験動物として，体重230～330gの雄性ウイスター系ラットを用い，室温25±1℃，湿度55±5％の環境下に自動給水，CRF－1固型飼料で飼育した．実験動物群の作成は術前約24時間の絶食後，エーテル麻酔により，表1の如く，次の実験動物群を作成した．

1）　正常肝切群：まず単開腹を行い，単開腹後7日目迄を術前，7日目に肝切除を行ないその後を術後とした．肝切除はHiggins-Andersonの方法により，約70％の肝切除を行なった．

2）　黄疸群：まず総胆管を2重結紮し，総胆管及び肝十二指腸間膜を切離することにより閉塞性黄疸を作成し，作成後7日目に単開腹を行なった．単開腹前を術前とし，単開腹後を術後とした．

3）　黄疸肝切群：以上と同様に閉塞性黄疸を作成し，作成後7日目に肝切除を行なった．肝切除前を術前とし，肝切除後を術後とした．

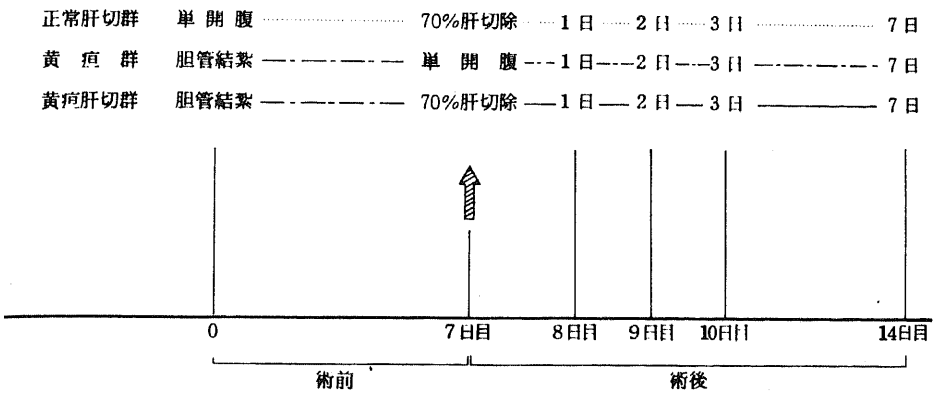
以上3群の何れも感染及び癒着を予防するため，術中にAmpicillin100㎎を腹腔内に注入した．実験動物群作成後，以下の検索を行なった．

2．血液一般肝機能検査

無処置群と正常肝切群，黄疸群，黄疸肝切群の術前及び術後の1日，3日，7日目に，前日から約24時間

A Study of Liver Regeneration after Partial Hepatectomy in Jaundiced Rats, with Special Reference to Nucleic Acid and Protein Synthesis. **Po Ren Yang,** Department of Surgery II, (Director: Prof. I. Miyazaki), School of Medicine, Kanazawa University.

表1　実験動物作成



絶食後，エーテル麻酔下で開腹し，速やかに腹大動脈より採血を行い，以下の検査に供した．

1）　血清総ビリルビン値（Jendrassik-Cleghorn法）

2）　血清総蛋白量（Biuret法）

3）　蛋白分画（電気泳動法，セルローズアセテート膜）

4）　血清 Glutamic oxaloacetic transaminase 活性値（UV法）：以下 GOT と略す．

5）　血清 Glutamic pyruvic transaminase 活性値（UV法）：以下 GPT と略す．

6）　血清 Alkaline phosphatase 活性値（Kind－King法）：以下 ALP 値と略す．

3．肝の組織学的検査

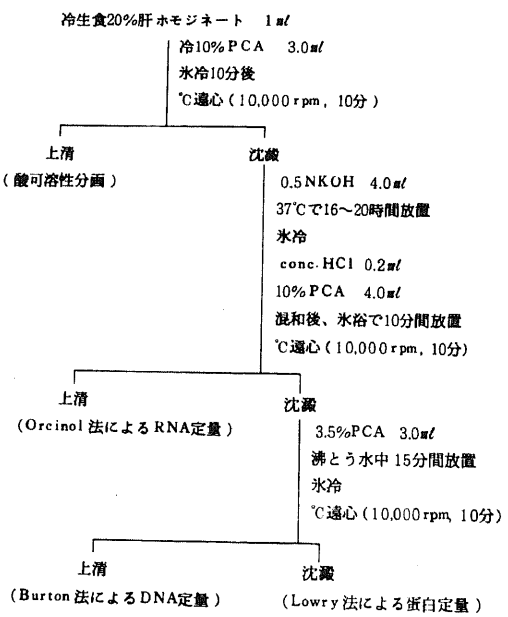
採血を行なった後，肝の一部を取り，10％ホルマリン液で固定し，Mayer のヘマトキシリン液により，ヘマトキシリン・エオジン染色を行い，組織学的検討に供した．更に肝の一部を取り，凍結切片を作成し，Sudan Ⅲにより，脂肪染色を行なった．

4．肝の核酸および蛋白の化学的定量

残った肝臓を冷生食水にてよく洗滌し，ろ紙で十分に水分を吸い取り，手早く湿重量の4倍量の冷生食水を加え，テフロンホモジナイザーで20％肝ホモジネートを作成する．Schmidt-Thannhauser-Schneider 法[12)~14)]に若干の変更を加えて，表2の如く，核酸，蛋白を抽出し，Burton 法[15)]，Orcinol 法[16)]，Lowry[17)] 法により Deoxyribonucleic acid（以下 DNA と略す），Ribonucleic acid（以下 RNA と略す）と蛋白の含量を測定した．

5．肝 DNA への ^{3}H-Thymidine の取込量及び肝蛋白への ^{3}H-Leucine の取込量測定

表2　Schmidt-Thannhauser-Schneider 法による肝核酸蛋白の抽出



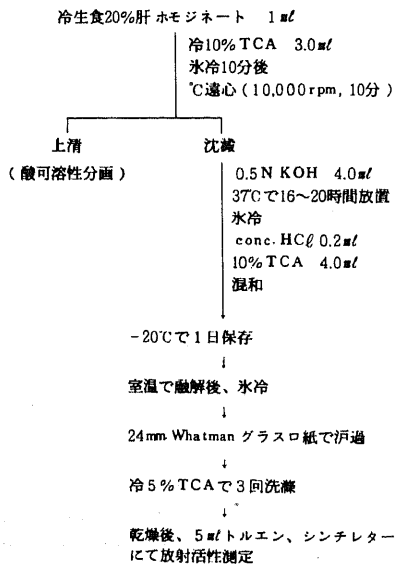
新たに無処置群と正常肝切群，黄疸群，黄疸肝切群の術前及び術後1日，2日，3日目に前日から約24時間の絶食を行ない，屠殺2時間前に股静脈より〔Methyl-^{3}H〕Thymidine（48Curies/mmol）又は L-〔4.5-^{3}H〕Leucine（52Curies/mmol）を 8 μCi/100 g 体重注射し，2時間後，肝臓を採取した．表3の如く，DNA，蛋白を抽出し，グラスフィルター上に補集してアロカ LSC-671 の液体シンチレションカウンターで測定し，肝 DNA，蛋白への取込み放射活性を肝湿重量

1g あたりで示した．更に，正常肝切群及び黄疸肝切群の術後1日目の肝切片を用いてAutoradiographyにより，Thymidine 取込の状態を検討した．

6．ビタミン K_1 負荷ヘパプラスチンテスト及び血清ミトコンドリア GOT の測定

更に無処置群と正常肝切群，黄疸群，黄疸肝切群の術前及び術後1日，3日，7日目に前日から約24時間の絶食を行ない，屠殺8時間前にビタミン K_1 1 mg筋注し，8時間後，エーテル麻酔下で開腹し，以下の検査を行なった．

表3 ^{3}H-Thymidine 又は-Leucine の肝 DNA 又は蛋白への取込量測定法



1） ビタミン K_1 負荷ヘパプラスチンテスト（以下 KHPT と略す）：

あらかじめ1容量の抗凝固剤（3.8 %クエン酸ナトリウム）を入れたシリコン処理ガラス真空管を用い，下大静脈より9容量の血液を採取し，測定に供した．測定はあらかじめ調整されたヘパプラスチンテスト用試薬（エーザイ）0.25 mlをガラス試験管（0.8 × 6 cm）に入れ，37 ℃恒温槽内で約5分間加温後，採血した静脈血の血漿 0.010 mlを加え，混和後 37 ℃で20秒静置後，室温で凝固時間を測定した．ついで各ロット毎に添付されている標準曲線から対応する活性値を読み，ヘマトクリット値による補正を行なった．

2） 血清ミトコンドリア GOT（以下 m-GOT と略す）の測定：

腹大動脈より血液を採取し，血清を分離して，測定に供した．測定は GOT isozyme chemiphar（カラム法）により，s-GOT を吸着させ，未吸着分画の m-GOT を溶出し，m-GOT 活性を測定した．別に通常の方法により総 GOT 活性を測定し，m-GOT 活性値を差し引き，s-GOT 活性値を求め更に m-GOT，s-GOT 比を算出した．

成　　績

1．血液一般肝機能：（表4）

表4 術前，術後における血漿蛋白及び肝機能の変動

			Bilirubin mg/dl	Protein Total g/dl	Albumin g/dl	$\alpha_1+\alpha_2$ g/dl	β g/dl	γ g/dl	A/G	GOT KU	GPT KU	A I－P KA
術前	無処置群		0.26 ±0.09	6.40 ±0.32	3.88 ±0.18	0.93 ±0.08	0.44 ±0.06	1.14 ±0.24	1.56 ±0.24	95.00 ± 29.73	13.00 ± 2.00	20.42 ± 5.41
	単開腹7日目		0.24 ±0.09	6.16 ±0.24	3.40 ±0.25	1.09 ±0.11	0.50 ±0.06	1.16 ±0.08	1.23 ±0.13	82.60 ± 21.70	11.20 ± 3.11	13.94 ± 1.83
	黄疸作成7日目		12.14 ±1.21	5.82 ±0.16	2.78 ±0.07	0.81 ±0.11	0.45 ±0.13	1.78 ±0.16	0.91 ±0.06	351.20 ±188.42	40.4 ±21.47	31.28 ± 7.18
術後	正常肝切群	1日目	0.54 ±0.09	5.26 ±0.06	2.87 ±0.03	0.99 ±0.04	0.37 ±0.04	1.02 ±0.05	1.20 ±0.03	501.40 ± 80.86	145.20 ±27.62	23.60 ± 4.92
		3日目	0.28 ±0.08	5.28 ±0.22	2.92 ±0.19	0.70 ±0.17	0.47 ±0.20	1.12 ±0.39	1.23 ±0.13	195.60 ± 92.81	17.40 ± 7.50	40.94 ±10.67
		7日目	0.34 ±0.11	5.69 ±0.16	3.24 ±0.20	0.66 ±0.08	0.39 ±0.12	1.38 ±0.21	1.33 ±0.15	140.80 ± 57.64	21.80 ±11.50	26.40 ± 9.65
	黄疸肝切群	1日目	9.78 ±2.70	4.68 ±0.45	2.31 ±0.21	0.71 ±0.10	0.39 ±0.06	1.26 ±0.16	0.98 ±0.09	485.60 ± 33.32	45.60 ±15.52	28.54 ± 6.60
		3日目	9.07 ±2.57	4.46 ±0.71	2.17 ±0.40	0.60 ±0.14	0.37 ±0.12	1.31 ±0.33	0.96 ±0.19	134.160 ±74.731	82.20 ±38.16	38.96 ± 7.38
		7日目	8.72 ±1.63	5.16 ±0.42	2.19 ±0.30	0.75 ±0.12	0.43 ±0.08	1.79 ±0.29	0.75 ±0.17	1149.60 ±228.83	123.40 ±75.35	37.44 ± 7.57
	黄疸群	1日目	10.34 ±2.43	5.66 ±0.28	2.37 ±0.18	1.12 ±0.07	0.55 ±0.09	1.60 ±0.13	0.72 ±0.04	576.60 ±200.46	66.20 ±35.02	34.14 ±13.49
		3日目	11.44 ±3.21	5.78 ±0.61	2.54 ±0.26	0.91 ±0.15	0.54 ±0.12	1.77 ±0.31	0.79 ±0.07	563.60 ±241.58	52.20 ±31.78	29.84 ± 7.07
		7日目	12.26 ±1.17	5.56 ±0.49	2.41 ±0.27	0.95 ±0.15	0.42 ±0.11	1.77 ±0.17	0.76 ±0.08	660.20 ±408.88	45.40 ±18.97	28.10 ±13.21

n＝5，Mean ± SD

1）　血清総ビリルビン値の変化:（図1）

総ビリルビン値は無処置群の 0.26 ± 0.09 mg/dl に比し，黄疸群では，作成後 7 日目に 12.14 ± 1.21 と著明に上昇し（p < 0.01），術後もほぼ同程度の高値を維持した．これに対して黄疸肝切群では，術後 1 日目 9.78 ± 2.70，3 日目 9.07 ± 2.57，7 日目 8.72 ± 1.63 と高値であるが術前値に比し，ゆるやかな低下を示し，7 日目で黄疸群に比べ，有意差を認めた（p < 0.01）．正常肝切群では，術後 1 日目 0.54 ± 0.09 と僅かであるが有意に上昇し（p < 0.01），3 日目から正常値に戻った．

2）　血清総蛋白量，蛋白分画の変動:（図2）

血清総蛋白量は無処置群の 6.40 ± 0.32g/dl に比し，正常肝切群では，術前値 6.16 ± 0.24 とやや減少し，術後 1 日目 5.26 ± 0.06 と約 15 %の減少があり（p < 0.01），3 日目迄ほぼこの状態を維持したが，7 日目に 5.69 ± 0.16 と増加を示した（p < 0.05）．黄疸群では，無処置群に比べ，作成後 7 日目に 5.82 ± 0.16 と減少し（p < 0.01），その後単開腹によりそれ程影響されず横ばい状態を呈した．黄疸肝切群では，術後 1 日目 4.68 ± 0.45 と術前値に比し，減少を示し（p < 0.01），3 日目 4.46 ± 0.71 と無処置群より 30 %の低値に達し，7 日目 5.16 ± 0.42 とやや増加の傾向を示したが，正常肝切群に比べ，有意の低値を呈した（p < 0.05）．

血清アルブミン量は無処置群の 3.88 ± 0.18g/dl に比し，正常肝切群では，術前値 3.40 ± 0.25 とやや減少し（p < 0.01），術後 1 日目 2.87 ± 0.03 と更に減少を示したが（p < 0.01），3 日目 2.92 ± 0.19，7 日目 3.24 ± 0.20 と回復した（p < 0.05）．黄疸群では，術前値 2.78 ± 0.07 と無処置群に比し，約 25 %の減少を示し（p < 0.01），術後 1 日目 2.37 ± 0.18 と更に減少し（p < 0.01），3 日目 2.54 ± 0.26，7 日目 2.41 ± 0.27 と無処置群より約 30 %低いレベルで横ばい状態を呈した．黄疸肝切群では，更に減少傾向が強く術後 1 日目 2.31 ± 0.21，3 日目 2.17 ± 0.40，7 日目 2.19 ± 0.30 と回復の傾向が少なく，無処置群に比して 40 %以上，正常肝切群と比しても 30 %程の低値であった．A/G 比は無処置群の 1.56 ± 0.24 に比し，正常肝切群では，術前値 1.23 ± 0.13 と低下を示し（p < 0.05），術後 1 日目 1.20 ± 0.03 であったが，3 日目 1.23 ± 0.13，7 日目 1.33 ± 0.15 とやや改善の傾向を示した．黄疸群では，術前値 0.91 ± 0.06 と無処置群に比し，低下が著しく（p < 0.01），術後 1 日目 0.72 ± 0.04 と更に低下し（p < 0.01），3 日目から 0.79 ± 0.07，7 日目 0.76 ± 0.08 と横ばいの値を示した．黄疸肝切群では，術後 1 日目 0.98 ± 0.09 と術前値に比し，一過性にやや上昇の傾向を示したが，3 日目 0.96 ± 0.19，7 日目 0.75 ± 0.17 と再び黄疸群のレベルに低下した．

3）　肝機能の推移:（図3）

GOT は無処置群の 95.00 ± 29.73KU に比し，正常肝切群では，術前値 82.60 ± 21.70 と著明な差はなかったが，術後 1 日目に 501.40 ± 80.86 と急激に上昇し（p < 0.01），3 日目 195.60 ± 92.81，7 日目 140.80 ± 57.64 と正常値に回復した．黄疸群では，術前値 351.20 ± 188.42 と既に上昇し（p < 0.05），術後 1 日目 576.60 ± 200.46，3 日目 563.60 ± 241.58，7 日目 660.20 ± 408.88 と高値を示した．黄

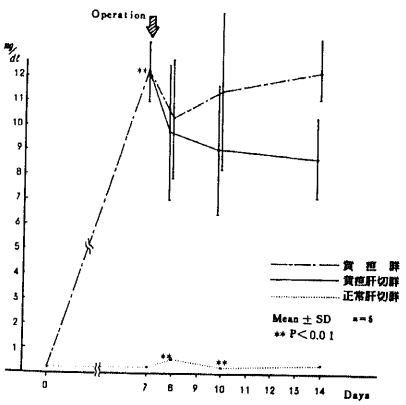


図1　術前，術後における血清総ビリルビン値の変動

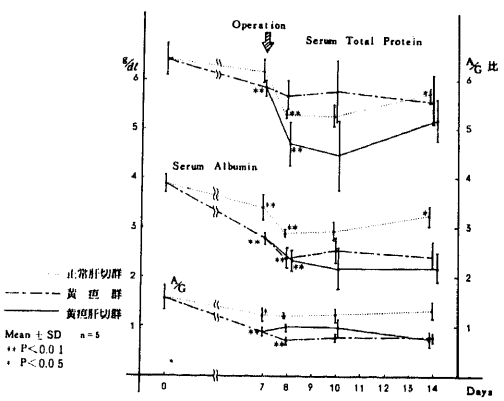


図2　術前，術後における血清総蛋白量，アルブミン量，A/G 比の変動

疸肝切群では，この上昇傾向は更に強く術後3日目1341.60±747.31,7日目1149.60±228.83であった．($p < 0.05$) GPTも同様に，無処置群の13.00±2.00に比し，正常肝切群では，術前値11.20±3.11と著明な変動はなかったが，術後1日目145.20±27.62と急峻な上昇を示し，3日目17.40±7.50,7日目21.80±11.50と正常値に回復した．黄疸群では，術前値40.4±21.47と高値を示し，術後も1日目66.20±35.02,3日目52.20±31.78,7日目45.40±18.97と高値を呈した．黄疸肝切群では，術後1日目45.60±15.52,3日目82.20±38.16,7日目123.40±75.35と上昇を続け回復の傾向を示さなかった．ALPは無処置群20.42±5.41に対し，正常肝切群では，術前値13.94±1.83と多少低下したが，術後1日目23.60±4.92 ($p < 0.01$)，3日目40.94±10.67 ($p < 0.05$) と前値に比べ，有意に上昇し，3日目以後低下の傾向を示した．黄疸群では，術前値31.28±7.18と無処置群に比し，上昇し ($p < 0.05$)，術後1日目34.14±13.49,3日目29.84±7.07,7日目28.10±13.21と横ばい状態を示した．黄疸肝切群では，術後1日目28.54±6.60と術前値に比し，一過性の減少の傾向を示したが3日目38.96±7.38と再び上昇し($p < 0.05$),7日目37.44±7.57と横ばい状態を呈した．

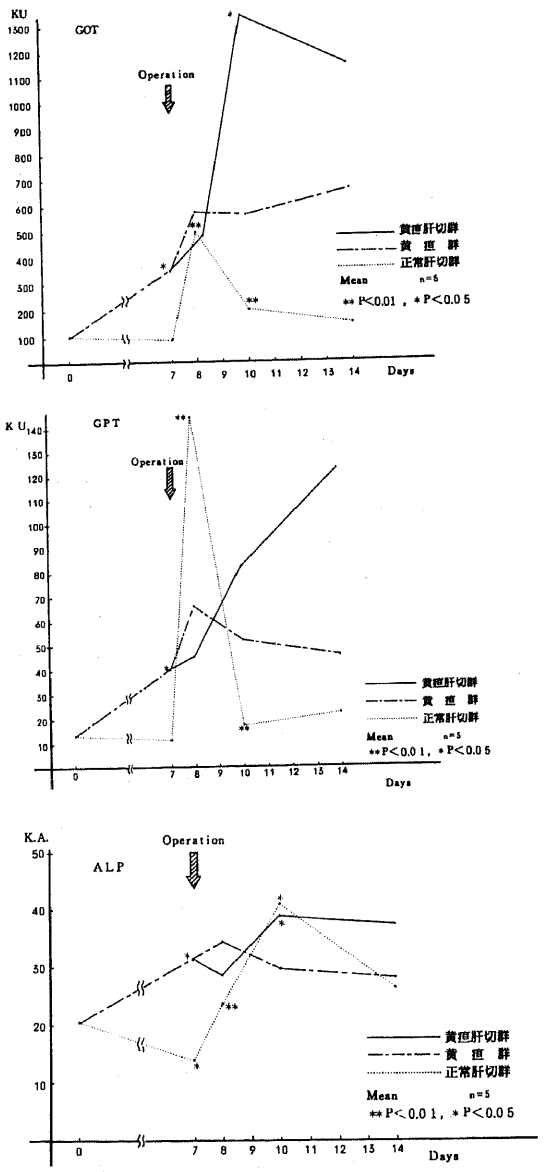


図3　術前，術後における肝機能の推移

2．組織学的所見

正常肝切群では，肝切除後1日目に肝細胞の核，核小体及び細胞質の大型化を認め，細胞質には多数の微小空胞の出現が見られた．また，肝小葉辺縁帯から小葉中間帯にかけて多数の肝細胞に有糸分裂像が見られたが，グリソン鞘では胆管上皮細胞の増殖像は認められなかった．3日目になると有糸分裂像はほとんど観察できなくなり，肝細胞の門脈を中心とする輪状配列傾向が所々に見られ，肝細胞の大小不同と核濃染像が観察された．一方，肝細胞の細胞質では多数の微小空胞は依然として観察できた．7日目では門脈を中心とする肝細胞の輪状配列像と細胞質内の微小空胞が依然として認められた．一方，胆管結紮による黄疸群では，グリソン鞘周辺部に胆管上皮細胞の増殖，炎症性細胞浸潤の増加が見られ，術後3日目以降では胆管上皮細胞の増殖は更に著明となり，7日目になると，この変化は肝小葉内にも波及し，肝小葉内における肝細胞の占める面積の減少が見られた．黄疸肝切群では肝切除後1日目に，グリソン鞘周辺部での胆管上皮細胞の増殖，炎症性細胞浸潤の増加が黄疸群と同程度に見られ，また肝細胞の核，核小体及び細胞質の大型化も認め，細胞質には多数の微小空胞の出現が見られた．胆管上皮細胞の増殖と同時に肝小葉辺縁帯から小葉中間帯にかけて肝細胞に有糸分裂像が見られた．3日目になると有糸分裂像はほとんど観察できなくなり，また肝細胞の門脈を中心とする輪状配列は認められなかった．肝細胞では，細胞質内に多数の微小空胞が見られ，肝細胞の変性と壊死巣が散在性に見られた．7日目になると，胆管上皮細胞の増殖像が著明になり，肝細胞細

表.5　術前，術後における肝内の核酸，蛋白含量の推移

			肝蛋白含量 (mg/g肝)	肝DNA含量 (mg/g肝)	肝RNA含量 (mg/g肝)	肝RNA/肝DNA比	肝蛋白/肝DNA比
術前	無処置群		137.33± 2.79	1.33±0.10	11.65±0.42	8.77±0.40	103.64±9.44
	単開腹7日目		135.33± 5.58	1.44±0.03	11.91±0.18	8.28±0.28	94.03±4.86
	黄疸作成7日目		119.33± 6.93	1.79±0.13	11.48±0.32	6.44±0.40	67.19±8.19
術後	正常肝切群	1日目	93.33± 4.71	1.21±0.09	10.83±0.79	8.95±0.54	77.37±7.26
		3日目	115.67± 3.46	1.34±0.07	11.81±0.76	8.83±0.40	86.67±5.62
		7日目	137.99± 5.58	1.58±0.17	14.02±0.42	8.93±0.93	87.73±7.51
	黄疸肝切群	1日目	92.67± 5.48	1.45±0.20	11.93±1.45	8.29±0.67	64.96±8.93
		3日目	97.67± 8.94	1.65±0.10	11.66±1.19	7.06±0.53	59.42±6.95
		7日目	115.67± 9.02	1.87±0.10	11.24±0.39	6.03±0.31	62.16±6.95
	黄疸群	1日目	109.00± 5.22	1.88±0.22	11.21±1.30	5.97±0.56	58.62±8.60
		3日目	98.66±11.20	2.02±0.16	10.79±0.80	5.38±0.60	49.50±9.12
		7日目	97.67± 6.83	2.15±0.21	9.47±1.60	4.43±0.92	45.72±5.72

n＝5，　Mean ± SD

胞質内の空胞はほとんど消失し，また門脈を中心とする肝細胞の輪状配列は見られなかった．

次に Autoradiography で術後1日目の肝組織像を検討すると，正常肝切群及び黄疸肝切群の両者に，小葉辺縁帯及び小葉中間帯の肝細胞核に ^{3}H－Thymidine の取込顆粒が見られたが，胆管上皮細胞及び炎症性細胞への取込顆粒はほとんど見られなかった．

3．肝の核酸，蛋白含量の推移：（表5）

1）　肝内 DNA 含量の変化：（図4）

肝内 DNA 含量は無処置群の 1.33 ± 0.10 mg /g 肝に比し，黄疸群では術前値 1.79 ± 0.13 と有意に増加を示し（$p < 0.01$），その後，術後1日目 1.88 ± 0.22，3日目 2.02 ± 0.16，7日目 2.15 ± 0.21 と徐々に増加したが，黄疸肝切群では術後1日目 1.45 ± 0.20 と一時的減少を示し（$p < 0.05$），3日目から 1.65 ± 0.10 と増加の傾向に転じ，7日目 1.87 ± 0.10 と増加を示したが（$p < 0.05$），黄疸群に比し，術後値はすべて有意の低値を示した．正常肝切群では術前値 1.44 ± 0.03 と無処置群に比し，多少増加したが（$p < 0.05$），術後1日目 1.21 ± 0.09 と一時的に減少し（$p < 0.01$），3日目から 1.34 ± 0.07，7日目 1.58 ± 0.17 と増加傾向に転じた．（$p < 0.05$）正常肝切群は黄疸肝切群に比べ，更に有意の低値を示した．

2）　肝内 RNA 含量の変化：（図5）

肝内 RNA 含量は正常肝切群では，術前値 11.91 ±

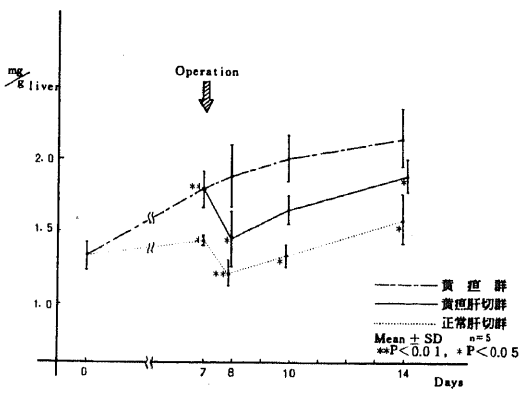


図4　術前，術後における肝内 DNA 含量の変化

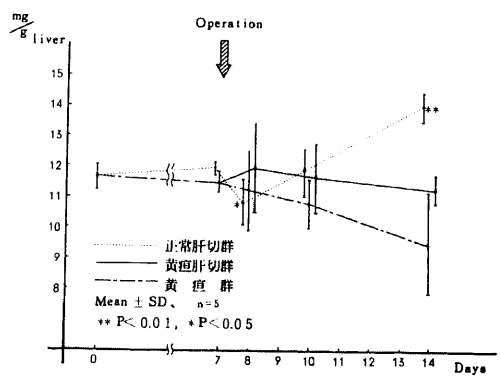


図5　術前，術後における肝内 RNA 含量の変化

0.18 mg/g 肝に対し，術後 1 日目 10.83 ± 0.79 と一時的減少を示したが（$p < 0.05$），3 日目より直線的に増加し，3 日目 11.81 ± 0.76，7 日目 14.02 ± 0.42 と 7 日目で約 20 %の増加を示した（$p < 0.01$）．黄疸肝切群では，術後 1 日目 11.93 ± 1.45，3 日目 11.66 ± 1.19，7 日目 11.24 ± 0.39 と正常肝切群よりも低いレベルで横ばいの状態を呈した．黄疸群では，術後 1 日目 11.21 ± 1.30，3 日目 10.79 ± 0.80，7 日目 9.47 ± 1.60 とゆるやかな減少傾向を示し，7 日目で黄疸肝切群よりも更に低かった（$p < 0.05$），

3） 肝内蛋白含量の変化：（図 6）

肝内蛋白含量は正常肝切群では，無処置群の 137.33 ± 2.79 mg/g 肝に比し，術前値 135.33 ± 5.58 とあまり変動を認めなかったが，術後 1 日目 93.33 ± 4.71 と一過性に著明に減少し（$p < 0.01$），3 日目 115.67 ± 3.46（$p < 0.01$）と，7 日目 137.99 ± 5.58（$p < 0.01$）と急速に回復を示した．黄疸群では，術前値 119.33 ± 6.93 と無処置群に比し，既に 15 %程度減少し（$p < 0.01$），術後 1 日目 109.00 ± 5.22，3 日目 98.66 ± 11.20，7 日目 97.67 ± 6.83 と更に減少の傾向を示した．黄疸肝切群では，術後 1 日目 92.67 ± 5.48 と正常肝切群と同様に急峻な減少を示した（$p < 0.01$）．3 日目 97.67 ± 8.94 とやや増加の傾向があり，7 日目に有意の増加を示したが（$p < 0.05$），115.67 ± 9.02 にとどまった．黄疸群，黄疸肝切群では術後 3 日目以後の何れも，正常肝切群よりも有意に低かった．

4） 肝内蛋白，DNA 含量比の変化：（図 7）

肝内蛋白，DNA 含量比は正常肝切群では，術前値 94.03 ± 4.86 に比し，術後 1 日目 77.37 ± 7.26 と有意に低下し（$p < 0.01$），3 日目 86.67 ± 5.62，7 日目 87.73 ± 7.51 と回復の傾向を示した．黄疸群では，術前値 67.19 ± 8.19 と無処置群の 103.64 ± 9.44 に比し，低下が著しく（$p < 0.01$），術後 1 日目 58.62 ± 8.60，3 日目 49.50 ± 9.12，7 日目 45.72 ± 5.72 と 3 群の中でもっとも低値を示した．黄疸肝切群では，術後 1 日目 64.96 ± 8.93（$p < 0.05$），3 日目 59.42 ± 6.95（$p < 0.01$），7 日目 62.16 ± 6.95（$p < 0.01$）と，正常肝切群よりも低いレベルで横ばい状態を呈した．

5） 肝内 RNA，DNA 含量比の変化：（図 8）

肝内 RNA，DNA 含量比は正常肝切群では，術前値 8.28 ± 0.28 に対し，術後 1 日目 8.95 ± 0.54 と上昇し（$p < 0.05$），3 日目 8.83 ± 0.40，7 日目 8.93 ± 0.93 もほぼ同じ値を示した．黄疸群では，術前値 6.44 ± 0.40 と無処置群の 8.77 ± 0.40 に比し，低下を示し（$p < 0.01$），正常肝切群の術前値に比べても有意に低かった（$p < 0.01$）．術後の黄疸群では 1

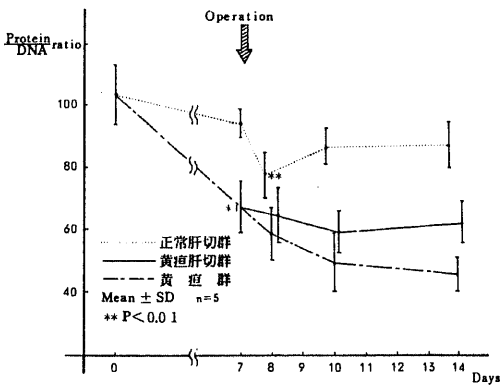


図 7 術前，術後における肝内蛋白，DNA 含量比の変化

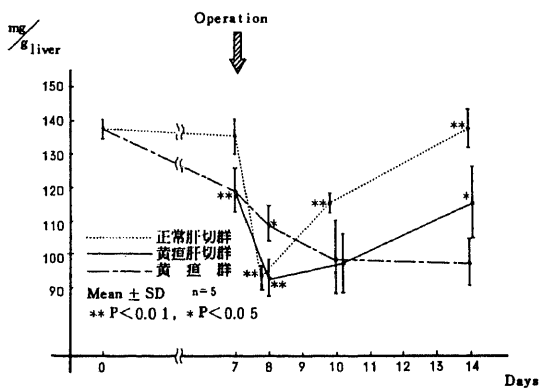


図 6 術前，術後における肝内蛋白含量の変化

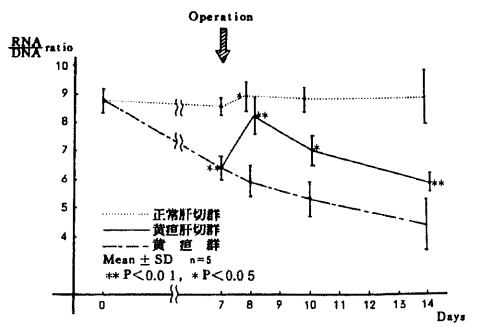


図 8 術前，術後における肝内 RNA，DNA 含量比の変化

日目 5.97 ± 0.56,3 日目 5.38 ± 0.60,7 日目 4.43 ± 0.92 と更に低下の傾向を示し，正常肝切群，黄疸肝切群に比べ，有意に低かった（$p < 0.01$）．黄疸肝切群では，術後 1 日目 8.29 ± 0.67 と術前値に比し，著明に上昇したが（$p < 0.01$），3 日目 7.06 ± 0.53（$p < 0.05$），7 日目 6.03 ± 0.31（$p < 0.01$）と逆に低下を示した．術後 3 日目と 7 日目で正常肝切群に比べ，すべて有意の低値を示した（$p < 0.01$）．

4. ^{3}H − Thymidine 又は ^{3}H − Leucine の肝 DNA 又は肝蛋白への取込量の推移：（表 6）

1） 肝 DNA への ^{3}H − Thymidine の取込量の変化：（図 9）

肝 DNA への ^{3}H − Thymidine の取込量は黄疸群では術前値 1034.92 ± 86.83cpm/g 肝，術後 1 日目 959.92 ± 130.25,2 日目 1032.17 ± 196.20,3 日目 1297.00 ± 272.59 と無処置群の 1424.60 ± 595.96 に比し，多少低い傾向を示した．正常肝切群では，術前値 1296.42 ± 401.45 に比し，術後 1 日目 9015.00 ± 1372.41 をピークとし，2 日目 6986.60 ± 882.29,3 日目 5181.50 ± 1427.26 とかなり高い取込量を示した．黄疸肝切群では，術後 1 日目 5087.34 ± 692.52 とピークを示し，2 日目 2644.75 ± 678.20 と減少し（$p < 0.01$），3 日目 2033.60 ± 489.94 と減少を続けた．この結果は，黄疸肝切群では正常肝切群に比べ，ピーク時で約 1 ／ 2 の取込量しか示さず，又ピーク直後の減少の程度も大きいことを示している．

2） 肝蛋白への ^{3}H − Leucine の取込量の変化：（図 10）

肝蛋白への ^{3}H − Leucine の取込量は黄疸群では，術前値 640.84 ± 105.20cpm/g 肝，術後 1 日目 613.94 ± 107.47,2 日目 723.93 ± 146.03,3 日目 726.84 ± 132.86 と低いレベルで横ばい状態を呈した．正常肝切群では，術前値 500.59 ± 64.77 と無処置群の 593.85 ± 109.41 に比し，やや減少の傾向を示したが，術後 1 日目 2434.28 ± 477.38 と著明に増加し（$p < 0.01$），ピークを呈した．2 日目 1767.13 ± 136.40 と低下を示すが（$p < 0.01$），3 日目 1688.65 ± 344.22 と横ばいの傾向を呈した．それに対し，黄疸肝切群では，術後 1 日目 1851.50 ± 497.25 と著明に増加し（$p < 0.01$），ピークを示したが，正常肝切群の 1 日目より有意に低く（$p < 0.05$），2 日目 1489.40 ± 326.44 と減少の傾向を示

表 6　術前，術後における肝 DNA，肝蛋白への ^{3}H とりこみ量

			肝 DNA への ^{3}H-Thymidine とりこみ	肝蛋白への ^{3}H-Leucine とりこみ
術前	無処置群		n=10 142460± 59596	n=10 59385±10941
	単開腹 7 日目		n=6 129642± 40145	n=6 50059± 6477
	黄疸作成 7 日目		n=6 103492± 8683	n=6 64084±10520
術後	正常肝切群	1 日目	n=8 901500±137241	n=9 243428±47738
		2 日目	n=5 698660± 88229	n=8 176713±13640
		3 日目	n=6 518150±142726	n=7 168865±34422
	黄疸肝切群	1 日目	n=6 508734± 69252	n=7 185150±49725
		2 日目	n=6 264475± 67820	n=5 148940±32644
		3 日目	n=5 203360± 48994	n=7 103922±18904
	黄疸群	1 日目	n=6 95992± 13025	n=8 61394±10747
		2 日目	n=6 103217± 19620	n=7 72393±14603
		3 日目	n=6 129700± 27259	n=6 72684±13280

Mean±SD
単位 cpm/g wet tissue
methyl- ^{3}H-Thymidine 8μci/100g 体重，静注 2 時間後
L-4.5- ^{3}H-Leucine 8μci/100g 体重，静注 2 時間後

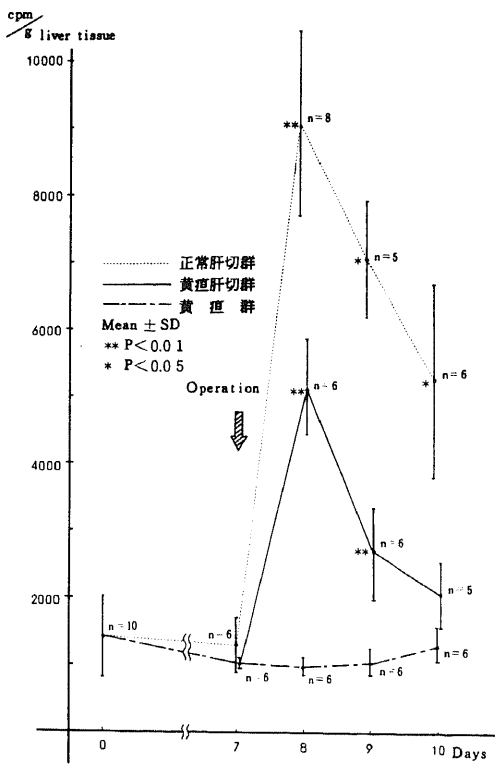


図 9　術前，術後における肝 DNA への ^{3}H とりこみ量
(methyl- ^{3}H-Thymidine 8μci/100g体重 静注2時間後)

し，正常肝切群の2日目より低い傾向を示した．3日目になると1039.22 ± 189.04と更に減少を示し（$p < 0.05$），正常肝切群の3日目に比し，有意に低かった（$p < 0.01$）．

5. KHPT値の変動：（図11）（表7）

KHPT値は黄疸群では，術前値74.79 ± 9.87％と無処置群の67.27 ± 6.34％に比し，やや高い傾向を示し，術後1日目72.77 ± 14.61％，3日目73.71 ± 14.07％，7日目73.06 ± 12.33％とほとんど変動を示さなかった．正常肝切群では，術前値67.74 ± 6.66％と無処置群と同程度であったが，術後1日目29.77 ± 6.27％と一時的に急峻な低下を示し（$p < 0.01$），3日目62.25 ± 8.32％と急速に改善され（$p < 0.01$），7日目になると72.69 ± 7.33％と更に改善し（$p < 0.05$），正常値に回復した．黄疸肝切群では，術後1日目も29.03 ± 5.61％と急峻な低下を示し（$p < 0.01$），3日目に46.67 ± 6.53％とゆるやかな改善を認め（$p < 0.01$），7日目になっても52.86 ± 8.12％と有意の改善を認めなかった．術後3日目，7日目で正常肝切群，黄疸群に比べ，すべて有意に低かった（$p < 0.01$）．

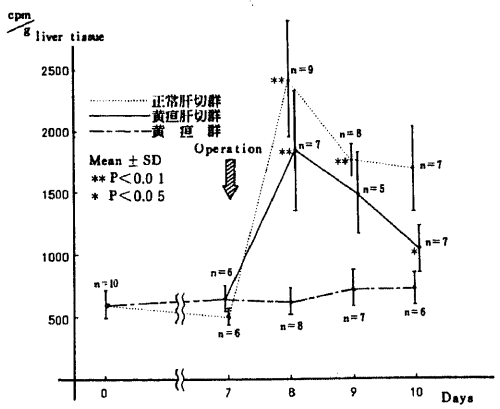


図10 術前，術後における肝蛋白への ^3H とりこみ量
(L-4.5- ^3H-Leucine 8μci/100g体重，静注2時間後)

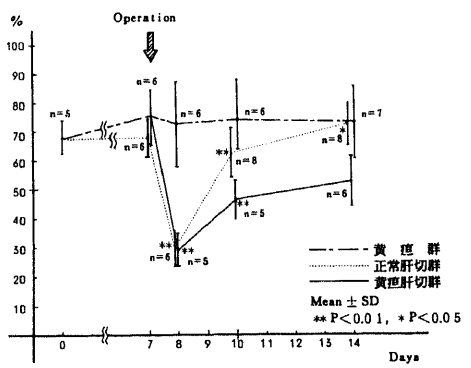


図11 術前，術後におけるビタミン K_1 負荷ヘパプラスチンテスト値の変動

6. GOTアイソザイムの変動：（表7）

1） 血清m－GOT値の変化：（図12）

血清m－GOT値は黄疸群では，術前値98.50 ± 43.15KUと無処置群の14.60 ± 4.28に比し，著明な上昇を認め（$p < 0.01$），術後も1日目115.50 ± 33.51，3日目115.83 ± 29.67，7日目153.28 ± 59.07と更に上昇の傾向を示した．黄疸肝切群では，術後1日目84.60 ± 20.74と術前値に比し，多少低下の傾向を示してから，3日目175.20 ± 9.26と逆に著明の上昇を認め（$p < 0.01$），黄疸群の術後3日目よりも高値を呈した（$p < 0.01$）．7日目になると再び125.20 ± 26.77と低下したが（$p < 0.01$），黄疸群と同じレベルの高値を呈した．正常肝切群では，術前値の18.40 ± 7.64に比し，術後1日目65.60 ± 18.09と一過性の上昇を示し（$p < 0.01$），術後3日以後3日目23.63 ± 12.47，7日目24.29 ± 7.54と術前値のレベルまでに低下した．（$p < 0.01$）正常肝切群は術後3日以後で黄疸群，黄疸肝切群の何れよりも有意に低かった（$p < 0.01$）．

2） 血清m-GOT，s-GOT比の変動：（表7）

血清m-GOT，s-GOT比は黄疸群では術前値0.407 ± 0.079と無処置群の0.190 ± 0.089に比べ，約2

			KHPT(%)	mGOT(KU)	mGOT/sGOT Ratio
術前	無処置群		n=5 67.27± 6.34	n=5 14.60± 4.28	0.190±0.089
	単開腹7日目		n=6 67.74± 6.66	n=5 18.40± 7.64	0.244±0.039
	黄疸作成7日目		n=6 74.59± 9.87	n=6 98.50±43.15	0.407±0.079
術後	正常肝切群	1日目	n=6 29.77± 6.27	n=5 65.60±18.09	0.187±0.070
		3日目	n=8 62.25± 8.32	n=8 23.63±12.47	0.174±0.116
		7日目	n=8 72.69± 7.33	n=7 24.29± 7.54	0.221±0.131
	黄疸肝切群	1日目	n=5 29.03± 5.61	n=5 84.60±20.74	0.157±0.106
		3日目	n=5 46.67± 6.53	n=5 175.20± 9.26	0.345±0.059
		7日目	n=6 52.86± 8.12	n=5 125.20±26.77	0.255±0.112
	黄疸群	1日目	n=6 72.77±14.61	n=6 115.50±33.51	0.325±0.134
		3日目	n=6 73.71±14.07	n=6 115.83±29.67	0.287±0.079
		7日目	n=7 73.06±12.33	n=8 153.38±59.07	0.251±0.070

Mean ± SD

表7 術前，術後における KHPT 及び GOT isozyme の推移

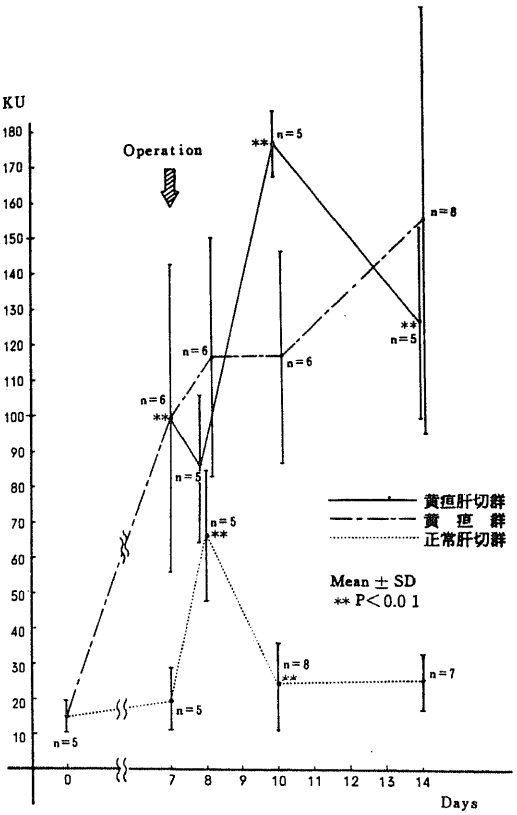


図12　術前，術後における血清 mGOT の変動（カラム法）

倍に上昇し（$p < 0.01$），術後1日目 0.325 ± 0.134，3日目 0.287 ± 0.079，7日目 0.251 ± 0.070 とゆるやかな低下傾向を示した．黄疸肝切群では術後1日目 0.157 ± 0.106 と術前値に比し，著明に低下し（$p < 0.01$），黄疸群の術後1日目に比べ，有意に低かった（$p < 0.05$）．3日目 0.345 ± 0.059 と再び上昇を示し（$p < 0.01$），7日目 0.255 ± 0.112 と低下したが黄疸群よりも多少高値を示した．正常肝切群では，術後1日目 0.187 ± 0.070，3日目 0.174 ± 0.116 とやや低値を示したが，7日目 0.221 ± 0.131 と術前値に比べ，著明の差はなかった．

考　　察

黄疸肝切除後の肝再生に関する基礎的研究については Higgins, Anderson[18] および Mann, Fishback ら[19]は肝実質細胞の再生は正常残存肝の肝再生に比べ，極端に減少することを報告している．又 Cameron[20] は黄疸ラットの再生肝細胞を大網に自家移植し，正常ラットのそれに比べ，長く生存しないことから，胆管結紮は肝再生を抑制すると考えた．これに対し，Ferguson ら[21]は肝重量，蛋白含量，mitotic activity により検討した結果，正常肝よりも黄疸肝切除後の再生力は強いと報告し，Weinbren[22] も胆管結紮は肝実質細胞の再生を抑制しないと主張した．一方 Andrus ら[23]は3週間の黄疸ラットに肝切除を施行すると，肝不全または感染によっての死亡率が高く，胆管結紮と肝切除を同時に行なうと，術後24時間で ^{3}H－Thymidine の取込みが著明に低いことを報告している．最近の報告では小沢，山本ら[5][24]は黄疸ラットに肝切除を施行すると残存肝のミトコンドリアのリン酸化能及び Energy charge ともに急速に低下し，5時間以内に死亡すると発表している．これらの実験成績をみても，黄疸肝に肝切除を加えた場合の残存肝の肝再生についてはいまだ統一した見解はなく，不明の点が多い．そこで，黄疸肝切除後の残存肝における再生状態及び肝細胞機能を解明するために，核酸，蛋白合成能の面から検討を加え，更にミトコンドリア機能との関連について検討を行なった．

肝葉切除を加えると，残存肝では DNA 合成，RNA 合成，蛋白合成が亢進し，肝細胞分裂が著明になることが知られている．DNA 合成促進因子としては Fisher ら[25] の門脈因子，小沢，本庄ら[26] の mitochondria stimulating factor(MSF)，Morley，Kingdon[27] の血清蛋白，蛋白合成促進因子としては Hoagland ら[28]の肝細胞質の可溶画分が知られ，DNA 合成抑制因子としては遠田，吉川[29]の α_1 グロブリン，蛋白合成抑制因子としては Hoagland ら[30]のミクロゾームの蛋白性阻害因子などが知られている．小沢，山岡[5][6]は肝再生初期では DNA 合成に先行して，Energy charge は低下し，ミトコンドリアのリン酸化能は亢進し，肝再生時の核酸，蛋白合成の為のエネルギー供給が増加するとしている．一方，閉塞性黄疸肝のミトコンドリア機能については小沢ら[7]，菅原ら[10]，大柳ら[11]，佐藤ら[31]の報告があり，胆汁うっ滞によって肝ミトコンドリア機能は低下する点では一致している．菅原らは胆管閉塞ラットで，大柳らは総胆管結紮犬で，ともに結紮後5日以後にミトコンドリア障害があると報告している．

さて，閉塞性黄疸ラットに肝切除の刺激を加えた場合の残存肝における再生現象を究明する目的で正常肝切群と黄疸肝切群を作成し，更に黄疸による影響の因子を考慮するために黄疸群を作成して検討した．手術侵襲及び絶食による影響をできるだけ一致させるために，正常肝切群と黄疸群には単開復の操作を加えた．

黄疸作成後の肝切除は肝ミトコンドリア機能障害が出現する胆管結紮後の7日目とした．

まず，血清ビリルビン値の変動をみると，胆管結紮後有意に高値を保ち，黄疸肝切除後はやや減少の傾向を示すがやはり高値を呈し，黄疸群，黄疸肝切群ともに充分な胆汁うっ滞の影響を受けていることが確認された．次に血清蛋白をみると，肝の固有機能を表現する血清アルブミンは正常肝切群では肝切除後1日目に有意に低下し，3日以後回復を示した．術前値が無処置群に比べ，低下を示しているのは食餌及び手術侵襲による影響と考えられる．Weinbren[32]は肝切除後24時間に細胞の増殖に関する蛋白合成は増大するが胆汁色素やアルブミンなどの分化した機能に関する蛋白合成は低下すると報告しており，Campbellら[33]は肝切除後44～48時間後，ミクロソームアルブミンの合成速度の増大をみている．又，Schreiberら[34]は肝切除48時間で，肝内蛋白合成量は3倍に増すにも変らず，血清アルブミン量はほとんど増加しないことを認めているが本実験でも，一致した所見を得た．しかしこの事実はアルブミン合成の促進の無いことを意味するものでなく，肝切除により残存肝でのアルブミン合成量が術前の合成量レベルに達しなかったものと考えられる．胆管結紮を加えると血清アルブミン値は更に低下したが，黄疸群，黄疸肝切群では術後1日目ほぼ同じ値を示した．黄疸肝切群の残存肝は体積が小さいにも変らず，血清アルブミン値がそれほど低下しなかったのはアルブミンの血中半減期が長いこと[35]と黄疸肝切群の術後1日目にある程度の蛋白合成能をもっているためと考えられる．黄疸肝切群では3日目以後，回復を示さず，逆に低下したがこれはおそらく，3日以後，蛋白合成能が障害されたためと考えられる．血清肝機能検査成績をみてみると，GOT，GPTなどは黄疸群では中等度上昇したのに対し，黄疸肝切群では肝切除3日以後，著明な上昇を認めたが，これは肝切除の刺激による肝細胞機能障害の増悪を示唆するものであろう．以上，血液一般検査成績をまとめると，黄疸肝切群では正常肝切群に比べ，再生時の蛋白合成能の増大は弱く，肝切除後1日目にある程度の蛋白合成能の増大を認めるが，3日以後，肝細胞障害の進行に従って蛋白合成能も著明に低下することが推察された．この点を解明するために次に肝内核酸，蛋白含量を測定し検討した．

DNAは細胞核に存在しており，肝細胞増殖時のDNA含量の増加は細胞数の増加を意味する．[36] 一方RNAは核小体と細胞質に存在し，そのうちリボゾームRNAは細胞の全RNAの約80％を占める[37]．RNA濃度の増加は急激な細胞の増殖とむすびついた蛋白合成と関連し，更にその蛋白合成能は肝細胞機能の指標の一つでもある．そこでまず，肝内DNA含量をみると，黄疸群では胆管結紮後に上昇を示したがこれは1）肝細胞の壊死に伴った肝再生が起こり，肝細胞が増加したためか，2）従来，数多くない肝細胞以外の小形細胞が急に増加したためのどちらかと想定できる．松尾[38]は閉塞性黄疸がある場合には肝細胞の変性壊死は広範に起らず，肝再生も著明でないと報告しているが本実験でも後述する如く，組織所見及び^{3}H-Thymidineの取込活性の成績はこの報告に一致しており，従って，黄疸群でのDNA含量の上昇は肝細胞の再生によるものとは考えにくい．これに対し胆管結紮後，グリソン鞘周辺に著明な胆管上皮細胞の増殖，炎症性細胞浸潤の増多が認められ，それらの細胞は肝細胞に比べて細胞質は小さく，核の割合が大きいことから，おそらくこれらの細胞数の増加によって，DNA含量が相対的に増加したものと考えられる．正常肝切群と黄疸肝切群では肝切除後1日目にDNA含量の著明な落込みを認め，以後ほぼ同じ傾斜でDNA含量は増加した．Stowell[39][40]は肝細胞増殖が著明に起る前に，核小体が大きくなるが核酸濃度は高くない時期があるといい，Harkness[42]も肝切除後1日目に，肝細胞核，核小体，細胞質の大型化を観察している．本実験でも肝切除後1日目に，正常肝切群及び黄疸肝切群で細胞核，核小体，細胞質の大型化を認めており，おそらくDNA含量の落込みはそれらの現象と関連があると考えられる．2日目以後では，肝細胞の再生によって肝細胞数が急速に増加し，DNA含量もそれに伴って増加しており，黄疸肝切群でも，DNA含量が低下することなく，増加することを認めた．以上から，肝切除の刺激を加えると肝細胞の形態的変化及び細胞増殖が起こり，正常肝切群と黄疸肝切群ではDNA含量が同じ傾向で減少と増加を示し，更に胆管上皮細胞増殖などの影響でDNA含量は正常肝切群，黄疸肝切群，黄疸群の順で有意差をもって相対的に増加していくものと考えられる．

次に肝内RNA含量を検討してみると，正常肝切群では肝切除後1日目にDNA含量と同様に，一旦RNA含量の低下を示してから，直線的な上昇を呈した．この直線的な上昇は急激な細胞増殖とむすびついて，蛋白合成が亢進していることを示していると考えられる．塚田，Liebermanら[43][44]は再生肝では総蛋白への^{14}C－アミノ酸の取込みの増加は肝ポリゾームの蛋白合成能の増加によると推定している．RNA含量の増加はこの肝ポリゾーム機能増加を意味すると考えられ，黄疸肝切群に於いて肝切除後1日目に，RNA含量の増

加傾向を示したのは胆管上皮細胞などの増加も多少影響を及ぼすが，おそらくこの時期に蛋白合成能が増強しているためと考えられる．3日以後，正常肝切群のような上昇を認めず，横ばい状態を呈したが，この時期には，細胞増殖に関与する蛋白合成能が抑制されていることが推察される．肝内蛋白含量をみると正常肝切群，黄疸肝切群ともに術後1日目に著明な低下を示し，その後，正常肝切群ではRNA含量の増加に一致して，3日目から著明な回復を示し，7日目に完全な回復を示したが黄疸肝切群では，RNA含量の横ばい状態に一致して，鈍い回復にとどまった．以上の肝内RNA含量，肝内蛋白含量を指標とする蛋白合成能の変化から，黄疸肝切群では，術後3日以後，正常肝切群に比し，蛋白合成能が抑制されていることが示唆される．

さて，肝組織の重量に及ぼす胆汁うっ滞の影響を検討するために，湿重量1g肝の乾燥重量を測ったところ，黄疸群，黄疸肝切群ともに，胆汁うつ滞による水分含量の増加は4～5%程度であり，Weinbren[22]の報告と一致する成績を示した．そこでこの影響を除去するために，更に肝内蛋白，DNA比，RNA，DNA比を求めた．まず，蛋白，DNA比をみると黄疸群，黄疸肝切群では，正常肝切群に比べ有意の低下を示したが，これは胆管上皮細胞の増殖及び蛋白合成能の低下によると考えられる．黄疸群では蛋白合成の抑制状態が持続するため，更に低値を呈した．正常肝切群では術後1日目に落込みが見られたが，これは肝切除後1日目に，蛋白合成の亢進よりも，DNA合成の亢進が著明であるためと考えられる．これに対し黄疸肝切群では術後1日目に正常肝切群に比し，DNA合成の亢進がそれほど著明でなく，又，ある程度蛋白合成の上昇があるために，蛋白，DNA比の落込みが見られないのであろう．次にRNA，DNA比を検討すると，肝細胞の増殖がある場合，RNA，DNA比は上昇する[36]．正常肝切群では肝切除後1日目に有意の上昇を認め，以後も横ばい状態で高値を示したがこれは細胞増殖に伴って蛋白合成能の亢進が1週間までも持続しているためと考えられる．黄疸群では胆管上皮細胞などの増殖と蛋白合成能の低下によってRNA，DNA比は有意に低下する傾向を呈した．黄疸肝切群では肝切除後1日目に上昇を示し，3日目から低下することは肝切除後1日目に蛋白合成能の亢進を示しながらも，正常肝切群のように持続性がなく，3日以後に蛋白合成能が抑制されていることを示唆している．以上より肝内核酸，蛋白含量の変動をまとめると，黄疸肝切群では，1）肝切除の刺激によって肝内DNA含量は正常肝切群と同じ傾向で変動する．2）胆管上皮細胞増殖，炎症性細胞浸潤の増多によって，肝内DNA含量，RNA含量，蛋白含量は影響される．3）肝切除後1日目では正常肝切群と同様に蛋白合成能の亢進が認められ，それは肝内RNA含量の増多とRNA，DNA比の上昇によって裏付けられるが，3日目から蛋白合成能が障害され，肝内RNA含量は横ばい状態を呈し，RNA，DNA比も著明に減少する．

次に組織像では，肝切除施行後1日目で肝細胞の核，核小体，細胞質は大型化し，有糸分裂像は約28時間でピークに達し[32][42]，また72時間目以後では，門脈小葉は輪状の傾向が強くなり，2週間目ではこの現象が軽減するとされている．[45]本実験では，正常肝切群でこれに一致する所見が見られたが，黄疸肝切群では門脈を中心とする肝細胞の輪状配列傾向がなく，又，肝切除後7日目に細胞質の空胞が正常肝切群に比べ，急激に減少するなどの特異な所見が得られた．脂肪染色を行うと，正常肝切群，黄疸肝切群の両者に，微細な脂肪顆粒が数多く見られ，この空胞は脂肪顆粒であると考えられた．なお，正常肝切群に比べ，黄疸肝切群では脂肪顆粒の出現は軽度であった．（写真7）この事実から，肝切除後の再生過程，特に肝再生の急性期において，脂肪代謝が何等かの形で関与しているものと推察できる．いずれにしても，黄疸肝切群では門脈小葉の輪状傾向が欠如し，また細胞質内の空胞の出現が正常肝切群に比べ軽度であったことから，これらの現象が黄疸肝切時における肝細胞再生の抑制と何等かの関連性を有するものと考えられた．

正常肝ではDNA合成が肝切除により，術後15時間以後から急速に増大し，20～25時間でピークとなり，上昇したレベルで数日間持続することは多くの報告で一致した所見である[46]～[49]．本実験の^{3}H-Thymidine取込量から見たDNA合成活性は，正常肝切群では肝切除後1日目に高いピークを示し，2日，3日目に急速に低下するものの依然として高値を保ったが，黄疸肝切群では術後1日目に低いピークを示し，3日目にDNA合成活性はほとんど不活発になって，正常肝切群に比べて，DNA合成活性は著明に低くなることを示した．山岡ら[6]はミトコンドリア機能亢進が肝再生におけるDNA合成に必須であると報告しているが，黄疸肝切群では肝切除後に低いDNA合成活性を示したことは黄疸により障害されたミトコンドリア機能が関与しているものと考えられる．黄疸群では先述の如く，胆管上皮細胞の増殖により肝内DNA含量が増加するにもかかわらず，DNA合成活性が低値を呈したのは，Grisham[49][50]のいうように，胆管上皮細胞は増殖時にもDNA合成が少なく，細胞分裂がおそいなど，肝細胞

とは性格が異なることによるものと思われる．

肝切除後非常に早期からRNA合成が上昇し，続いて蛋白合成が活発となり，やがてDNA合成が亢進する[51]．塚田[52]はDNA合成は複製前期に起る代謝回転の速いRNA及び蛋白合成の変化に依存していると報告しているが，本実験ではDNA合成後の肝細胞の増殖状態及び肝細胞機能を知るために肝切除1日目以後の蛋白合成能について検討した．^{3}H-Leucine取込量から見た蛋白合成は正常肝切群ではDNA合成のピークに一致して肝切除後1日目にピークを示し，2日目以後，横ばいを呈したのに対し，黄疸肝切群では1日目に低いピークを示し，3日目に著明な低下を呈した．蛋白合成時，ATP，GTP，ATP供与系が必要であり[53)~56)]，つまり蛋白合成はミトコンドリアの酸化的燐酸化能に依存している．黄疸肝切群では術後1日目に蛋白合成が正常肝切群ほど亢進しない理由はおそらく胆汁うっ滞によってミトコンドリア機能が障害され，ATP生成能が低下し，エネルギー供給が不充分になるためと考えられる．3日目に更に低値を示したのは肝再生の経過中にミトコンドリア機能障害が一層進行するためと推測できる．

肝切除後の蛋白合成能を臨床検査法にて再確認するために，肝蛋白合成能を忠実に反映するといわれるビタミンK_1負荷ヘパプラスチンテスト[57)~59)]を行なった．中谷ら[60]は肝切除後，6～24時間でヘパプラスチン値は最低値を示し，8日後は術前値に復すが，この値はTotal functioning hepatic cell massの変化を反映していると報告している．本実験の正常肝切群では肝切除後1日目に最低値を示し，その後，急速に回復し，7日目に術前値に復しており，中谷らの成績に一致する．一方黄疸肝切群では肝切除後3日目に低値の回復にとどまり，その後，回復の傾向を示さなかったことはおそらく正常肝切群に比べ，Total functioning hepatic cell massが少い，つまり増殖した肝細胞数が少いか又は細胞数があっても蛋白合成能が障害されているためと考えられる．

最後に血清m-GOTより，間接的に肝ミトコンドリア機能を検討した．大柳ら[11]は血清m-GOT値は肝細胞障害，特にミトコンドリア障害をよく反映すること，菅原ら[10]はm-GOT値及びm-GOT，s-GOT比の上昇はミトコンドリアの統合性の破綻を反映した現象としてとらえられるので，m-GOTの動態から肝の予備力が低下した状態を間接的に類推することが可能であることを報告している．黄疸群で血清m-GOTが胆管結紮後から上昇を示したのは肝ミトコンドリア障害があるためと考えられる．正常肝切群では肝切除後にm-GOTが一過性に上昇したのに対し，黄疸肝切群では黄疸群に比べて，残存肝の体積が小さいにも変らず，肝切除後3日目にm-GOTが著明な上昇を呈したのは肝切除の刺激により，肝再生の経過中にミトコンドリア機能障害が一層進行したことを支持するものといえる．血清m-GOT，s-GOT比も，黄疸肝切群では肝切除3日目に著明な上昇を示しており，ミトコンドリア機能障害が進行することを示している．

結　　論

胆管結紮1週間後の黄疸ラットに肝切除を加え，黄疸肝切除時の核酸，蛋白代謝を検討する目的で残存肝の肝内DNA含量，^{3}H-Thymidine取込量，RNA含量と蛋白含量，^{3}H-Leucine取込量を測定すると共に経時的に組織学的検討を加え，更に一般肝機能，ビタミンK_1負荷ヘパプラスチンテスト，血清m-GOTの推移を検討し，これらの結果を正常肝切ラット，黄疸ラットと比較して次の成績を得た．

1．肝内DNA含量は黄疸群，黄疸肝切群，正常肝切群の順で有意に高値を示し，黄疸肝切群，正常肝切群では同じ傾向で減少と増加を示した．

2．肝DNAへの^{3}H-Thymidine取込量は黄疸肝切群では術後1日目にピークを示し，DNA合成の亢進が見られたが正常肝切群に比べて低く，3日目にはほとんど取込量の亢進を認めなかった．

3．肝内RNA含量，蛋白含量，蛋白，DNA比，RNA，DNA比を指標とする蛋白合成能は黄疸肝切群では肝切除後3日目から，正常肝切群に比し，蛋白合成能の亢進が鈍化し，抑制されていることを示した．

4．肝蛋白への^{3}H-Leucine取込量は黄疸肝切群では肝切除後1日目にピークを示し，蛋白合成の亢進が見られたが正常肝切群に比べて低く，3日目には正常肝切群のような持続性がなく，著明な低下を示した．

5．組織学的検討では，正常肝切群に認められる門脈小葉の輪状配列が黄疸肝切群では認められず，又，肝細胞質内に出現する脂肪顆粒と思われる空胞も正常肝切群に比べて軽度であった．

6．一般肝機能では，GOT，GPTは黄疸肝切群の肝切除後3日目に著明な上昇を示し，肝切除の刺激による肝細胞障害の増悪を反映した．血清アルブミン量，ビタミンK_1負荷ヘパプラスチンテスト値ともに肝切除3日目以後の回復が不良で，黄疸肝切群では肝切除後3日目に蛋白合成能が低下すると考えられた．

7．血清m-GOT値は黄疸群では高値を呈し，黄疸肝切群では肝切除後3日目に更に著明な上昇を示し，これは肝再生の経過中に肝ミトコンドリア機能障害が

一層進行するためと考えられた．

以上の実験成績より，黄疸肝切群でも肝切除後の再生現象を認めるが正常肝切群に比べて，再生力は低下し，持続性がなく，とくに肝切除後3日目から蛋白合成能は著明に低下し，ミトコンドリア機能障害に基づく肝細胞機能障害が強く出現することが明らかになった．このことから，臨床的にも黄疸肝切除に際しては，残存肝再生は充分に期待できず，切除範囲については慎重な配慮が必要であり，又，切除3日以後での肝細胞障害の進展が予想されることから，術後管理には厳重な注意が必要であるといえる．

本稿を終えるに臨み，御指導と御校閲を賜わりました恩師宮崎逸夫教授に深甚なる謝意を捧げます．又，終始御指導と御助言を頂いた第2生化久野滋教授並びに直接御指導を賜った第2外科倉知圓講師に衷心より感謝致します．さらに，御助言を頂いた第2病理中沼安二講師，御協力を頂いた第2外科永川宅和講師を始め，教室の諸先生に深く感謝致します．

文　献

1. 永川宅和，木南義男，三輪晃一，倉知　圓，高島茂樹，小田切春洋，Bソンデイ，薬袋峻士，浅野栄一，米村　豊，魚岸　誠，宮崎逸夫：肝門部胆管癌切除症例の検討．第14回胆道疾患研究会プロシーデイングス，148－149,(1978)

2. 都築俊治，尾形佳郎，石田元比古，島津元秀，松原　了，竹中能文：黄疸合併例の肝切除．日外会誌，第80回臨時増刊号，264頁，(1979)

3. G. M. Higgins, R. M. Anderson : Experimental pathology of the liver I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. Arch. Path., **12**,186－202, (1931)

4. 三浦義彰，福井紀子：肝細胞の再生の調節機構．医学のあゆみ，**89**, 619－624, (1974)

5. 小沢和恵：肝の機能とenergy charge．代謝，**15**, 1645－1657,(1978)

6. Y.Yamaoka, T. Ohsawa, H. Takasan, K. Ozawa, I. Honjo : Energy requirement in regenerative and atrophic processes of the liver in man and other mammals. Surgery, Gynecology & Obstetrics, **139**, 234－240, (1974)

7. 小沢和恵，武田博士：肝障害．外科治療，**31**，612－619, (1974)

8. 小山研二，伊藤賢司，音羽　剛，山内英生，高木靖，大和田康夫，大内清昭，渡部秀一，松原修二，三井照夫，佐藤寿雄：閉塞性黄疸肝のミトコンドリア機能について．肝臓，**20**, 579－586, (1979)

9. M. G. Mustafa, M. L. Cowger, T. E. King : Effects of bilirubin on mitochondrial reactions. J. Biol. Chem., **244**, 6403－6414, (1969)

10. 菅原克彦，河野信博，三谷　進，岩月　淳，長尾桓，金高伸也：閉塞性黄疸のもたらす肝障害と外科的治療効果の病態生理．日消外会誌，**10**, 736－742, (1977)

11. 大柳治正，山下修一，関田幹雄，白川　勝，中谷正史，奥村修一，手嶋和彦，光野孝雄：閉塞性黄疸の病態生理と新しいParameterついて．日外会誌，**75**, 1175－1177, (1974)

12. 三浦義彰，田中茂男，須永　清：核酸の定量的検出法．蛋白質核酸酵素，**11**, 424－445, (1966)

13. G. Schmidt, S. J. Thannhauser : A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phosphoproteins in animal tissues, J. Biol. Chem., **161**, 83－89, (1945)

14. W. C. Schneider : Phosphorus compounds in animal tissues Ⅲ. A comparison of methods for the estimation of nucleic acids. J. Biol. Chem., **164**, 747－751, (1946)

15. K. Burton : A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem. J., **62**,315－323, (1956)

16. A. H. Brown : Determination of pentose in the presence of large quantities of glucose. Arch. Biochem., **11**, 269－278, (1946)

17. O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall : Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., **193**, 265－275, (1951)

18. G. M. Higgins, R. M. Anderson : Experimental pathology of the liver Ⅶ. Restoration of the liver after partial surgical removal and ligation of the bile duct in white rats. Arch. Path.,**14**, 42－49, (1932)

19. F. C. Mann, F. C. Fishback, J. G. Gay, G. F. Green : Experimental pathology of the liver, studies Ⅲ, Ⅳ, Ⅴ, Arch. Path., **12**, 787－793, (1931)

20. G. R. Cameron : Liver regeneration and biliary obstruction. J. Path. Bact., **41**, 283－288, (1935)

21. C. C. Ferguson, C. S. Rogers, H. M. Vars :

Liver regeneration in the presence of common bile duct obstruction. Am. J. Physiol., **159**, 343 - 350, (1949)

22. K. Weinbren : The effect of bile duct obstruction on regeneration of the rat's liver. Brit. J. Exptl. pathol., **34**, 280 - 289, (1953)

23. C. H. Andrus, G. Pechet, R. A. MacDonald : Bile duct obstruction and regeneration of the liver. Proc. Soc. Exptl. Biol, Med., **106**, 809 - 812, (1961)

24. M. Yamamoto, T. Yamada, T.Ida, K. Ozawa : Inhibitory effects of jaundice on regenerating liver. Res. Exp. Med., **171**, 121 - 128, (1977)

25. B. Fisher, P. Szuch, M. Levine, E. R. Fisher : A portal blood factor as the humoral agent in liver regeneration. Science, **171**, 575 - 577, (1971)

26. 小沢和恵, 山岡義生, 本庄一夫: 肝再生と門脈血内の因子. 医学のあゆみ, **88**, 283 - 288, (1974)

27. C. G. D. Morley, H. S. Kingdon: The regulation of cell growth I. Identification and partial characterization of a DNA synthesis stimulating factor from the serum of partial hepatectomized rats. Biochem. Biophys. Acta,**308**, 260 - 275, (1973)

28. M. B. Hoagland, B. A. Askonas : Aspects of control of protein synthesis in normal and regenerating rat liver, I. A cytoplasmic RNA containing fraction that stimulates aminoacid incorporation. Proc. N. A. S.,**49**, 130 - 137, (1963)

29. H. Onda, J. Yoshikawa : Presence of hepatocyte-specific mitotic inhibitor in normal rat plasma. GANN, **64**, 139 - 149, (1973)

30. M. B. Hoagland, O. A. Scornik, L. C. Pfefferkorn : Aspects of control of protein synthesis in normal and regenerating rat liver Ⅱ. A microsomal inhibitor of aminoacid incorporation whose action is antagonized by guanosine triphosphate. Proc. N. A. S., **51**, 1184 - 1191, (1964)

31. 佐藤寿雄. 小山研二 : 閉塞性黄疸の病態生理 - 肝障害を中心として -. 外科, **36**, 426 - 433, (1974)

32. K. Weinbren : Regeneration of the liver. Gastroenterol., **37**, 657 - 668, (1959)

33. P. N. Campbell, O. Greengard, B. A. Kernot : Studies on the synthesis of serum albumin by the isolated microsome fraction from rat liver. Bioch., **74**, 107 - 117, (1960)

34. G. Schreiber, J. Urban, J. Zähringer, W. Reutter, U. Frosch : The secretion of serum protein and the synthesis of albumin and total protein in regenerating rat liver. J. Biol. Chem., **246**, 4531 - 4538, (1971)

35. 緒方規矩雄: 血清アルブミンの生合成. 代謝, **10**, 281 - 290, (1973)

36. 江上不二夫編: 核酸及核蛋白質下巻, 143 - 149, 共立出版, 東京, 1951

37. 上代淑人: 蛋白質の生合成 - 最近の進歩 - 代謝, **10**, 262 - 271, (1973)

38. 松尾靖司: 閉塞性黄疸肝における核酸代謝について. 肝臓, **14**, 442 - 453, (1973)

39. R. E. Stowell : Alterations in nucleic acids during hepatoma formation in rats fed p-dimethylaminoazobenzene. Cancer, **2**, 121 - 131, (1949)

40. R. E. Stowell : Nucleic acids and cytologic changes in regenerating rat liver. Arch. Path., **46**, 164 - 178, (1948)

41. 森 道夫, 伊林至洋, 高橋弘毅, 友寄高士, 伝法公麿, 小野法爲則: 部分切除後における肝臓の再生と肝小葉の再構築. 医学のあゆみ, **109**, 616 - 617, (1979)

42. R. D. Harkness : Regeneration of liver. Brit. Med. Bull., **13**, 87 - 93, (1957)

43. K. Tsukada, I. Lieberman : Protein synthesis by liver polyribosomes after partial hepatectomy. Biochem. Biophys. Res. Commun., **19**, 702 - 707, (1965)

44. C. Majumdar, K. Tsukada, I. Lieberman : Liver protein synthesis after partial hepatectomy and acute stress. J. Biol. Chem., **242**, 700 - 704, (1967)

45. 中島敏郎: 再生肝の病理. 肝臓, **10**, 110 - 112, (1969)

46. D. B. Cater, B. E. Holmes, L. K. Mee : Cell division and nucleic acid synthesis in the regenerating liver of the rat. Acta Radiol., **46**, 655 - 667, (1956)

47. N. L. R. Bucher, M. N. Swaffield : The rate of incorporation of labeled thymidine into the

deoxyribonucleic acid of regenerating rat liver in relation to the amount of liver excised. Cancer Research, **24**, 1611－1625, (1964)

48. N. L. R. Bucher, M. N. Swaffield, J. F. DiTroia : The influence of age upon the incorporation of thymidine 2-C^{14} into the DNA of regenerating rat liver. Cancer Research, **24**, 509－512, (1964)

49. J. W. Grisham : A morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver ; Autoradiography with thymidine-H^3. Cancer Research, **22**, 842－849, (1962)

50. J. W. Grisham, E. A. Porta : Origin and fate of proliferated hepatic ductal cells in the rats ; Electron microscopic and autoradiographic studies. Exptl. Mole. Path., **3**, 242－261, (1964)

51. **村松正実**: 再生肝におけるRNA合成．第19回日本医学会総会誌，抄録集，1187 － 1188, (1975)

52. **塚田欣司**:再生肝におけるDNA合成の制御－特にRNAおよび蛋白合成との関連について－．蛋白質核酸酵素，**18**, 249 － 258, (1973)

53. **緒方規矩雄**:血清アルブミンの生合成．蛋白質核酸酵素，**12**, 1346 － 1351, (1967)

54. R. Hirokawa, S. Omori, T. Takahashi, K. Ogata : The transfer of aminoacid from soluble ribonucleic acid to microsomal albumin. Biochim. Biophys. Acta, **49**, 612－614, (1961)

55. D. B. Roodyn, P. J. Reis, T. S. Work : Protein synthesis in mitochondria, requirements for the incorporation of radioactive aminoacids into mitochondrial protein. Biochem. J., **80**, 9 － 21, (1961)

56. K. Ogata, R. Hirokawa, S. Omori : Incorporation of leucine into microsomal albumin by microsomes and pH－5 enzymes from normal rat liver. Biochim. Biophys. Acta, **40**, 178－179, (1960)

57. P. A. Owren : Thrombotest, A new method for controlling anticoagulant therapy. Lancet, **2**, 754－758, (1959)

58. **永川宅和，佐々木紘昭，浅野栄一，宮崎逸夫**: 閉塞性黄疸の予後判定－Vit. K負荷 Hepaplastin test. 医学のあゆみ，**104**, 673 － 674, (1978)

59. **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．十全医学会誌，**87**, 498 － 517, (1978)

60. **中谷泰康，高田 昭，金山隆一，松田芳郎，高瀬修二郎，根井仁一**: 肝疾患重症度と肝総予備能力判定の指標について．血液と脈管，**8**, 45 － 50, (1977)

A Study of Liver Regeneration after Partial Hepatectomy in Jaundiced Rats, with Special Reference to Nucleic acid and Protein Synthesis Po Ren Yang, Department of Surgery II, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan. J. Juzen Med. Soc., **89**, 382–402 (1980).

Abstract Hepatic regeneration of the jaundiced liver after partial hepatectomy was studied in rats especially in nucleic acid synthesis as well as protein synthesis. Seventy per-cent hepatectomy after one week obstruction of the bile duct was performed and compared to normal liver resection and also to the jaundiced liver without hepatectomy.

The DNA content in the jaundiced remnant liver was decreased one day after hepatectomy and then gradually increased as in the normal hepatectomy. However, the level of DNA content in the jaundiced remnant liver was higher than normal hepatectomy and lower than the jaundiced liver without hepatectomy. The incorporation rate of ^{3}H-thymidine into the DNA in the jaundiced remnant liver was about 50% lower than normal hepatectomy on the first day of hepatectomy. The RNA and protein contents in the remnant liver, representing the protein synthesis, showed lower increment in the jaundiced liver than in the normal liver after the third day of hepatectomy. The incorporation rate of ^{3}H-Leucine into protein was determined to be lower on the first day in the jaundiced remnant liver and markedly reduced after the third day compared with normal liver resection. The level of serum albumin and Vit. K loaded hepaplastin test both revealed poor recovery after the third day of hepatectomy in jaundiced rats. The value of serum mitochondrial GOT was markedly increased after the third day of hepatectomy in jaundiced rats, showing increasing disturbance of mitochondrial function after hepatectomy.

From these results, it is concluded that regeneration of the jaundiced liver after partial resection can be obtained, but such regeneration is weak and impermanent. The protein synthesis is decreased after the third day of hepatectomy, as a result of increasing mitochondrial disfunction. One must approach the resection of the jaundiced liver with great caution, and keep in mind the fact that hepatic disfunction will increase several days later.

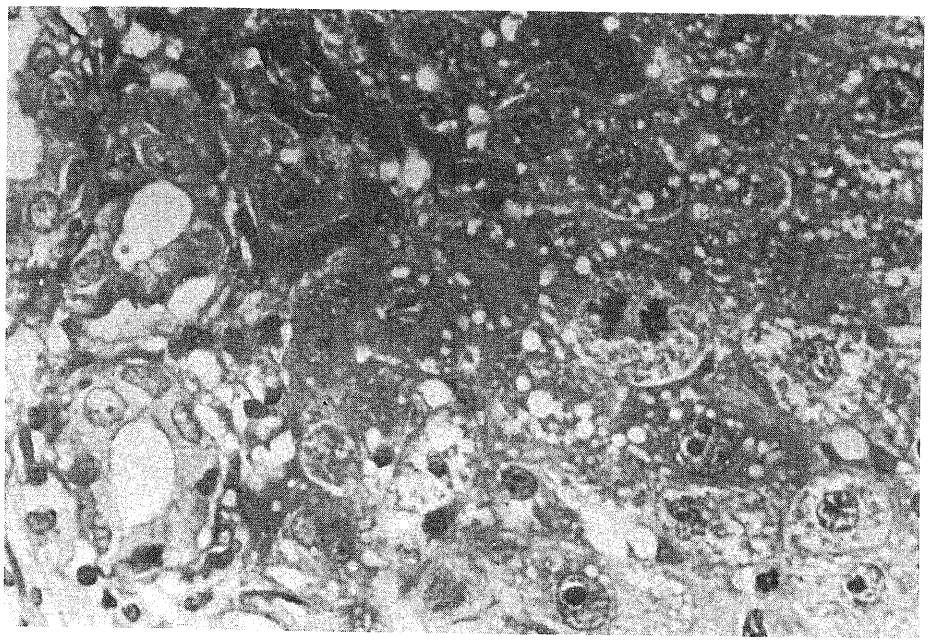


写真1　黄疸肝切群　術後1日目
胆管上皮細胞増殖，肝細胞の大型化，細胞質の空胞及び細胞の有系分裂が見られる．
(H-E×400)

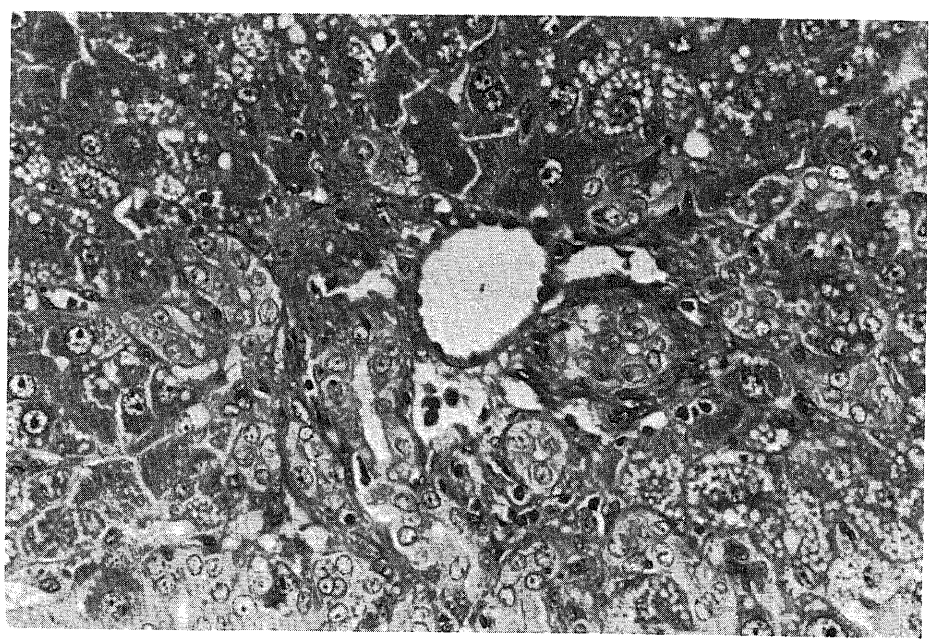


写真2　黄疸肝切群　術後3日目
胆管上皮細胞増殖，肝細胞内の空胞が見られ，門脈を中心とする輪状配列は認められない．
(H-E×200)

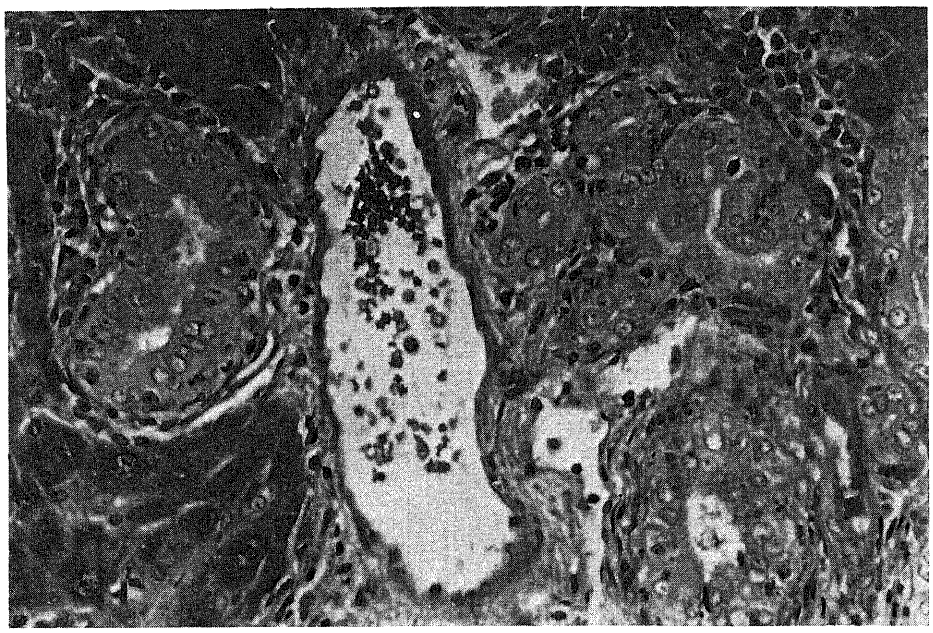


写真3　黄疸肝切群　術後7日目
胆管上皮細胞増殖が見られ，肝細胞内の空胞及び門脈を中心とする輪状配列は認められない．
(H-E×200)

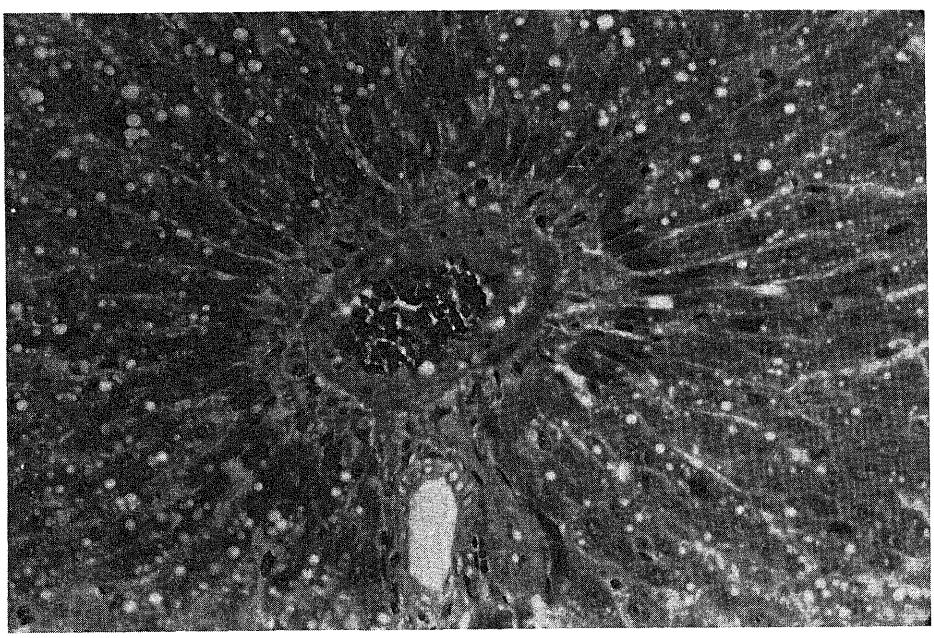


写真4　正常肝切群　術後3日目
肝細胞の門脈を中心とする輪状配列，細胞の大小不同，核濃染像及び細胞質の空胞が見られる．
(H-E×200)

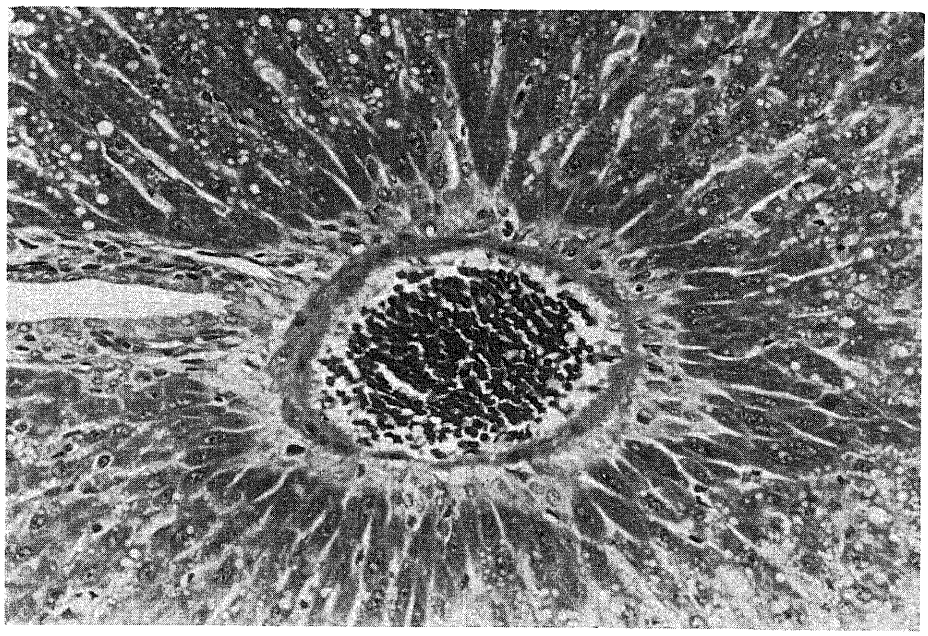


写真5　正常肝切群　術後7日目
肝細胞の門脈を中心とする輪状配列及び細胞質の空胞が見られる．(H-E×200)

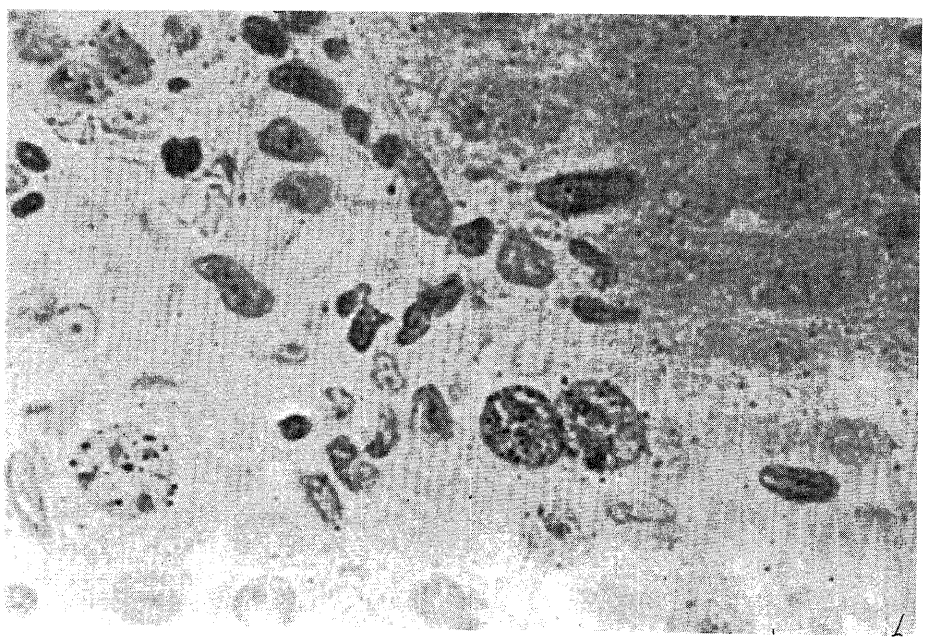


写真6　黄疸肝切群　術後1日目の Autoradiogram.
肝細胞核に ^{3}H-Thymidine の取込顆粒が見られ，胆管上皮細胞核にはほとんど見られない．
(2週間曝露　×650)

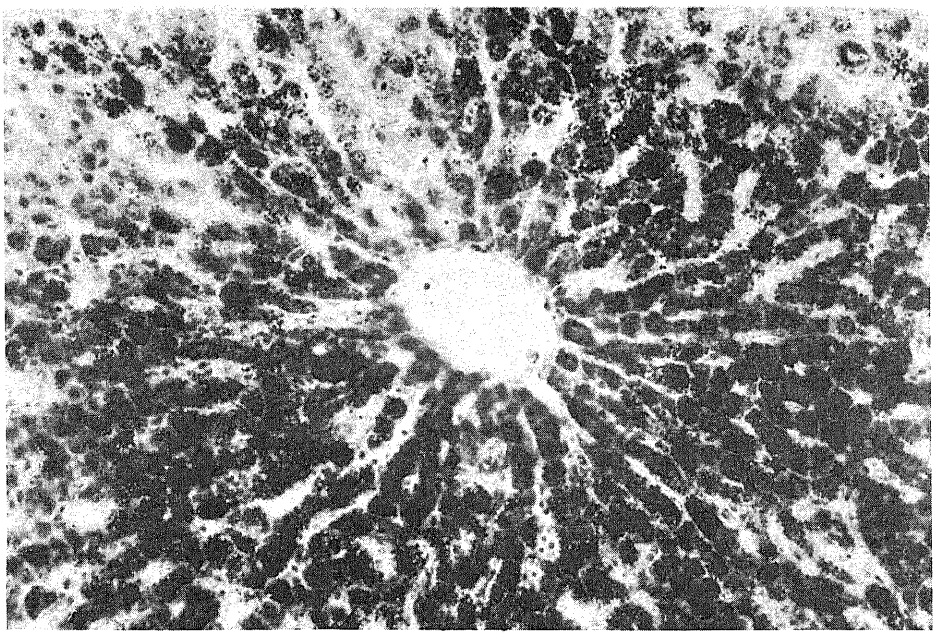


写真7　黄疸肝切群　術後3日目
肝小葉の肝細胞質に多数の脂肪顆粒が見られ，中央に中心静脈が見られる．
(脂肪染色　×100)