

実験的肝障害, 肝再生におよぼすグルカゴン, インシュリン, グルココルチコイドの効果

野 沢 敬 一
信州大学医学部第2内科学教室
(主任: 古田精市教授)

Effects of Glucagon, Insulin and Glucocorticoid on Experimental Liver Injuries and Liver Regeneration

Keiichi NOZAWA
Department of Internal Medicine, Shinshu University School of Medicine
(Director: Prof. Seiichi Furuta)

The effects of glucagon-insulin and glucocorticoid on the liver were studied in rats treated with D-galactosamine and carbon tetrachloride or in rats which had undergone partial hepatectomy. Treatment with glucocorticoid or glucagon-insulin suppressed liver injuries induced by chemical compounds, but the magnitude of suppression was less in the glucocorticoid treatment than in the glucagon-insulin treatment. Glucagon-insulin treatment stimulated, whereas glucocorticoid treatment inhibited, DNA synthesis of hepatocytes after partial hepatectomy. Stimulation of DNA synthesis induced by glucagon-insulin treatment was inhibited by simultaneous administration of glucocorticoid. These results suggest that glucocorticoid should not be administered when glucagon-insulin treatment has been started for severe liver injuries such as fulminant hepatitis. *Shinshu Med. J.*, 30: 621-633, 1982

(Received for publication August 13, 1982)

Key words: fulminant hepatitis, liver regeneration, glucocorticoid therapy, glucagon-insulin therapy

劇症肝炎, 肝再生, グルココルチコイド療法, グルカゴン・インシュリン療法

I はじめに

急性肝炎は一般に予後良好な疾患であるが、なかには急速に意識障害を主徴とする急性肝不全症状が現れ、その大部分が死の転帰をとる劇症肝炎がある。本邦での急性肝炎に占める劇症肝炎の頻度は平均5.76%であり¹⁾、年間約3,700例の発生がみられる²⁾。劇症肝炎の生存率は10~22.3%以下であり、きわめて予後不良な疾患である¹⁾³⁾⁴⁾。従来その治療法としては glucocor-

ticoid 療法, L-DOPA, 交換輸血, 人工肝補助装置, heparin 療法などがおこなわれてきた。特に glucocorticoid 療法は Ducci と Katz⁵⁾ の有用性の報告以来広く使用され、現在でも最も多くおこなわれている治療法であり、劇症肝炎の亜急性型に有効であったとする報告もある¹⁾。

一方 glucocorticoid 療法は劇症肝炎には無効とする報告⁶⁾⁷⁾もあり、また glucocorticoid の大量使用は感染や消化管出血などの合併症を誘発する危険があり

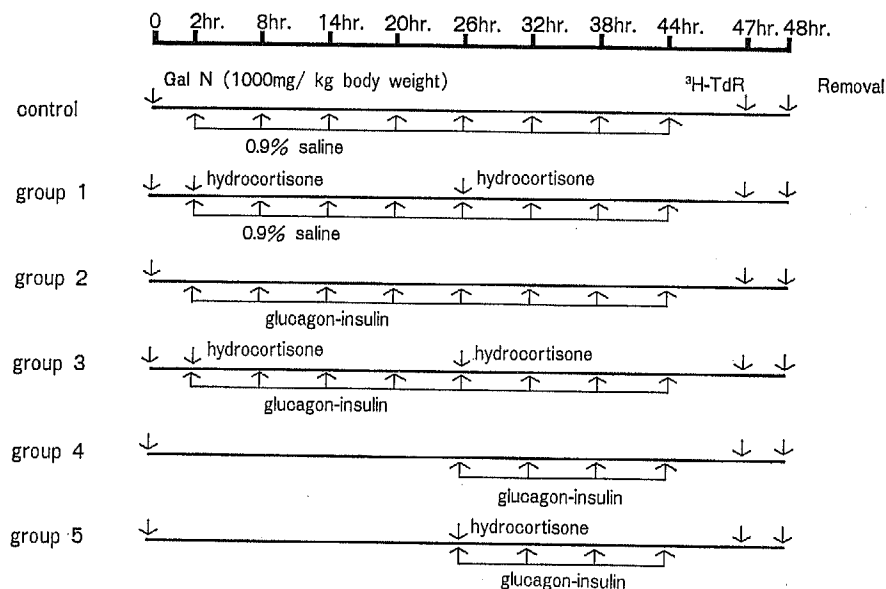
その有効性に疑問が持たれている。

近年, Bucher と Swaffield⁸⁾により glucagon と insulin の併用による 共役的肝細胞再生促進作用が報告されて以来, 劇症肝炎の治療法として glucagon と insulin の併用療法が試みられており, 生存率を高める可能性も報告されている^{9)–11)}。Glucocorticoid 療法や glucagon-insulin 療法がそれぞれ劇症肝炎に対して治療効果が期待されるとすれば, glucocorticoid と glucagon-insulin の併用によりさらにその効果が相加される可能性も考えられるが, これについて検討をおこなった報告はこれまでにみられない。またこれら glucocorticoid, glucagon-insulin の肝障害および肝再生に対する効果は, 肝障害の成因により異なる可能性がある。そこで著者は, 種々の方法による実験的急性肝障害ラットにおける glucocorticoid, glucagon-insulin およびこれらの併用が肝障害, 肝再生にいかなる作用を示すかを検討した。

II 実験対象と方法

実験 1 D-galactosamine (Gal N) 肝障害 :

Experiment 1



Dose : glucagon 0.5mg/kg body weight i. p.
 insulin 0.5 U/kg body weight i. p.
 hydrocortisone 50 mg/kg body weight i. p.

Fig. 1 D-galactosamine-induced hepatic injury and intraperitoneal injection schedules of glucagon-insulin and hydrocortisone. ³H-TdR=³H-thymidine

Experiment 2

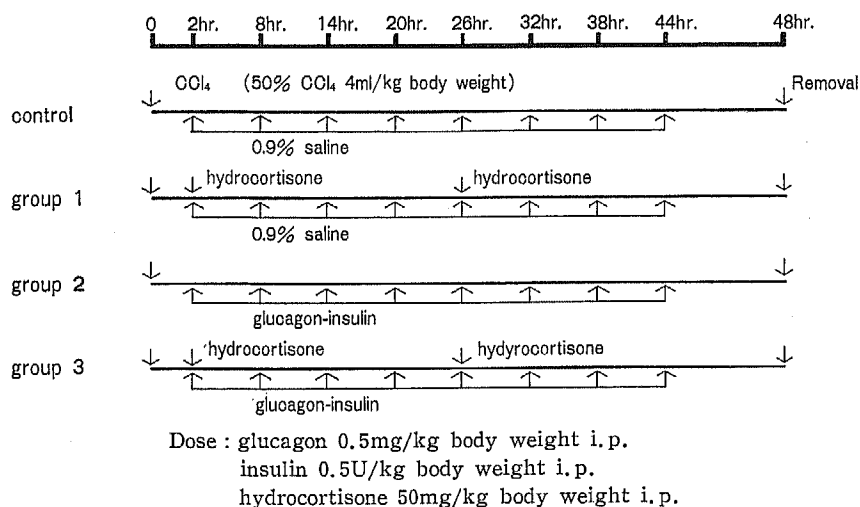


Fig. 2 CCl₄ induced hepatic injury and intraperitoneal injection schedules of glucagon-insulin and hydrocortisone.

Experiment 3

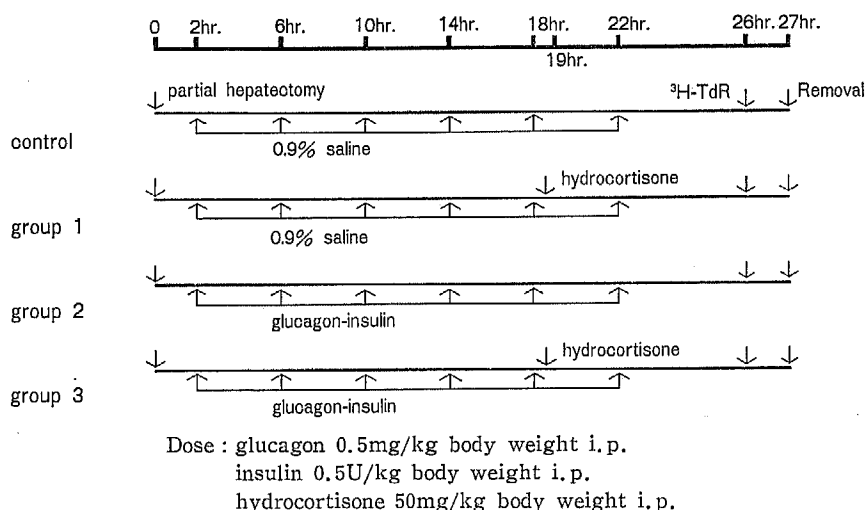


Fig. 3 Partial hepatectomy and intraperitoneal injection schedules of glucagon-insulin and hydrocortisone. ³H-TdR = ³H-thymidine

時間後に hydrocortisone を 1 回投与した。対照群としては、Gal N 投与 2 時間後より生理的食塩水 2 ml を腹腔内に 6 時間ごと 計 8 回投与したものを用いた。各群における肝細胞の DNA 合成能を検討する目的で、屠殺 1 時間前に ³H-thymidine (³H-TdR), 10μCi を腹腔内に投与し、後述の方法により肝細胞

DNA への ³H-TdR の取り込みを測定した。さらに Gal N による肝障害の程度を生化学的な面より検討するために、Gal N 投与 48 時間後、エーテル麻酔下に腹腔動脈より採血し各群について、血清総蛋白 (T. P.), 血清アルブミン (Alb.), 血清総ビリルビン (T. Bil), 血清コレステロール (Chol), 血清 glutamic

pyruvic transaminase (s-GPT) を生化学分析装置を用いて測定し、血糖値 (B.S.) は Hemoscope を用いて測定した。屠殺後ただちに肝臓を摘出し、小切片を10%ホルマリン液で固定後、通常の方法によりパラフィン包埋、薄切りしヘマトキシリン・エオジン染色し、組織学的検討をおこなった。残りの肝臓を後述する方法により、DNA の定量と DNA 中に取り込まれた ^3H -TdR の放射活性を測定し、その比を肝再生の指標とした。

実験2 四塩化炭素肝障害:

体重180~200gの Wistar 系雄ラットを用いた。オリブ油と1:1に混じた50% CCl_4 4ml/kg 体重を、約20時間絶食させたラットに1回経口投与し、実験1と同様に Fig. 2のごとく glucagon 0.5mg/kg 体重、insulin 0.5U/kg 体重、および hydrocortisone 50mg/kg 体重を投与した。 CCl_4 投与48時間後エーテル麻酔下に腹腔動脈より採血し、T.P, Alb, T.Bil, Chol, s-GPT および血糖値を測定した。屠殺後ただちに肝臓を摘出し、実験1と同様の方法でヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し病理組織学的検索をおこなった。

実験3 実験的肝部分切除:

体重180~220gの Wistar 系雄ラットを用いた。ラットは術前約20時間絶食とし、エーテル麻酔下に Higgins と Anderson の方法¹²⁾にしたがって68%肝部分切除をおこなった。肝切除は午前9時から11時の間に施行した。Fig. 3のごとく、1群は肝切除2時間後より生理的食塩水2mlを腹腔内に投与し、以後4時間ごと計6回投与した。さらに肝切除19時間後に hydrocortisone 50mg/kg 体重を腹腔内に投与した。2群は肝切除2時間後より glucagon 0.5mg/kg 体重、insulin 0.5U/kg 体重、を同時に腹腔内に投与し以後4時間ごと計6回投与した。3群は2群と同様に glucagon, insulin を投与し、さらに肝切除19時間後 hydrocortisone 50mg/kg 体重を腹腔内に投与した。対照群として、肝切除2時間後より生理的食塩水2mlを腹腔内に投与し、以後4時間ごと計6回投与したものをを用いた。各群とも肝切除26時間後、 ^3H -TdR 10 μCi を腹腔内に投与し、1時間後断頭屠殺し肝臓を摘出した。実験1と同様に以下に述べる方法にしたがって、DNA の定量と DNA 中の ^3H -TdR の放射活性を測定しその比を肝再生の指標とした。

DNA の定量および DNA への ^3H -TdR の取り込み率の測定方法

摘出した肝を Savitzky, Stand の方法¹³⁾にしたがって、0.04% デオキシコール酸ナトリウム-0.1M NaCl-0.05M クエン酸ナトリウム (pH7.0) 25ml 中で溶かし、懸濁液をガラスステフロンホモジナイザーで処理した。懸濁液を 3,000rpm 10分間遠心後上清を除去し、沈澱した核画分を最初と同量のデオキシコール酸ナトリウム-NaCl-クエン酸ナトリウムで4回洗滌し、最終沈澱に最初の液量の2倍量の2M NaClを加え抽出した。4,000rpm 15分間遠心後得られた上清に同量のクロロホルム-イソアミルアルコール(10:1, v/v)を加え振とうし、3,000rpm 10分間遠心した。この操作を10~12回くり返した後、得られたDNA溶液に2倍量のエタノールを加え、沈澱したDNA繊維をガラス棒にまきとり、0.015M NaCl-0.0015M クエン酸ナトリウム 10ml に溶かした。この溶液にあらかじめ2時間37°Cに保温したプロナーゼ(化研化学)を終濃度500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように加え37°Cで2時間保温した。Sodium laurylsulfateを終濃度0.5%となるように加え、0.1%8-ヒドロキシキノリン含有フェノール-m-クレゾール-水(7:1:2, v/v)混合液を10ml加えて3,000rpm 10分間遠心しDNA含有の水層を分離採取した。得られたDNA溶液を2分し、一方に5mlの5% HClO_4 を加え、90°C10分間熱加水分解後 Schneider の方法でDNAを定量した。残りの半量のDNA溶液をミリポアフィルターに沈澱させ、10ml トルーエンシンチレーター溶液を加え、Packard 液体シンチレーションカウンターを用いて ^3H -TdR の放射活性を測定した。各群について得られた値の平均値について Student's t 検定をおこない $p < 0.05$ 以下を推計学的に有意とした。

III 成 績

A Gal N 肝障害

実験1の結果を Fig. 4 に示した。Gal N 投与48時間後の T.P, Alb, Chol, および血糖値は対照群と比較して、いずれの群においても有意差をみとめなかった。s-GPT 値は Fig. 5 に示したごとく hydrocortisone 単独投与群(1群) $1,451 \pm 293$ (KU) で対照群 $2,852 \pm 1,008$ (KU) に比し有意に低値を示した ($p < 0.05$)。Glucagon-insulin 投与群(2群)は 705 ± 243 (KU), glucagon-insulin および hydrocortisone 併用群(3群)は 979 ± 292 (KU), 26時間後より glucagon-insulin および hydrocortisone を投与した群

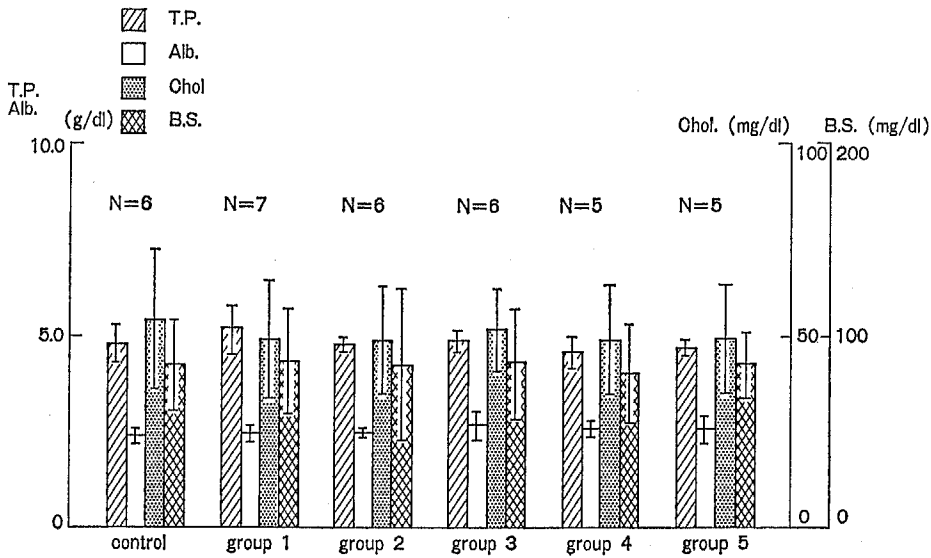


Fig. 4 Laboratory data 48 hours after intraperitoneal administration of Gal N. N=number of animals. Columns and vertical bars indicate mean \pm SD.

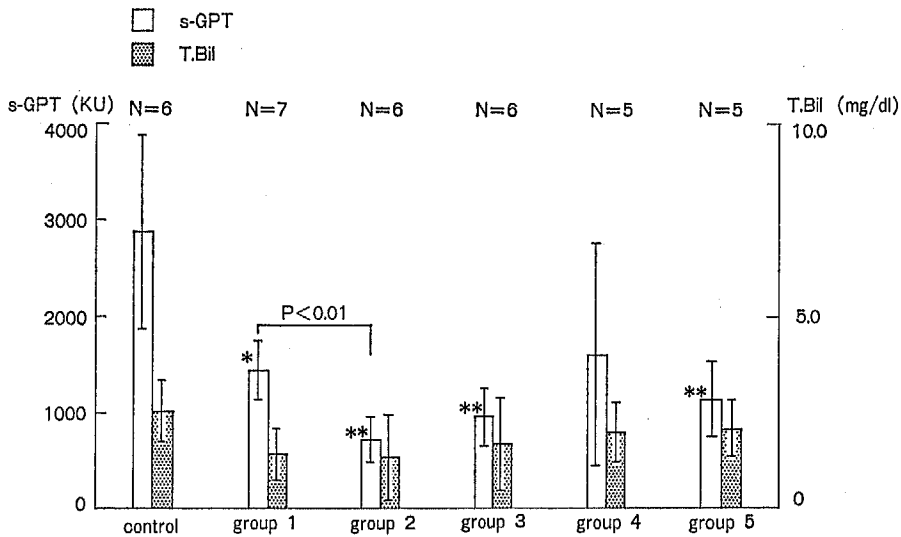


Fig. 5 s-GPT and T.Bil levels 48 hours after intraperitoneal administration of Gal N. N= number of animals. Columns and vertical bars indicate mean \pm SD.

* $p < 0.05$ (control group vs. treated group)

** $p < 0.01$ (control group vs. treated group)

(5群)は1,143 \pm 387 (KU)であり, 対照群に比し有意に低値であった($p < 0.01$)。また1群と2群の比較では2群が有意に低値であった ($p < 0.01$)。2群と4群, 3群と5群をそれぞれ比較すると, Gal N 投与26時間後より処置を開始した群(4群, 5群)はGal

N 投与2時間後より処置を開始した群(2群, 3群)に比べて s-GPT 値は高い傾向がみられた。T. Bil 値についても s-GPT 値とほぼ同様の傾向をみとめたが, 推計学的に有意差はみられなかった。

Gal N 投与48時間後の肝組織像は, 各切片標本に

	slight cell infiltration	moderate cell infiltration	marked cell infiltration
control		○	○○○○○
group 1	○○○	○○○○	
group 2	○○○○○○		
group 3	○○○○○○		
group 4	○○○○	○	
group 5	○○○	○○	

Fig. 6 Light microscopic examination of liver histology, 48 hours after administration of D-galactosamine.

ついて10個の小葉とこれに伴うグリソン鞘を観察した。肝組織所見は、類洞内およびグリソン鞘の細胞浸潤や、小葉内に巣状壊死が散在性にみられる程度から、小葉全体にびまん性に細胞浸潤をみとめ、一部出血像や肝細胞の空胞変性、脂肪変性をみとめるものもみられた。各群の肝組織所見についてその細胞浸潤の程度によってFig. 6 に示したごとく軽度細胞浸潤(Fig. 7. A.), 中等度細胞浸潤 (Fig. 7. B.), 高度細胞浸潤 (Fig. 7. C.) の三段階に分類し、各群について比較検討した。すなわち、対照群では6匹中5匹が高度細胞浸潤、1匹が中等度細胞浸潤をみとめたのに対して、hydrocortisone 単独投与群では7匹中4匹が中等度細胞浸潤、3匹が軽度細胞浸潤をみとめ、対照群より細胞浸潤の程度が比較的軽度であった。Glucagon-insulin群、glucagon-insulin および hydrocortisone 併用群はともに6匹中6匹が軽度細胞浸潤をみとめ、対照群および hydrocortisone 単独投与群より細胞浸潤が軽度であった。Gal N 投与26時間後より glucagon-insulin の投与を開始した4群は、5匹中1匹が中等度細胞浸潤、4匹が軽度細胞浸潤をみとめ Gal N 投与26時間後より glucagon-insulin および hydrocortisone 投与開始した5群は5匹中2匹が中等度細胞浸潤、3匹が軽度細胞浸潤をしめし、対照群に比べ4群、5群とも細胞浸潤の程度は軽い傾向をみとめたが、2群、3群と比較すると細胞浸潤の程度はやや強い傾向がみられた。

Gal N 投与48時間後の肝再生を DNA への ^3H -TdR の取り込み率で検討すると Fig. 8 に示したごとく肝壊死が軽度であった1群、2群および3群では

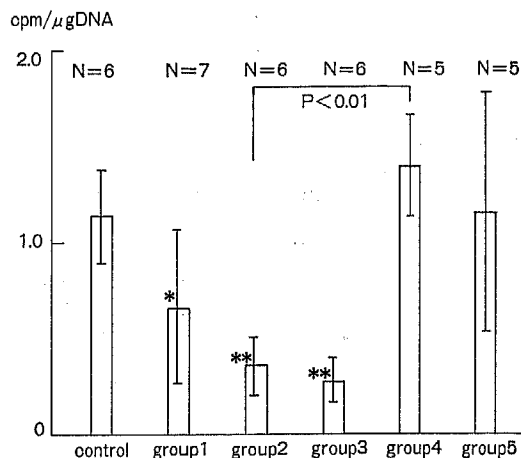


Fig. 8 Incorporation of ^3H -TdR into DNA 48 hours after intraperitoneal administration of Gal N. N=number of animals. Columns and vertical bars indicate mean \pm SD.

* $p < 0.05$ (control group vs. treated group)

** $p < 0.01$ (control group vs. treated group)

対照群に比べて有意に低い値を示していた ($p < 0.05$), ($p < 0.01$).

Gal N 投与26時間後より glucagon-insulin を投与した4群は、対照群に比較して ^3H -TdR の取り込みが増加している傾向がみられた。

B CCl_4 肝障害

実験2の結果を Fig. 9 に示した。 CCl_4 投与48時間後の T.P., Alb., Chol, および血糖値は対照群に比べ、それぞれの処置群にいずれも有意差がみられなかった。s-GPT は Fig. 10 に示したごとく、1群 $1,392 \pm 493$ (IU), 2群 933 ± 319 (IU), 3群 $1,288 \pm 863$ (IU) と対照群 $2,248 \pm 1,397$ (IU) に比して低い傾向をみとめたが、推計学的には有意差をみとめなかった。血清 T. Bil 値もほぼ同様の傾向を示し、特に glucagon-insulin 群では対照群に比べ有意に低い値を示した ($P < 0.05$)。また1群と2群を比べると2群が有意に低い値を示した ($P < 0.05$)。

肝組織学的検討では、実験1と同様に各切片標本について10個の小葉とこれに伴うグリソン鞘を観察した。各群とも小葉中心性の壊死とその周辺に多数の明るい hydropic hepatocyte をみとめ、また多数の脂肪滴や軽度の細胞浸潤をみとめた。壊死の程度を中心静脈周囲壊死 (Fig. 11. A), 亜広汎性壊死 (Fig. 11. B), 広汎性壊死 (Fig. 11. C) の三段階に分類して比較検

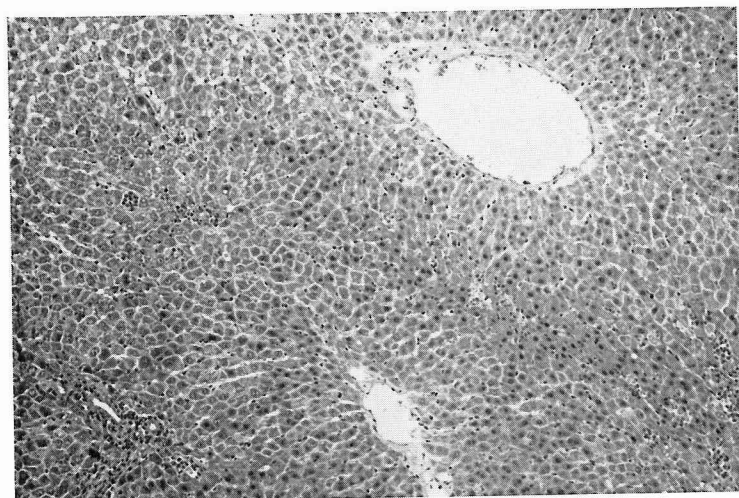
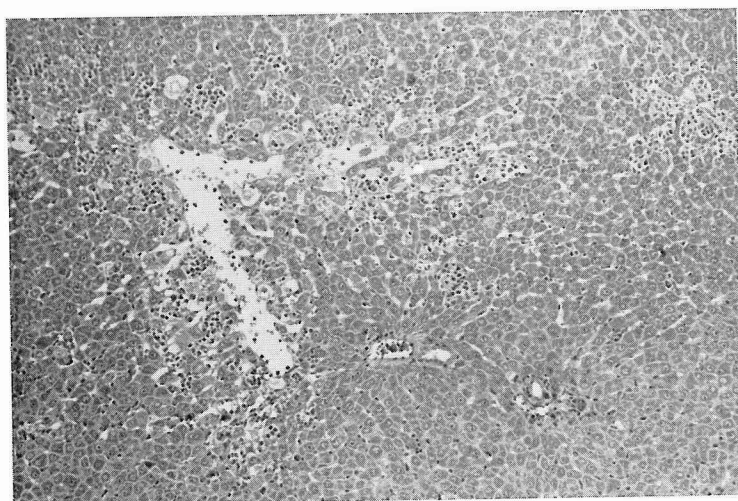


Fig. 7

(A)

Histology of rat liver 48 hours after administration of D-galactosamine. Graded as slight cell infiltration.

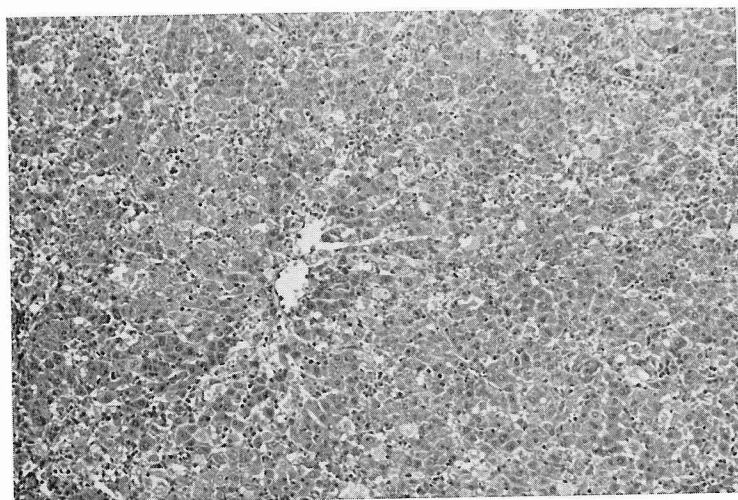
($\times 100$, H.E. stain)



(B)

Histology of rat liver 48 hours after administration of D-galactosamine. Graded as moderate cell infiltration.

($\times 100$, H.E. Stain)



(C)

Histology of rat liver 48 hours after administration of D-galactosamine. Graded as marked cell infiltration.

($\times 100$, H.E. stain)

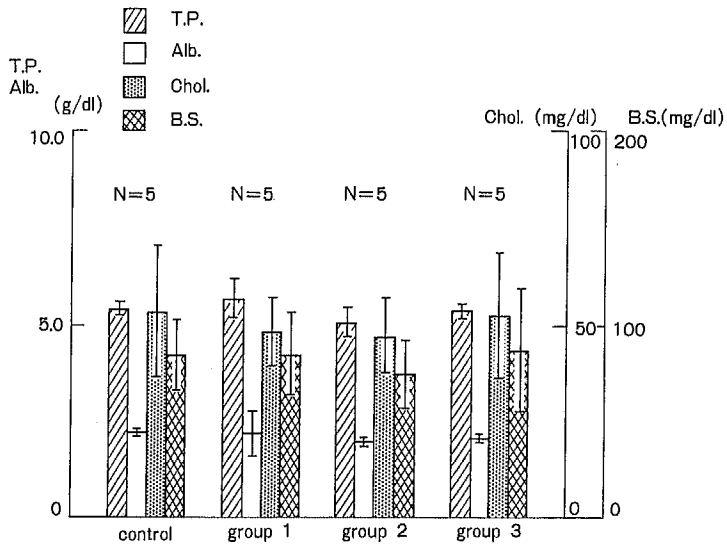


Fig. 9 Laboratory data 48 hours after administration of CCl₄. N=number of animals. Columns and vertical bars indicate mean ± SD.

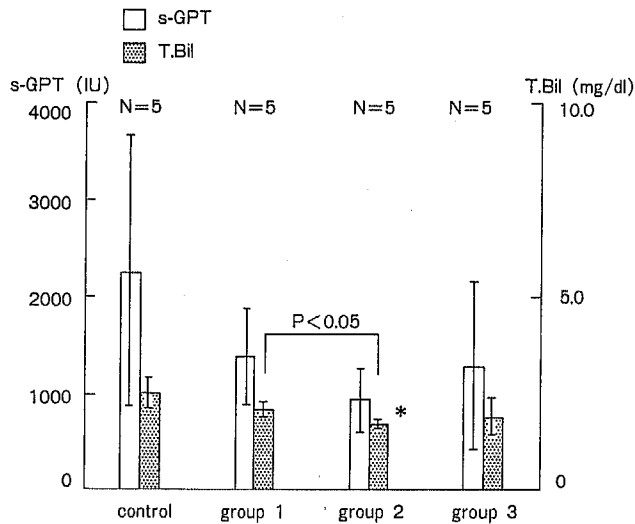


Fig. 10 s-GPT and T. Bil levels 48 hours after intraperitoneal administration of CCl₄. N=number of animals. Columns and vertical bars indicate mean ± SD.

* p < 0.05 (control group vs. treated group)

討すると、Fig. 12 に示したごとく、対照群では5匹中4匹が広汎性壊死、1匹が亜広汎性壊死をみとめたのに対して、hydrocortisone 単独投与群では3匹に広汎性壊死、2匹に亜広汎性壊死をみとめた。Glucagon-insulin 群では5匹中3匹が亜広汎性壊死、2

匹が中心静脈周囲壊死の所見を示した。Glucagon-insulin および hydrocortisone 併用群は5匹中1匹に広汎性壊死、4匹に亜広汎性壊死をみとめ、glucagon-insulin 群が他群と比較して壊死が軽い傾向をみとめた。

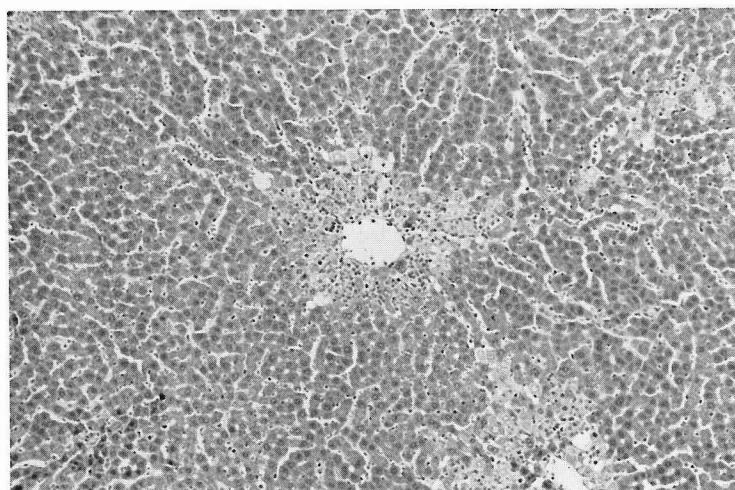
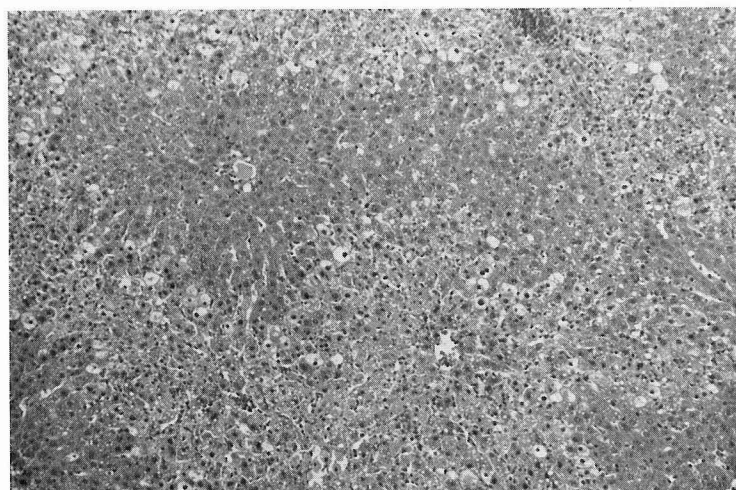


Fig. 11
(A)
Histology of rat liver 48 hours
after administration of CCl_4 .
Graded as pericentral necrosis.
($\times 100$, H.E. stain)



(B)
Histology of rat liver 48 hours
after administration of CCl_4 .
Graded as submassive necrosis.
($\times 100$, H.E. stain)



(C)
Histology of rat liver 48 hours
after administration of CCl_4 .
Graded as massive necrosis.
($\times 100$, H.E. stain)

	pericentral necrosis	submassive necrosis	massive necrosis
control		○	○○○○
group 1		○○	○○○
group 2	○○	○○○	
group 3		○○○○	○

Fig. 12 Light-microscopic examination of liver histology 48 hours after administration of CCl_4 .

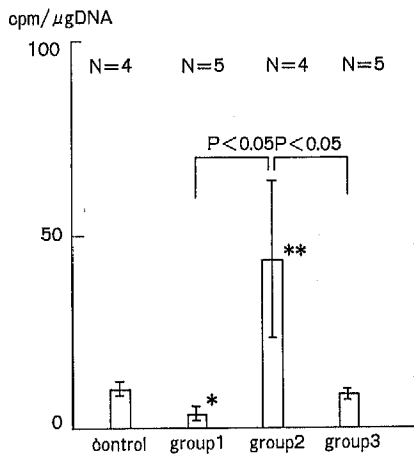


Fig. 13 Incorporation of 3H -TdR into DNA at 27 hours after partial hepatectomy. N=number of animals. Columns and vertical bars indicate mean \pm SD.

* $p < 0.01$ (control group vs. treated group)

** $p < 0.05$ (control group vs. treated group)

C 肝部分切除実験

68%肝部分切除後の肝再生を 3H -TdR の DNA への取り込み率で検討した。Fig. 13 に示したごとく、hydrocortisone 単独投与群は 3.1 ± 1.9 cpm/ μ gDNA で対照群 10.4 ± 2.2 cpm/ μ gDNA と比較して有意に肝再生が抑制された ($p < 0.01$)。Glucagon-insulin 群は 43.6 ± 20 cpm/ μ gDNA で対照群に比して肝再生が著明に促進された ($p < 0.05$)。Glucagon-insulin および hydrocortisone を併用した群は 8.9 ± 1.3 cpm/ μ gDNA で glucagon-insulin により促進された肝再生が有意に抑制され、対照群と同程度の取り込みを示した ($p < 0.05$)。

IV 考 察

劇症肝炎の治療は、急性肝不全に基づく意識障害をはじめとする全身の代謝動態の是正や肝障害の進展を防止し、残存肝細胞の再生まで生命を維持することを目的としている。

肝臓はもともと旺盛な再生能を有しており従来より肝再生機構の解明のため多くの研究業績があるが、肝再生現象の発現、制御には門脈血因子が関与することが Moolten と Bucher¹⁴⁾、Fisher ら¹⁵⁾により示され、特に glucagon, insulin の重要性が Starzl ら¹⁶⁾ Bucher と Swaffield⁸⁾ により強調されてきた。Bucher と Swaffield⁸⁾ はラット門脈域臓器切除モデルを使った実験で glucagon と insulin の併用投与により、部分肝切除後の肝細胞の DNA の合成促進効果を見とめ、またその促進作用は glucagon 2mg/kg 体重/24hr. insulin 2U/kg 体重/24hr. の量比で最も強い効果を示したと報告している。また Farivar ら¹⁷⁾は murine hepatitis virus による劇症肝炎モデルで、glucagon と insulin の同時投与による肝細胞障害抑制作用と死亡率の低下を報告している。これらの基礎的実験にもとずき、劇症肝炎の治療法として glucagon-insulin 療法が注目され臨床的にも応用、検討されその有効性を示唆する成績が報告されている⁹⁾⁻¹¹⁾。しかし glucagon-insulin 療法だけでは決定的な治療効果は期待できず実際にはほかの特殊療法と組み合わせて施行されている場合が多い。

そこで著者は、実験的急性肝障害ラットおよび肝部分切除ラットを用いて glucagon-insulin, glucocorticoid およびこれらの併用による肝細胞障害、肝再生におよぼす効果を検討した。

Gal N は実験動物にヒト急性肝炎類似の組織学的、生化学的所見を示すことが Keppler ら¹⁸⁾によって報告されている。また、古くから CCl_4 は実験動物に小葉中心性壊死および脂肪肝をおこすことが知られている。これらの薬剤を用いた急性肝障害実験において、glucagon insulin, glucocorticoid, glucagon-insulin および glucocorticoid の併用群とも肝細胞障害の抑制効果がみとめられたが、肝障害早期にこれらのホルモンを投与した方がより効果的であった。また、glucagon-insulin の併用が glucocorticoid 単独投与よりも肝障害抑制効果は強いが、glucocorticoid の併用投与によりその効果が減弱する可能性が示された。Glucagon-insulin の肝細胞障害抑制の作用機序は不

明であるが、沖田ら¹⁹⁾、野田²⁰⁾も肝障害直後からの glucagon-insulin の同時投与により細胞壊死防止作用をみとめている。

68%肝部分切除後の肝再生実験では glucocorticoid 投与により肝再生は著明に抑制され glucagon-insulin の同時投与は肝再生を促進させた。この glucagon-insulin による肝再生促進効果は glucocorticoid を併用することにより著しく抑制された。

一般的に glucagon と insulin は肝に対して antagonistic に作用するものとされているが、glucagon-insulin の併用による共役的肝再生促進の作用機序は不明である。Bucher と Swaffield⁸⁾ はその作用機序として、血中ブドウ糖濃度の維持、アミノ酸輸送の促進、ある種の酵素や蛋白の誘導、あるいはリン酸化反応の共役的促進などを推測している。

一方、劇症肝炎の発生機転としては現在、Dudley ら²¹⁾、Woolf ら²²⁾、Trepo ら²³⁾、により免疫機構の関与が強く推察されており、その治療法としてこの免疫反応の抑制を期待して glucocorticoid 療法が現在でも広く用いられているが、感染や消化管出血の誘発の危険性が指摘され、また二重盲検法による比較でも glucocorticoid の有効性はみとめられず⁶⁾⁷⁾ その使用について疑問が持たれている。また glucocorticoid は細胞増殖抑制作用があることが知られ²⁴⁾²⁵⁾、その作用機序として glucocorticoid が DNA polymerase を抑制し²⁶⁾²⁷⁾、あるいは G₁ 期から S 期への移行を遅らせるなどが推察されている。

今回の実験で glucagon と insulin による肝細胞障害抑制効果と肝再生促進効果は glucocorticoid をこれに併用するとその効果が減弱することが示された。これらのホルモンは糖代謝、蛋白代謝と密接に関連しているため、これらの代謝を介して相互に影響を与えることは充分考えられるが、また glucocorticoid の細胞増殖抑制作用と glucagon-insulin の DNA 合成促進作用が相殺し合った可能性や、glucocorticoid の併用により門脈血中の glucagon/insulin 比に変化がおきて、その効果に影響を与えた可能性も考えられる。

劇症肝炎の治療における glucagon-insulin 療法はいまだ決定的な治療法ではないにしても、比較的簡便に施行でき、またアンモニア代謝²⁸⁾、アミノ酸代謝に関連して²⁹⁾³⁰⁾ 肝性脳症にも有効性が報告され³¹⁾³²⁾ 今後さらに検討が必要である。

一方 glucagon-insulin 療法と glucocorticoid 療法との併用に関しては、今回の実験成績では、glucagon-insulin と glucocorticoid の併用投与は、相加的あるいは相乗の効果はみられず、むしろ glucagon-insulin による肝再生促進効果と肝細胞障害抑制効果が、glucocorticoid をこれに併用することにより、その効果が減弱することが示された。しかし、ヒトの劇症肝炎の成因に免疫学的機序の関与が推定されていることより、今回の実験的肝障害の場合と異なる作用を発現する可能性も否定できない。しかし glucocorticoid により肝細胞の再生抑制作用がみられた点を考えれば、これら glucagon-insulin, glucocorticoid の併用により glucagon-insulin の効果が相殺される可能性が十分考えられ、これらの併用はむしろさける方が望ましいと考えられた。

V 結 語

(1) Gal N, CCl₄ による急性肝障害実験では glucocorticoid, glucagon-insulin とともに肝障害に抑制効果がみられたが、glucagon-insulin がより強い抑制効果を示した。

(2) Glucagon-insulin と glucocorticoid の併用は、glucagon-insulin の肝細胞障害抑制効果を減弱させる傾向がみられた。

(3) 肝部分切除後再生実験では、glucocorticoid は肝再生を著明に抑制した。

(4) Glucagon-insulin は肝再生を促進したが、これに glucocorticoid を併用すると glucagon-insulin による再生促進効果が抑制された。

(5) 臨床的に劇症肝炎の治療法として glucagon-insulin 療法あるいは glucocorticoid 療法がおこなわれているが、今回の実験より、ヒトの劇症肝炎例においても glucocorticoid が glucagon-insulin 療法の効果に抑制的に働く可能性のあることが示唆された。

稿を終るに当たり、本研究に際して終始御指導と御校閲を賜りまし古田精市教授をはじめ、多くの方々へ深く感謝致します。

本論文の要旨は第16回日本肝臓病学会総会(1980年7月、東京)、第23回日本消化器病学会(1981年10月、米子)において発表した。

文 献

- 1) 高橋善弥太, 清水 勝, 江崎 治, 瀬古 章: 劇症肝炎の予後—全国集計—. 最新医学, 34: 2285-2292, 1979
- 2) 松下 寛: 全国における難治性肝炎の発生頻度と二, 三の疫学的検討. 内科, 34: 909-917, 1974
- 3) 小坂淳夫: 第57回日本消化器病学会総会議演抄録 シンポジウム (I) 劇症肝炎. 日消会誌, 68: 855-873, 1971
- 4) 重松逸造: 難治性の肝炎全国調査成績二次調査中間集計報告. 厚生省特定疾患難治性の肝炎調査研究班昭和48年度研究報告書, pp. 9-33, 1974
- 5) Ducci, H. and Katz, R.: Cortisone, ACTH and antibiotics in fulminant hepatitis. *Gastroenterology*, 21: 357-374, 1952
- 6) Gregory, P.B., Knauer, C.M., Kempson, R.L. and Miller, R.: Steroid therapy in severe viral hepatitis. A double blind, randomized trial of methyl-prednisolone versus placebo. *New Engl J Med*, 294: 681-687, 1976
- 7) European Association for the Study of the liver: Randomised trial of steroid therapy in acute liver failure. *Gut*, 20: 620-623, 1979
- 8) Bucher, N.L.R. and Swaffield M.N.: Regulation of hepatic regeneration in rats by synergistic action of insulin and glucagon. *Proc Natl Acad Sci USA*, 72: 1157-1160, 1975
- 9) 松田彰史: 急性肝不全に対する glucagon-insulin 療法に関する研究(1)臨床的研究. 肝臓, 21: 730-739, 1980
- 10) 渡辺明治, 東 俊宏, 林 正作, 小畑尚宏, 遠藤 浩, 長島秀夫, 森本忠一, 鈴木信也: インシュリンとグルカゴンの同時投与を試みた劇症肝炎の生存例. 肝臓, 21: 1044-1053, 1980
- 11) 細川幸夫, 菅 充生, 横山洋子, 木下 博, 安斎哲郎, 藤沢泰憲, 藤嶋 彰, 藤田英雄, 齊藤美知子: Glucagon-insulin 療法により救命し得た劇症肝炎の1例. 肝臓, 21: 1352-1357, 1980
- 12) Higgins, G.M. and Anderson, R.M.: Experimental pathology of the liver. I. Restriction of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol*, 12: 186-202, 1931
- 13) 鶴尾 隆, 山口和男: 対象別分離精製法 核酸. 阿南功一, 紺野邦夫, 田村善蔵, 松橋通生, 松本重一郎(編), 基礎生化学実験法2, 抽出, 分離, 精製, 第3版, pp. 261-278, 丸善株式会社, 東京, 1977
- 14) Moolten F.L. and Bucher N.L.R.: Regeneration of rat liver: Transfer of humoral agent by cross circulation. *Science*, 158: 272-274, 1967
- 15) Fisher, B., Szuchi, P., Levine, M. and Fisher, E.R.: A portal blood factor as the humoral agent in liver regeneration. *Science*, 171: 575-577, 1971
- 16) Starzl, T.E., Francavilla, A., Halgrimson, G.C., Francavilla, F.R., Porter, K. A., Brown, T.H. and Putnam, C.W.: The origin, hormonal nature and action of hepatotrophic substances in portal venous blood. *Surg Gynecol Obstet*, 137: 179-199, 1973
- 17) Farivar, M., Wands, J.R., Isselbacher, K.J. and Bucher, N.L.M.: Effect of insulin and glucagon on fulminant murine hepatitis. *New Engl J Med*, 295: 1517-1519, 1976
- 18) Keppler, D., Lesch, R., Reutter, W. and Decker, K.: Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. *Expt Mol Pathol*, 9: 279-290, 1968
- 19) 沖田 極, 野田健一, 福本陽平, 藤井良子, 児玉隆浩, 竹本忠良: 肝疾患治療薬の作用に関する基礎的研究 (2) 重症肝炎の治療を目的とした glucagon-insulin 療法の基礎的研究. 肝臓, 19: 848-853, 1978
- 20) 野田八嗣: Glucagon-insulin 療法の基礎的検討 D-galactosamine HCl 投与家兎重症肝炎モデルにおける glucagon-insulin の投与効果. 肝臓, 22: 775-784, 1981
- 21) Dudley, F.J., Fox, R.A. and Sherlock, S.: Cellular immunity and hepatitis associated. Australia antigen liver disease. *Lancet*, I: 723-726, 1972
- 22) Woolf, I.L., Sheikh, N.E., Cullens, H., Eddlestone, A.L.W.F., Williams, R. and Zuckerman, A.J.: Enhanced HB_s-Ab production in pathogenesis of fulminant viral hepatitis Type B. *Br J Med J*, 2: 669-671, 1976
- 23) Trepo, C.G., Robert, D., Motin, J., Trepo, D., Sepetjian, M. and Prince, A.M.: Hepatitis B

- antigen (HB_s-Ag) and/or antibodies (anti-HB_s and anti-HB_e) in fulminant hepatitis: pathogenic and prognostic significance. *Gut*, 17: 10-13, 1976
- 24) Richman, R.A., Claus, T.H., Pilakis, S.J. and Friedman, D.L. : Hormonal stimulation of DNA synthesis in primary culture of adult rat hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 73: 3589-3593, 1976
 - 25) Raab, K.H. and Webb, T.E. : Inhibition of DNA synthesis in regenerating rat liver by hydrocortisone. *Experimentia*, 25: 1240-1242, 1969
 - 26) Henderson, I.C. and Leab, J.N. : Fall in liver DNA polymerase activity in cortisone-treated rats. *Nature*, 228: 556-557, 1970
 - 27) Pratt, W.B. and Aronow, L. : The effect of glucocorticoids on protein and nucleic acid synthesis in mouse fibroblasts growing in vitro. *J Biol Chem*, 241: 5244-5250, 1966
 - 28) Snodgrass, P.J., Lin, R.C., Müller, W.A. and Aoki, T.T. : Induction of urea cycle enzymes of rat liver by glucagon. *J Biol Chem*, 253: 2748-2753, 1978
 - 29) Mortimore, G.E., Neely, A.N., Cox, J.R. and Ginivan, R.A. : Proteolysis in homogenates of perfused rat liver: Responses to insulin, glucagon and amino acids. *Biochem Biophys Res Commun*, 54: 89-95, 1973
 - 30) Kletzien, R.F., Pariza, M.W., Becker, J.E., Rotter, V.R. and Butcher, F.R. : Induction of amino acid transport in primary cultures of adult rat liver parenchymal cells by insulin. *J Biol Chem*, 251: 3014-3020, 1976
 - 31) 菅 充生, 細川幸夫, 横山洋子, 木下 博, 安斎哲郎, 藤嶋 彰, 藤田英雄, 斉藤美知子, 白井祐一: Glucagon-insulin による肝不全の治療, 第1報. Glucagon-insulin 療法による肝性脳症の改善と血中アンモニアの変動. *肝臓*, 21: 1631-1636, 1980
 - 32) 菅 充生, 藤嶋 彰, 藤田英雄, 斉藤美知子, 白井祐一, 谷内 昭, 細川幸夫, 木下 博, 安斎哲郎: Glucagon-insulin による肝不全の治療. 第2報, Glucagon-insulin 投与による肝性脳症患者血漿アミノ酸の変動. *肝臓*, 22: 1083-1097, 1981

(57.8.13 受稿)