

# 温阻血に伴う肝代謝異常とこれに対する free radical scavenger の役割

花 崎 和 弘  
信州大学医学部第2外科学教室  
(主任: 飯田 太教授)

## Metabolic Disturbances during Warm Ischemic Liver and the Role of the Free Radical Scavenger

Kazuhiro HANAZAKI  
*Department of Surgery, Shinshu University School of Medicine*  
(Director: Prof. Futoshi IIDA)

Metabolic disturbances in the canine liver during warm ischemia and the role of Coenzyme Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) were studied.

Mongrel dogs were divided into three groups; control group and groups of liver ischemia with and without CoQ<sub>10</sub> pretreatment. Liver ischemia was induced by Pringle's method for 60min. Mesenterial congestion was prevented by draining portal blood to the right femoral vein using Anthron catheter during ischemic time. CoQ<sub>10</sub> (5mg/kg) was intravenously administered 60min before Pringle's procedure in the group of ischemia with CoQ<sub>10</sub>. Extraction rates of insulin, glucagon and glucose and production of lipid peroxides in the three groups were examined at the points before Pringle's procedure and 5min, 60min and 120min after starting reperfusion.

In the group of ischemia without CoQ<sub>10</sub> pretreatment, the extraction of insulin and glucose from the liver was decreased at 5min after starting reperfusion. The extraction of glucagon, however, was not changed by warm ischemia. The production of lipid peroxides was increased at 5min after starting reperfusion. In the group of CoQ<sub>10</sub> pretreatment, changes of insulin metabolism in the liver were improved, and an increased production of lipid peroxides by warm ischemia was normalized.

This study suggested that CoQ<sub>10</sub> protects liver damage by warm ischemia resulting in improvements of metabolic disturbance of insulin and the suppression of lipid peroxides production. *Shinshu Med. J.*, 38: 355-362, 1990

(Received for publication January 31, 1990)

---

**Key words :** warm ischemia of liver, insulin, glucagon, lipid peroxides, CoQ<sub>10</sub>  
肝温阻血, インスリン, グルカゴン, 過酸化脂質, CoQ<sub>10</sub>

---

## I 緒 言

近年、肝移植は末期の肝疾患に対する有効な治療法として確立されつつある。しかし、移植肝が graft failure に陥り再移植を必要とする場合も少なくなく、このような症例の多くは移植肝の primary non-functioning によるものと考えられている。Primary non-functioning liver の最大の誘因として移植時に発生する温阻血障害が挙げられている<sup>1)</sup>。したがって温阻血障害の病態を明らかにし、障害の程度を軽減することは移植成績を向上させる上で重要である。そこで著者は肝温阻血障害の指標として、肝におけるグリコーゲン代謝を調節する膵ホルモンであるインスリンおよびグルカゴンと過酸化脂質に着目し、さらに温阻血障害に対する free radical scavenger, Coenzyme Q<sub>10</sub> (以下 CoQ<sub>10</sub> とする) の有効性について検討した。

## II 対象と方法

Fig. 1 に示すように体重 10kg~15kg の雑種成犬を用い、ペントバルビタール (30mg/kg) 静脈麻酔により、気管内挿管し、レスピレーターによる調節呼吸下に実験を施行した。実験室内は摂氏25度前後にし、摂氏40度に設定した保温用マットを用い、摂氏35度前

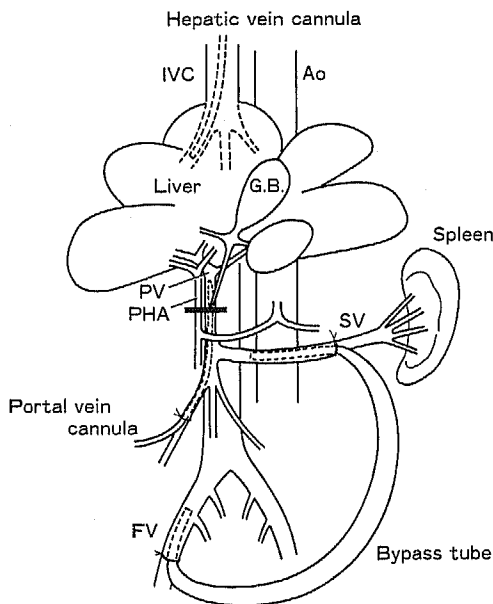


Fig. 1 Diagram of the experiment

後の体温を維持した。

採血用ルートは、外頸静脈よりカテーテルを右肝静脈内に挿入し、肝静脈血採血用とし、上腸間膜静脈よりカテーテルを門脈本幹内に挿入し、門脈血採血用とした。また末梢静脈血採血用および輸液ルートとして、右大腿静脈にカテーテルを挿入し、実験中、生理食塩水 20ml/kg/hr を持続点滴した。

肝阻血方法は Pringle 法により、60分間、肝門部で門脈および肝動脈の血行を遮断し、阻血時は門脈バイパス用カテーテル、アンスロン® (TORAY) を用い、脾静脈から左大腿静脈へ門脈血をバイパスし、腸管のうっ血を予防した。

採血は、阻血前、阻血解除5分後、解除1時間後、解除2時間後に肝静脈、門脈および末梢静脈血の同時採血を行い、直ちに遠心分離 (30分間, 3,000×G) し、血清を凍結した。以上の実験を温阻血・CoQ<sub>10</sub> 非使用群 (以下 CoQ<sub>10</sub> 非使用群) とした。また阻血開始60分前に CoQ<sub>10</sub> 5mg/kg を one shot 静注し、前述同様の実験を行い、これを温阻血・CoQ<sub>10</sub> 使用群 (以下 CoQ<sub>10</sub> 使用群) とした。一方、単開腹を行い、上記の実験群と同様の時間に採取したものを対照群とした。実験に使用した犬は各群6頭とした。インスリンおよびグルカゴンの測定にはそれぞれの測定用キット (いずれもダイナボット社) を使用し、RIA 法によって行った。血清過酸化脂質は、過酸化脂質測定用キット (ワコー社) を用い、八木法 (螢光法) により測定した。

肝代謝率は門脈血清値-肝静脈血清値/門脈血清値として算出した。また、末梢静脈のインスリン/グルコース比 (I/Gc 比) およびグルカゴン/グルコース比 (Gg/Gc 比) を算出して検討した。統計学的検討は分散分析 (ANOVA) を行った後、Dunnett's test にて検定し、有意差判定は危険率5%以下をもって有意と判定した。記載はすべて平均値±標準誤差 (Mean ± S. E.) で示した。

## III 成 績

## A インスリンの変動

Fig. 2 のごとく対照群, CoQ<sub>10</sub> 非使用群, CoQ<sub>10</sub> 使用群のいずれにおいても門脈血インスリン値は肝静脈血および末梢静脈血のそれに比較して常に高値を示した。また肝静脈血インスリン値は対照群および CoQ<sub>10</sub> 使用群では末梢静脈血値とほぼ同様の変動を示したが、CoQ<sub>10</sub> 非使用群では阻血解除5分後に有意 ( $p < 0.05$ ) の上昇を示した。

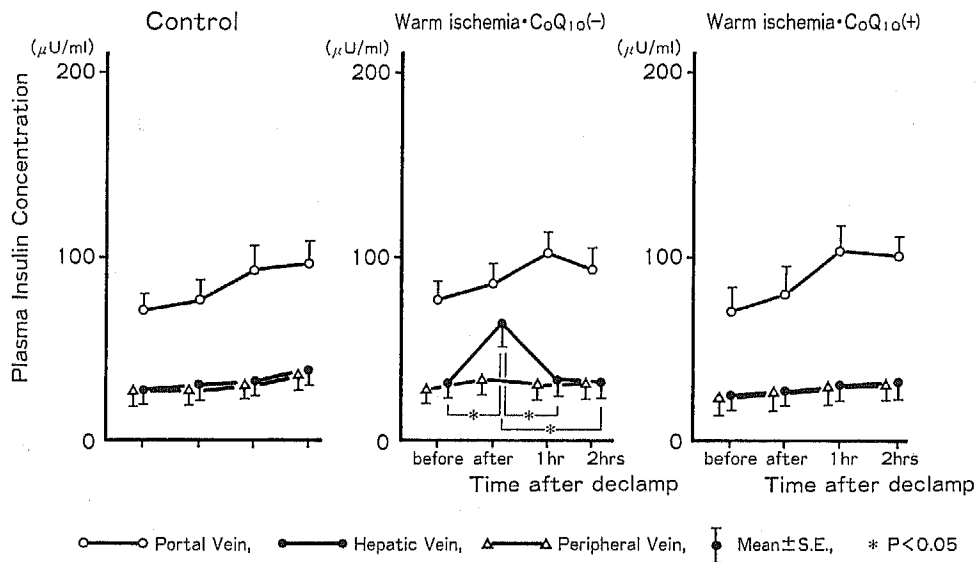


Fig. 2 Plasma insulin concentration

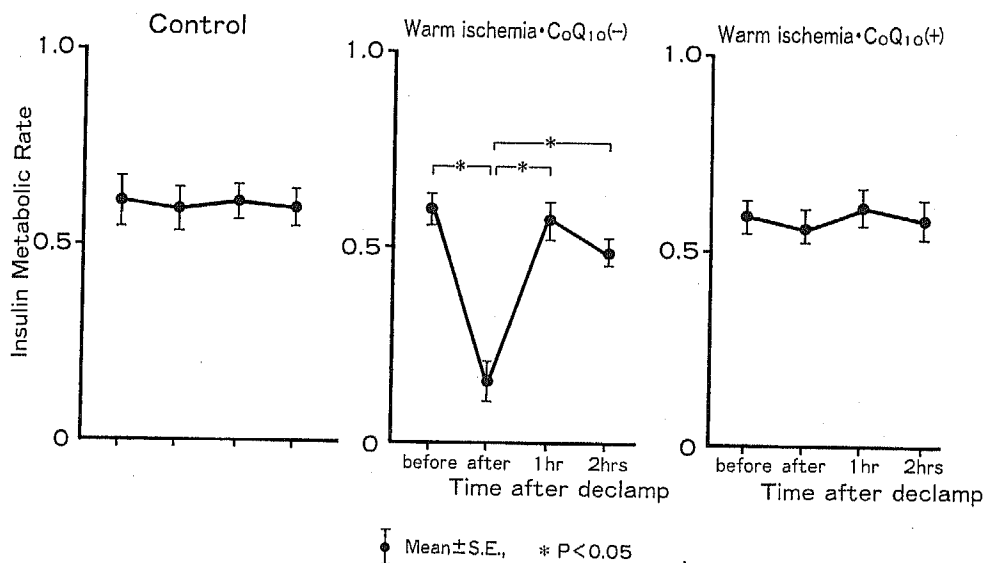


Fig. 3 Insulin metabolic rate

肝におけるインスリン代謝率は Fig. 3 のごとく CoQ<sub>10</sub> 非使用群では阻血解除 5 分後に有意 ( $p < 0.05$ ) の低下を示したが、60 分後には前値に復した。これに対し、CoQ<sub>10</sub> 使用群においては、対照群と同様インスリン代謝率の低下は認められなかった。

#### B グルカゴンの変動

Fig. 4 のごとく対照群, CoQ<sub>10</sub> 非使用群, CoQ<sub>10</sub> 使用群のいずれにおいても門脈血グルカゴン値は肝静脈血のそれに比較して、常に高値を示し、末梢静脈血グルカゴン値は肝静脈血値とほぼ同様な変動を示した。

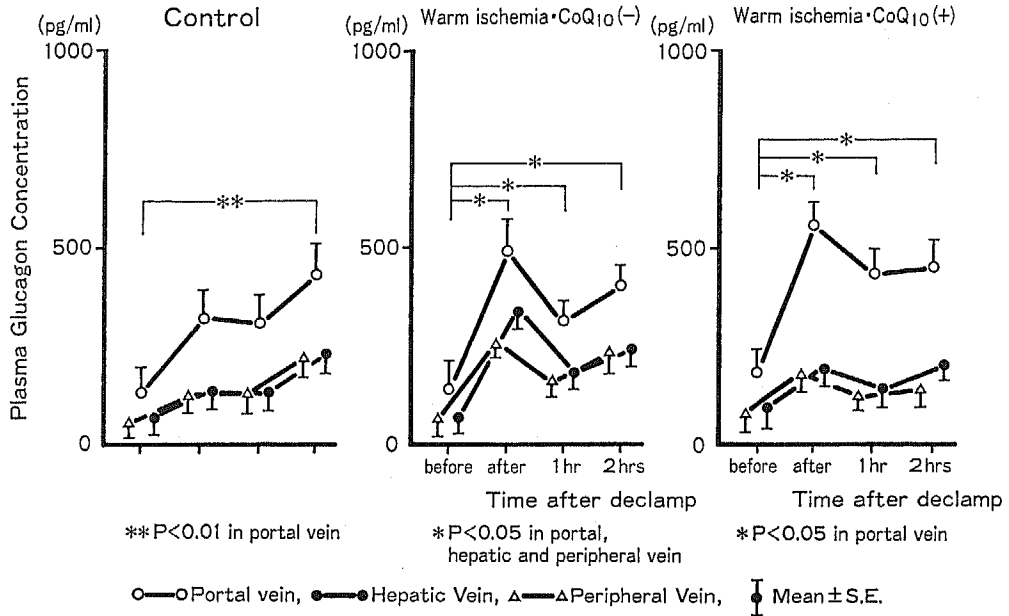


Fig. 4 Plasma glucagon concentration

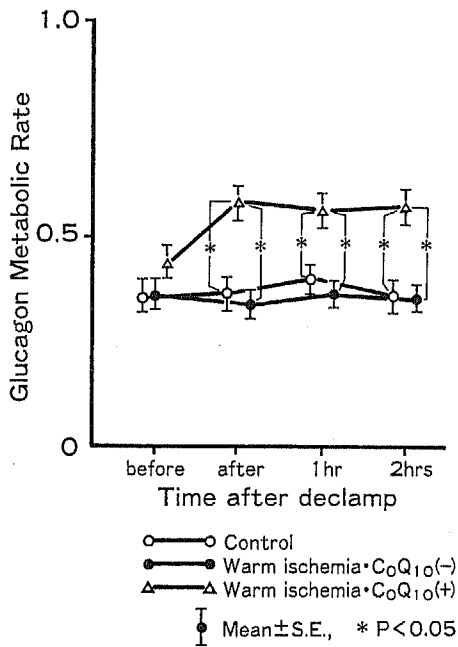


Fig. 5 Glucagon metabolic rate

また門脈血グルカゴン値は対照群において初回採血時と比べ最終採血時には有意 ( $p < 0.01$ ) に上昇しており, CoQ<sub>10</sub> 非使用群, CoQ<sub>10</sub> 使用群では阻血前に比べ, 阻血解除後は有意 ( $p < 0.05$ ) に上昇していた。さらに肝静脈および末梢静脈血グルカゴン値は CoQ<sub>10</sub> 非使用群において阻血解除後有意 ( $p < 0.05$ ) に上昇していた。

肝におけるグルカゴン代謝率は Fig. 5 のごとく, CoQ<sub>10</sub> 非使用群は実験過程中, 対照群と同様, ほとんど変動を示さなかった。しかし CoQ<sub>10</sub> 使用群では阻血解除後, CoQ<sub>10</sub> 非使用群および対照群に比較して有意 ( $p < 0.05$ ) の上昇がみられ, 解除 2 時間後まで持続した。

#### C 血糖値の変動

Fig. 6 のごとく, 対照群では肝静脈血糖値は門脈血糖値より常に高値を示し, 末梢静脈血糖値は門脈血糖値とはほぼ同値を示した。CoQ<sub>10</sub> 非使用群における肝静脈および末梢静脈血糖値は阻血解除 5 分後有意 (それぞれ  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ) に上昇したが, 門脈では有意の変動を示さなかった。CoQ<sub>10</sub> 使用群においては肝静脈血糖値は CoQ<sub>10</sub> 非使用群とはほぼ同様阻血解除 5 分後に有意 ( $p < 0.01$ ) の上昇を示したが, 門脈および末梢静脈では有意の変動を示さなかった。肝に

温阻血に伴う肝代謝異常とこれに対する free radical scavenger の役割

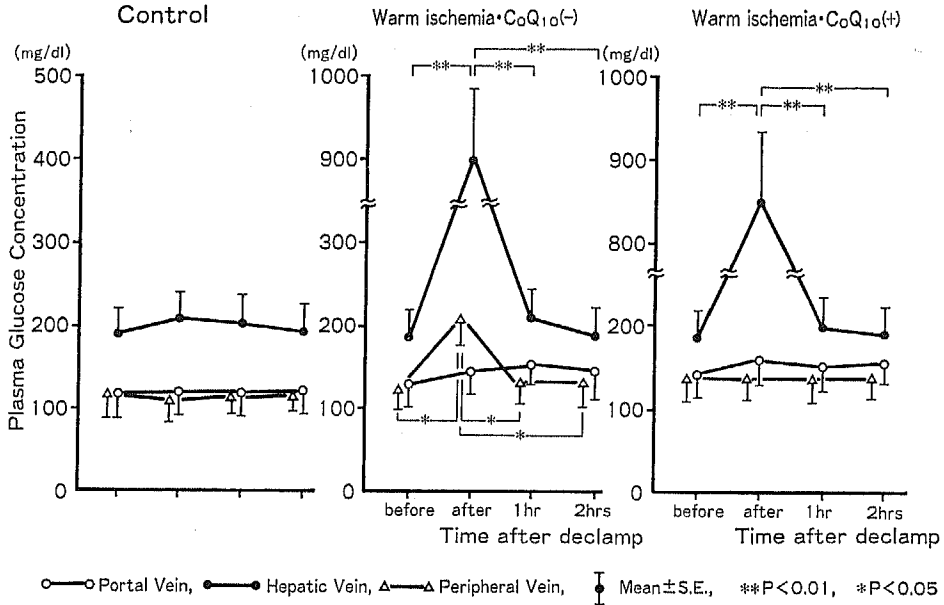


Fig. 6 Plasma glucose concentration

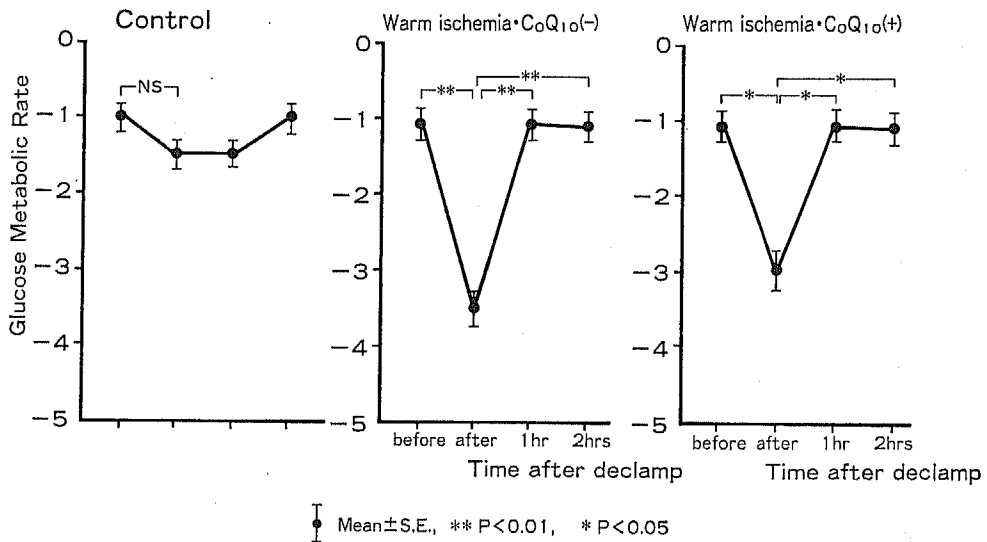


Fig. 7 Glucose metabolic rate

おけるグルコース代謝率は Fig. 7 のごとく CoQ<sub>10</sub> 非使用群および CoQ<sub>10</sub> 使用群のいずれも阻血解除 5 分

後有意 (それぞれ  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ) に低下した。これに対し対照群では有意の変動を示さなかった。

**D I/Gc 比の変動**

Fig. 8のごとく末梢静脈の I/Gc 比は CoQ<sub>10</sub> 非使用群では対照群および CoQ<sub>10</sub> 使用群に比べ阻血解除5分後, 解除1時間後および解除2時間後で有意(それぞれ p<0.01, p<0.05, p<0.05)に高値を示した。

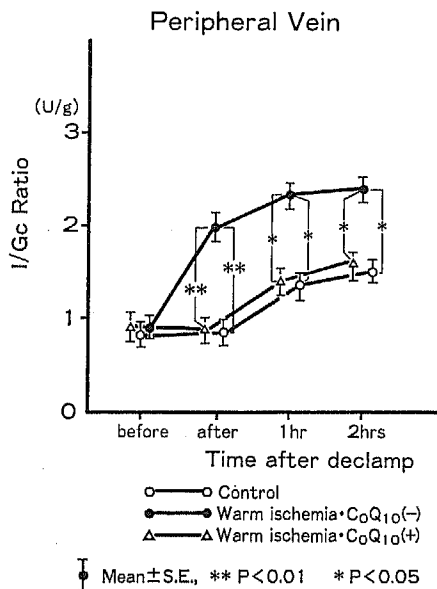


Fig. 8 Insulin/glucose (I/Gc) ratio

**E Gg/Gc 比の変動**

Fig. 9のごとく末梢静脈での Gg/Gc 比の変動をみると CoQ<sub>10</sub> 非使用群は対照群および CoQ 使用群に比べ阻血解除5分後においてのみ有意 (p<0.05) に高値を示した。

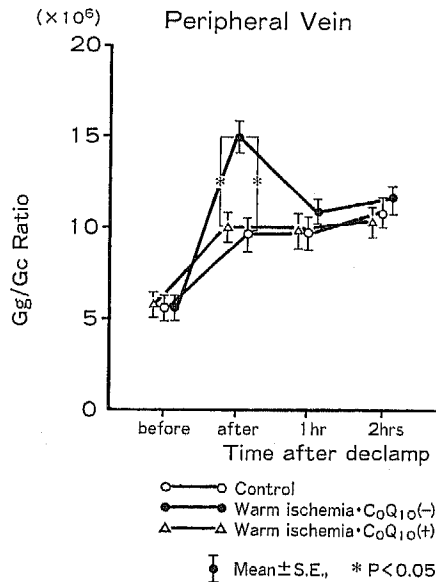


Fig. 9 Glucagon/glucose (Gg/Gc) ratio

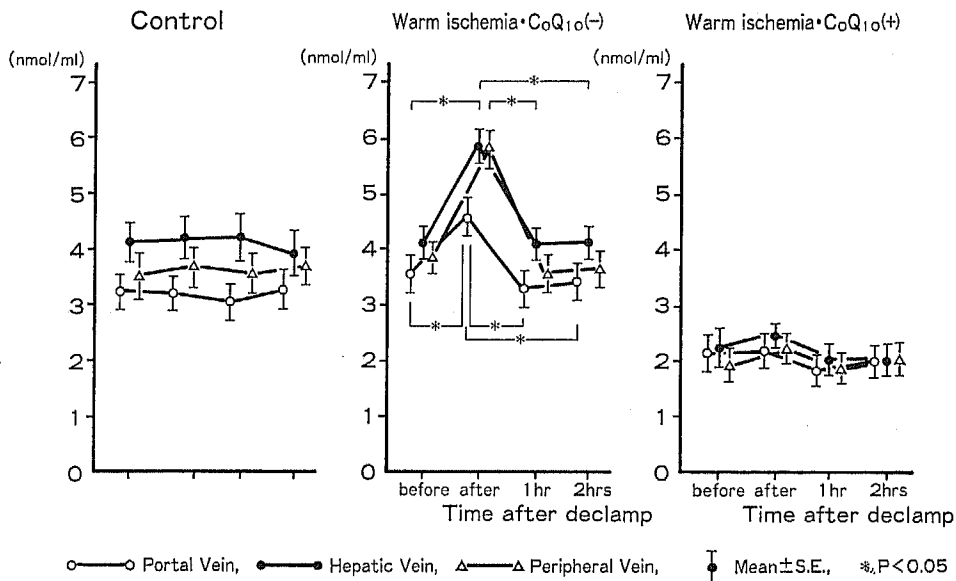


Fig. 10 Plasma lipid peroxides concentration

#### F 過酸化脂質の変動

Fig. 10のごとく CoQ<sub>10</sub> 非使用群における阻血前の血清過酸化脂質は対照群に比較して、有意差はみられなかったが、阻血解除5分後には門脈 4.6 ± 0.3 nmol/ml, 肝静脈 6.0 ± 0.3 nmol/ml, 末梢静脈 6.0 ± 0.4 nmol/ml といずれも有意 (p < 0.05) に上昇した。また、CoQ<sub>10</sub> 使用群では阻血前、阻血解除後明らかな変動を示さず、かつ、全経過中門脈、肝静脈、末梢静脈のいずれも各測定値は対照群に比べ有意 (p < 0.05) に低値を示した。

#### IV 考 察

膵から分泌されたインスリン、グルカゴン等の膵ホルモンは、肝において代謝された後、体循環に入ることには周知の事実である<sup>2)</sup>。肝内ではグルカゴンは cyclic-AMP を介し、インスリンは cyclic-AMP を介さずにグリコーゲン合成酵素の活性化を引きおこし、グリコーゲン合成を促進するとされている<sup>3)4)</sup>。また肝温阻血および血流再開により free radical が生成され、その関与が肝機能障害を招来する<sup>5)6)</sup>ことが指摘されている。丸林と川崎<sup>7)</sup>はラットによる虚血肝モデルにおいて CoQ<sub>10</sub> が虚血障害に対し、保護作用を有することを報告し、虚血肝障害に対する CoQ<sub>10</sub> の有用性が注目されるようになってきた。

本実験において門脈血のインスリン値は肝静脈血のそれより常に高値を示すことより、インスリンは肝内で extraction されていることが明らかとなった。またインスリンの肝における代謝率は60分間の肝温阻血の解除5分後有意に低下したが、この温阻血による変化は CoQ<sub>10</sub> 処置により改善された。すなわち温阻血による肝でのインスリン代謝の低下は CoQ<sub>10</sub> によって防止できることが判明した。一方、グルカゴンの変動をみるとインスリン同様に門脈血グルカゴン値は肝静脈血のそれより常に高値を示し、肝内におけるグルカゴンの extraction が示唆された。対照群において門脈血グルカゴン値が時間経過とともに上昇していく原因としては、麻酔および開腹操作等による影響が予想され、さらに CoQ<sub>10</sub> 非使用群、CoQ<sub>10</sub> 使用群ではそれに温阻血による障害が加わり、再灌流直後より急激に上昇したと考えられた。また温阻血による肝静脈および末梢静脈血でのグルカゴン値上昇は CoQ<sub>10</sub> によりある程度防止できた。グルカゴンの肝代謝率はインスリンのそれと異なり温阻血によって変化せず、CoQ<sub>10</sub> 使用により上昇することが明らかになった。こ

れらの結果より肝温阻血時における肝でのインスリン代謝はグルカゴン代謝に比べより強く障害されることが推測された。教室の梶川ら<sup>8)</sup>は黄痘犬におけるインスリン、グルカゴンの代謝率を検討した結果、胆汁うっ滞をおこした肝においてもインスリンの肝代謝低下はみられたが、グルカゴンの肝代謝低下はみられなかったと報告している。これらの成績から著者は温阻血、胆汁うっ滞等によって障害を受けた肝ではインスリンとグルカゴン代謝障害に差があり、グルカゴン代謝は比較的良好に維持されているものと考えている。しかし、CoQ<sub>10</sub> 使用群で温阻血後グルカゴン代謝率が上昇する機序については今後さらに検討する必要がある。

インスリン、グルカゴンの最も重要な作用は末梢血中の血糖調節であることはよく知られており<sup>9)10)</sup>、温阻血および CoQ<sub>10</sub> 使用によるインスリン、グルカゴンの変動は当然血糖値に反映されることが予測される。温阻血肝における血糖値変動の特徴は、再灌流直後の肝静脈および末梢静脈血糖値の著明な上昇と肝グルコース代謝率の低下である。これは肝からのグルコースの放出が温阻血によって促進されているものと考えられる。この血糖値変動に対する CoQ<sub>10</sub> の影響をみると、再灌流直後の肝静脈血糖値の著明な上昇および肝代謝率の低下に対しては CoQ<sub>10</sub> 処置による改善はみられなかったが、末梢静脈での高血糖状態は CoQ<sub>10</sub> 処置により是正された。小澤<sup>11)</sup>は虚血障害による肝ミトコンドリア機能低下時には肝における糖質代謝異常により、血糖調節が困難になることを指摘している。本実験では温阻血障害により末梢静脈での高血糖状態が生じており、この変化に対し CoQ<sub>10</sub> は有用であることが判明した。著者は温阻血肝の再灌流直後にみられる末梢静脈での高血糖の発生機序と CoQ<sub>10</sub> 投与の影響を明らかにするために、インスリンおよびグルカゴンとグルコースとの比率を算出し検討した。末梢静脈血の I/Gc 比は温阻血、再灌流後に著明に上昇するが、この変化は CoQ<sub>10</sub> により対照群と同程度にまで改善された。また末梢静脈血の Gg/Gc 比は再灌流直後に高値を示したが、CoQ<sub>10</sub> により対照群と同程度に是正された。従来よりグルカゴンは血糖値を上昇させる働きをもつとされており、CoQ<sub>10</sub> は再灌流直後の末梢静脈血の Gg/Gc 比を対照群レベルまで改善させることにより、高血糖の改善に対し有効に働いたと考えられた。また CoQ<sub>10</sub> 使用群では前述したように、再灌流直後におけるインスリンの肝代謝率および I/Gc 比を対照群のレベルまで改善させることにより、正常

に近い耐糖能が得られていることが予想された。

一般に阻血で生じる free radical より過酸化脂質が生成され、血清過酸化脂質の上昇が血管障害を引きおこし虚血組織障害の原因になると考えられている<sup>12)</sup>。本研究により、通常の状態では血清過酸化脂質は門脈、肝静脈、末梢静脈のいずれにおいても3~4 nmol/mlに維持されていることが判明した。また温阻血実験では阻血解除5分後には門脈、肝静脈、末梢静脈血清中の過酸化脂質は有意に上昇するが、解除1時間後には正常値に回復すること、これらの変化はCoQ<sub>10</sub>により抑制され、かつ全体として対照群より低値を示すことが明らかとなった。重篤な組織障害を惹起する血清過酸化脂質の濃度をYagi<sup>13)</sup>は5nmol/ml以上と規定しているが、今回の犬による実験ではCoQ<sub>10</sub>非使用群の阻血解除後は一時的ではあるが、肝静脈血および末梢静脈血において6nmol/mlに達し、組織障害を憂慮しなければならない濃度であった。またCoQ<sub>10</sub>使用により、血清過酸化脂質が阻血前すでに対照群に比較し、有意の低値を示したことにより、CoQ<sub>10</sub>は温阻血による肝での過酸化脂質産生のみならず、全身における過酸化脂質の産生を抑制することが判明した。

以上の実験から温阻血に伴い肝ではインスリン、グ

ルカゴン、グルコースおよび過酸化脂質等の代謝に種々の異常が発生し、これらの異常の改善にCoQ<sub>10</sub>は有用であることが判明した。

## V 結 論

1) 60分間の温阻血、再灌流直後にインスリンの肝での代謝低下がみられたが、これはCoQ<sub>10</sub>処置により改善された。

2) 60分間の温阻血により、グルカゴンの肝での代謝は比較的良好に維持されていた。またCoQ<sub>10</sub>処置により再灌流後の肝代謝率の上昇がみられた。

3) 肝温阻血、再灌流直後における末梢静脈血糖値の上昇時にはI/Gc比およびGg/Gc比の上昇がみられ、この変化はCoQ<sub>10</sub>処置により消失した。

4) 血清過酸化脂質は阻血前に比較し、60分間温阻血、再灌流直後には肝静脈、門脈および末梢静脈で有意に上昇したが、CoQ<sub>10</sub>により、これらの変化は抑制され、かつ阻血前すでに有意の低値を示した。

本論文の要旨は第7回消化器臓器相關研究会(1989年9月、京都)、第31回日本消化器病学会総会(1989年10月、旭川)において発表した。

## 文 献

- 1) Shaw, B.W., Gordon, R.D., Iwatsuki, S. and Starzl, T.E.: Hepatic Replantation. *Transplant Proc*, 17: 264-271, 1985
- 2) 石田俊彦: 肝糖産生におけるグルカゴンの役割. *ホルモンと臨床*, 33: 211-219, 1985
- 3) Mersmann, H.J. and Segal, H.L.: Glucocorticoid control of the liver glycogen synthetase-activating system. *J Biol Chem*, 244: 1701-1704, 1969
- 4) Miller, T.B. and Larner, J.: Mechanism of control of hepatic glycogenesis by insulin. *J Biol Chem*, 248: 3483-3488, 1973
- 5) 川崎 尚, 住元一夫: 虚血臓器障害とその保護. *蛋白質・核酸・酵素*, 33: 501-510, 1988
- 6) Olson, L.M., Klintmalm, G. B., Husberg, B.S., Nery, J.R., Whitten, C.W., Paulsen, A.W. and McClure, R.: Superoxide dismutase improves organ preservation in liver transplantation. *Transplant Proc*, 20: 961-964, 1988
- 7) 丸林誠二, 川崎 尚: 虚血肝とフリーラジカル. *フリーラジカルの臨床*, 2: 139-147, 1987
- 8) 梶川昌二, 黒田孝井, 山岸喜代文, 堀米直人, 花崎和弘, 袖山治嗣, 飯田 太: 閉塞性黄疸時のインスリン動態. *医学のあゆみ*, 150: 627-628, 1989
- 9) Felig, P. and Wahren, J.: The liver as site of insulin and glucagon action in normal, diabetic and obese humans. *Isr J Med Sci*, 11: 528-539, 1975
- 10) Berzins, R., Tam, Y.K., Molnar, G. D., Rajotte, R.V., Wiczorek, K.R., McGregor, J. and Fawcett, D.M.: Pharmacokinetic approach to the estimation of hepatic removal of insulin. *Pancreas*, 1: 544-549, 1986
- 11) 小澤和恵: ミトコンドリアから肝臓外科へ. 第1版, pp.58-67, メディカル トリビューン, 東京, 1989
- 12) 八木国夫: 血管障害と活性酸素. *代謝*, 25: 815-821, 1988
- 13) Yagi, K.: *Lipid Peroxides in Biology and Medicine*. 1st ed., pp.223-242, Academic Press, New York, 1982

(2. 1. 31 受稿)