

論文要旨

Effects of Hct and norepinephrine on segmental vascular resistance distribution in isolated perfused rat livers

〔 摘出灌流肝においてヘマトクリットならびにノルエピネフリンに対する
微小血管抵抗分布の変化について 〕

上門 千哲

はじめに

肝臓は代謝などの機能の他に体内で最大の血流貯蔵部位としての役割がある。肝臓の血管のコンプライアンスは、大きく他の血管のおおよそ10倍である。全血液量の約12%が肝臓に存在し、肝内血液は肝重量の約35%を占め、その約60%は肝類洞内に存在する。ストレス状態では、その貯留血液が循環系に動員される。しかしながら肝類洞の圧ならびに血管抵抗分布についてはいまだに定説が確立されていない。今回われわれは、摘出肝において肝血管閉塞法を用いヘマトクリット 血流 ノルエピネフリンに対する門脈抵抗(R_{pv})類洞抵抗(R_{sinus})肝静脈抵抗(R_{hv})の変化について検討した。

対象と方法

Sprague-Dawley 系雄ラットの摘出肝を門脈のみから灌流し、門脈だけの閉塞より類洞起使部の圧(P_{po})測定を行い、肝静脈だけの閉塞により類洞終末部の圧(Ph_{vo})測定を行った。又門脈と肝静脈を同時に測定することで起使部の圧(P_{po-do})測定と類洞終末部(Ph_{vo-do})の圧測定が同時に推定できるかを調べた。

- a P_{po} の測定法 門脈だけの閉塞時の門脈圧を測定し血管閉塞のノイズが少なくなった0.3秒から1.8秒の曲線を指数関数に回帰閉塞直後の値を P_{po} とした。
- b. Ph_{vo} の測定法 肝静脈だけの閉塞時の肝静脈圧を定し血管閉塞のノイズが少なくなった閉塞直後の0.3秒から1.0秒の曲線を直線に回帰させ閉塞直後の値を P_{po} とした。
- c. P_{po-do} と Ph_{vo-do} の測定法 門脈と肝静脈を同時に閉塞し血管閉塞ノイズが少なくなった。0.3秒から1.8秒の曲線の門脈圧と肝静脈圧を測定し指数関数に回帰させ閉塞直後の値をそれぞれ P_{po-do} と Ph_{vo-do} とした。

実験1 灌流液の Hct を 30% 20% 10% 0%で行いおのおの血流を変化させた。a)ヘマトクリット b)血流に対する R_{pv} R_{sinus} R_{hv} の変化について検討した。

実験 2)灌流液内にノルエピネフリンを持続的に投与し R_{pv} R_{sinus} R_{hv} の変化について検討した。

結果

1. 実験 1a) 流量が大きくなるに従い Phv と Phvo は増大するが、Ppo は比較的一定である。したがって流量が大きくなるに従い Rsinus は減少するが Rpv Rhv に優位な変化はない
2. 実験 1b) ヘマトクリットが増加するに従い、Rpv Rsinus Rhv いずれも増加する。
3. 実験 2) ノルエピネフリン投与により、Rpv Rsinus は増加するが Rhv に優位な変化はない。
4. Ppo(X) と Ppo-do(Y) は $Y = -0.021 + 1.009X$ に相関し、Phvo(X) と Phvo-do(Y) は $Y = 0.009 + 0.996X$ に相関する。

考察

マイクロピペット法で門脈細静脈と肝静脈細静脈の間に圧勾配が認められることから肝類洞にも血管抵抗が存在する。生理的状态に近い 30% の Hct の血液で $9.1 \text{ cmH}_2\text{O}$ Phv $0.4 \text{ cmH}_2\text{O}$ Qp $15.6 \text{ ml/min/10g liver}$ 灌流時において、門脈から肝静脈までの圧勾配の 1/2 を門脈が占め、1/3 を肝類洞が占め、1/5 を肝静脈が占めた。これは、in vivo におけるマイクロピペット法の成績と矛盾しない。

大循環において血流量の増大は、血管抵抗を減少させる。灌流肝においてもその減少は、観察された。血流が増加するに従い Ppv と Phvo は増加するが、Ppo は変化しない。肝臓における血管抵抗の低下は、肝類洞血管の拡張によるものであった。肝臓は、門脈圧をさほど上昇させることなく多量の血流を得ることが可能である。

ヘマトクリットが増加するに従い、門脈抵抗(Rpv)類洞抵抗(Rsinus)肝静脈抵抗(Rhv)いずれも増加する。ただし流速が低い 5 ml/min/10g と $10 \text{ ml/min/10g liver}$ の群では Hct が 20% から 30% に増加しても類洞抵抗(Rsinus)は、増加しなかった、これは Fahraeus effect によるものと思われた。

ノルエピネフリン投与により、Rpv Rsinus は増加するが Rhv に優位な変化はない。ノルエピネフリンにより肝静脈の収縮は認めず、類洞血管ならびに門脈の収縮を認めた。ノルエピネフリンが門脈の血管を収縮させることは、よく知られている。しかし類洞には、平滑筋を認めない。Rsinus の増加は星細胞の収縮もしくは本研究の類洞血管とした血管に門脈の血管を含む可能性がある。

Ppo(X) と Ppo-do(Y) は $Y = -0.021 + 1.009X$ に相関し、Phvo(X) と Phvo-do(Y) は $Y = 0.009 + 0.996X$ に相関する。Ppo と Phvo の推定値がそれぞれ Ppo-do Phvo-do して推定できる。以上、本研究においては、薬物投与時圧が刻々と変化する様な時にも 1 回の閉塞操作で類洞起始部の圧と類洞終末部の圧をもとめうることを明らかにした。

論文審査の要旨

報告番号	医論第 1454 号	氏名	上門 千哲
審査委員	主査	宮田 篤郎	
	副査	山田 勝士	上村 裕一

Effects of Hct and norepinephrine on segmental vascular resistance distribution in isolated perfused rat livers

〔 摘出灌流肝においてヘマトクリットならびにノルエピネフリンに対する
微小血管抵抗分布の変化について 〕

肝類洞の圧ならびに血管抵抗分布については、いまだに定説が確立されていない。今回、学位申請者らは、Sprague-Dawley 系雄ラットの摘出肝を門脈のみから灌流し、門脈だけの閉塞により類洞起始部の圧 (Ppo) 測定、肝静脈だけの閉塞により類洞終末部の圧 (Phvo) 測定を行い、ヘマトクリット (Hct)、血流、ノルエピネフリンに対する門脈抵抗 (Rpv)、類洞抵抗 (Rsinus)、肝静脈抵抗 (Rhv) の変化について検討した。また、門脈と肝静脈を同時に閉塞することで門脈細静脈圧 (Ppo-do) と肝静脈細静脈圧 (Phvo-do) を推定した。

その結果、本研究より以下の知見が明らかにされた。

1. 生理的状态に近い 30% の Hct の血液で、門脈圧 (Ppv) 9.1 cmH₂O, 肝静脈圧 (Phv) 0.4 cmH₂O, 流量 15.6 ml/min/10g liver 灌流時において、門脈から肝静脈までの圧勾配の 1/2 を門脈、1/3 を肝類洞、1/5 を肝静脈が占めた。これは、in vivo におけるマイクロピペット法の成績と矛盾しなかった。
2. 流量が大きくなるに従い、Ppv と Phvo は増大するが、Ppo は比較的一定であった。したがって流量が大きくなるに従い、Rsinus は減少するが、Rpv Rhv に有意な変化はなかった。肝臓は、門脈圧をさほど上昇させることなく多量の血流を得ることが可能である。
3. ヘマトクリットが増加するに従い、Rpv、Rsinus、Rhv いずれも増加した。ただし流速が低い 5ml/min/10g と 10ml/min/10g liver の群では、Hct 20% から 30% に増加しても類洞抵抗 (Rsinus) は増加しなかった。これは Fahraeus effect によるものと思われた。
4. ノルエピネフリン投与により、Rpv、Rsinus は増加するが、Rhv に有意な変化はなかった。ノルエピネフリンが、門脈の血管を収縮させることはよく知られている。しかし、類洞には平滑筋を認めない。Rsinus の増加は、星細胞の収縮もしくは本研究で類洞血管とみなした血管に、門脈の血管を含む可能性がある。
5. Ppo (Y) と Ppo-do (X) は $Y = -0.021 + 1.009X$ に相関し、Phvo (Y) と Phvo-do (X) は $Y = 0.009 + 0.996X$ に相関した。これにより、薬物投与時に圧が刻々と変化する様な時にも 1 回の閉塞操作で Ppo と Phvo をもとめることができる。

以上のごとく、本研究は、摘出灌流肝において血流、Hct ならびにノルエピネフリンに対する微小血管抵抗分布の変化について明らかにした。また門脈細静脈圧や肝静脈細静脈圧の測定法を確立した。endothelin, prostaglandin および histamine といった様々な薬物による微小血管抵抗分布の観察や、肝硬変といった特殊な肝の病態での微小血管抵抗分布の観察も可能である。また、今後 whole body での微小血管抵抗分布の観察にも応用可能であると思われる。whole body での観察が可能となれば、ヒトにおいて開腹時に新たな肝の評価ともなりうると思われ、肝切除時など切除量を決定しうる因子にもなりうる。よって本研究は、学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

試験(学力確認)の結果の要旨

報告番号	医論第 1454 号	氏名	上門 千哲
審査委員	主査	宮田 篤郎	
	副査	山田 勝士	上村 裕一

主査及び副査の3名は、平成 19 年 11 月 16 日、学位申請者 上門千哲 君に面接し、学位請求論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) 血管抵抗の解析時間は、どのくらいか。

回答: 血管抵抗の解析時間は portal occlusion で閉塞後 0.3-1.8sec, hepatic venous occlusion で閉塞後 0.3-1.0sec, double occlusion で閉塞後 0.3-1.8sec の間で解析を行った。

質問2) 非常に短時間の解析であるが、どのようなセンサーを用いたか。

回答: 圧測定の特ランスデューサーは、特別感度が高いものではない。ただし、圧データのサンプリングは、デジタルデータで 10msec ごとに行った。

質問3) 灌流液の浸透圧の調整はどのようにしているのか。

回答: 灌流液は、NaCl (118mM), KCl (5.9mM), MgSO₄ (1.2mM) CaCl₂(2.5mM), NaH₂PO₄(1.2mM), NaHCO₃(25.5mM), glucose(5.6mM), albumin(5%)を使用することで浸透圧ならびに膠質浸透圧を調整した。

質問4) 生体から完全に離れた灌流の長所はどのような点か。

回答: 肝重量を測定でき、肝重量の増加があれば肝鬱血の情報を得られることである。

質問5) 摘出した肝臓は循環が安定するにはどのくらいかかるか。

回答: 灌流開始直後の肝血管抵抗は高く、安定するまでに 10 分程度要した。肝重量の安定ならびに Hct の調整を含めると、灌流開始から実験開始まで 30 分程度であった。

質問6) 灌流実験を行った理由は何か。

回答: 他臓器や他循環を介さない肝臓のみでの調節機能を観察する為である。

質問7) ノルエピネフリンの投与は、副腎からの影響を観察するためか交感神経を介した影響を観察するためか。

回答: 門脈からの投与であり、副腎からのノルエピネフリンの反応の観察である。

質問8) 肝を支配する交感神経と副腎を介したカテコラミンの肝血管抵抗への割合はどの程度か。

回答: 割合の程度は理解していない。ただし、実験を行うとすれば、副腎切除後や肝を支配する交感神経を除神経した動物モデルを作成し、whole body で出血等の条件下で各血管分画を比較観察したい。

質問9) 肝類洞には、平滑筋が存在しないのに抵抗の変化をきたすのはどのように解釈するのか？

回答: 類洞内皮細胞には norepinephrine, epinephrine, acetylcholine のレセプターが存在し、また類洞内皮細胞は NO, endothelin, IL-1, IL-6 の産生をおこなう。よって Disse 腔に存在する星細胞の突起の収縮により、類洞径が変化する可能性がある。

質問10) Flow を変えた時の血管抵抗変化は、NO によるものではないか。

回答: 星細胞は、endothelin-1, substance-P で収縮し、NO, prostaglandin E2 で弛緩するため NO による可能性は十分考えられる。

質問11)病的肝臓での研究成果はないか。

回答: 胆管結紮肝硬変モデルにおいて正常肝に比して類洞血管抵抗の増加を認めた。

(European Journal of Physiology に掲載予定)

質問12) Endothelin-1, angiotensin II, vasopressin が肝循環にどのような効果を及ぼすか。

回答: Endothelin-1 においては、我々のデータでは門脈血管抵抗、類洞血管抵抗の上昇を起こす。(European Journal of Physiology に掲載予定)

Angiotensin II においては、Rothe らによると in vivo の実験で門脈内投与において門脈圧の上昇、肝血流の軽度減少、肝容積の減少、肝静脈血管抵抗の上昇を認めている。Vasopressin においては、Rothe らによると in vivo の実験で門脈内投与において門脈圧の軽度低下、肝血流の減少また肝容積に変化認めず、肝静脈血管抵抗の上昇を認めている。

質問13) Fahraeus effect はどのようなことか。

回答: Fahraeus effect とは、血液が狭い径の管を通過するときに Hct が低下する現象をいう。すなわち血液が微小血管を通過する時には、Hct の低下による血液の粘度の低下を認める。

質問14) 肝動脈の灌流を行っていないがなぜか。

回答: 肝動脈からも灌流したほうが良いと思われる。肝動脈と門脈両方から灌流を行うことで求めた類洞圧と、門脈のみから灌流した類洞圧を比較した実験があり、それらは一致したため、問題ないと判断し実験を行った。また、解剖学的に肝動脈と門脈にシャントが存在しなければ問題ないと考えている。

質問15) 雄で行っているが性差についての研究はないのか。

回答: 雌には性周期があり難しい面もあると思われるが、去勢や妊娠状態を含め今後興味のある研究と思われる。

質問16) Norepinephrine を使用したのは α 作用をみるためだと思われるが、肝静脈に α -receptor 存在するのか?

回答: Norepinephrine に対する肝血管の反応は、ラット、モルモット、マウスおよびブタで presinusoid の血管抵抗の増加を認めている。ウサギにおいては肝静脈抵抗の増大を示すものの、肝類洞門脈の血管抵抗の増大を認め、肝静脈に α -receptor が存在してもその効果は軽微であり、shock 時に体循環血液量を増加させるのに有利であると考えている。

質問17) 多血症という病態から考えれば Hct を上げた実験をすべきではなかったか。

回答: 考慮すべき問題であったと思われる。

質問18) Recruitment of sinusoids とは何か。

回答: 類洞は網目状に存在し、均一な収縮拡張があるとはかぎらない。生理的条件下では開いていない部位が開いた可能性もあり、この様な表現とした。

質問19) 門脈血流を決める因子は何か。

回答: 自律神経、門脈を介した液性因子、類洞内皮と星細胞関連からなる微小環境は、肝血流に大きな影響を及ぼす。また生理的条件下では、食事により肝血流は増加する。食後臥位時は立位時より肝血流は増加する。このように肝への流入出路の受動的変化でも肝血流は変化しうる。

以上の結果から、3名の審査委員は本人が大学院博士課程修了者と同等あるいはそれ以上の学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。