

## 部分肝切除ラットにおける血中脂質量の変動

大竹 洋輔, 増井 大樹, 大久保恭仁

### Change of Plasma Lipid Contents in Partially Hepatectomized Rats

Yosuke OHTAKE, Daiki MASUI, Yasuhito OHKUBO

(Received November 22, 2003)

We investigated the change of plasma lipid contents in partially hepatectomized rats. Triacylglycerol and high-density lipoprotein content levels significantly decreased 1 day after partial hepatectomy (PH), and then gradually increased after following. On the contrary, free fatty acid increased 1 day after PH and gradually decreased after following, and low-density lipoprotein increased 1 day after PH and reached a maximum 3 days after PH. Total cholesterol slightly increased to 4 days after PH. These results suggest that the change of plasma lipid contents would closely relate to liver regeneration of PH.

Key words — liver regeneration, lipoprotein, cholesterol, triacylglycerol

#### 緒 論

生体肝移植は今日、多種多様な末期肝疾患あるいは代謝性肝疾患の治療法として認知され、1998年4月には生体肝移植が一部の疾患に対し保険適応となった。1997年10月に臓器移植法が施行され、脳死のドナーからの臓器提供に道が開かれたが、現実的には提供件数が限られており、わが国の肝移植は当面、生体肝移植が主流にならざるを得ないと考えられる。生体からの臓器提供手術は数多くの医療行為の中で唯一、ドナー本人にとっては健康であるにもかかわらず行われる手術である。また肝臓の提供手術はドナーへの侵襲性が非常に大きいため、ドナーの健康と安全への最大限の配慮が必要である。わが国ではこれまでに2,000例以上の生体肝移植が施行されているが、最近、生体肝移植ドナーが死亡するという痛ましい事故が起こっている。生体肝移植におけるドナーに関しての予後に関する情報は乏しいのが現状であり、今後、ドナーの健康をどう評価するかが焦点となってくる。

肝臓は、生体の恒常性維持に重要な役割を担っており、糖質、脂質、タンパク質代謝の中心となる臓器である。脂質代謝においては、脂肪

酸、コレステロール、中性脂肪（トリアシルグリセロール）の生合成及び、 $\beta$ 酸化による遊離脂肪酸の分解などが行われている。これら代謝系が異常を来せば、生活習慣病、特に高脂血症に基づく脳血管疾患、虚血性心疾患などを招く恐れがある。脂質代謝は肝臓で行われているため、生体肝移植後、レシピエントあるいはドナーにおいて脂質代謝系が変化しているものと思われ、危険因子が高まる可能性も示唆される。今回我々は、70%部分肝切除モデルラットを用いて肝代謝系機能の指標となり得る総コレステロール、中性脂肪（トリアシルグリセロール）、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、遊離脂肪酸などの血漿脂質の測定を行い、部分肝切除による脂質の変動から、生体肝移植ドナーの健康に与える影響と、その回復を検討する基礎データを提出することを目的として本実験を行った。

#### 実験材料及び方法

##### 1. 実験動物

ウイスター系雄性ラット（7週令、150-170g）は静岡実験動物センター（浜松）から購入し、全ての実験は東北薬科大学動物実験ガイドライ

ンに従って行った。動物はワイヤーメッシュゲージで、12時間明暗周期（明期午前8:30から午後8:30まで）、一定温度（ $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ）、一定湿度（ $55 \pm 5\%$ ）の条件下で飼育した。

## 2. 部分肝切除術

Higgins と Anderson の方法<sup>1)</sup>に従いエーテル麻酔下で肝の2/3を切除した。シャム手術（偽手術）は、肝臓を露出させた後、切除せず腹腔内に戻して縫合した。

## 3. 血漿の調製

ラットをウレタン麻酔（0.74 g/mL, i.p.）し、開腹後、下大静脈より、抗血液凝固剤3.8%クエン酸ナトリウムを注入したシリンジで採血した。緩やかに混和後、 $1,500 \times g$ , 20 min 遠心し、血漿を得た。

## 4. 脂質定量

上記方法より得た血漿を用いて、総コレステロールは cholesterol oxidase-3,5-dimethoxy-N-ethyl-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-aniline sodium (DAOS) 法で、遊離脂肪酸は acyl-coenzyme A synthase-acyl-coenzyme A oxidase (ACS-ACOD) 法で、トリアシルグリセロールは glycerolphosphate-oxidase-phenol aminoantipyrin (GPO-PAP) 法で、及び HDL-コレステロールはヘパリン・マンガン結合沈殿法により測定した<sup>2)</sup>。また、LDL-コレステロールは次の計算式より求めた。

$$\text{LDL-コレステロール} = \text{総コレステロール} - (\text{HDL-コレステロール} + \text{トリアシルグリセロール} / 5)$$

## 5. 統計処理

有意差検定は、Student's *t*-test により行った。

## 実験結果

### 1. 部分肝切除後ラットにおける脂質定量

遊離脂肪酸値は部分肝切除後1日目で正常ラットの約1.7倍に上昇し、2日目は1日目と比べてほとんど変化はなく、3日目以降は徐々に減

少し、6日目には正常ラットとほぼ同値まで回復した (Fig. 1(a))。

血漿トリアシルグリセロール値は部分肝切除後1日目は正常ラットの約0.4倍まで減少した。それ以降は上昇し始め、4日目でピークとなり、正常ラットの約0.7倍量となった後は値にほとんど変化はなかった (Fig. 1(b))。

血漿総コレステロール値は部分肝切除後1日目で若干減少したが、それ以降は上昇をはじめ、4日目でピークとなり、正常ラットの約1.3倍まで増加した (Fig. 1(c))。

HDL-コレステロール値は部分肝切除後1日目で正常ラットの約0.4倍まで減少し、以後徐々に値は上昇し、6日目には正常ラットとほぼ同値まで回復した (Fig. 1(d))。

LDL-コレステロールは部分肝切除後1日目で正常ラットの約5倍に急激に上昇し、2日目には約8倍、3日目には約8.5倍と3日目まで上昇し続け、3日目でピークとなり、以後減少し始め6日目で正常ラットの約2.8倍まで回復した (Fig. 1(e))。

## 考 察

現時点においては、生体肝ドナーの短期あるいは長期予後に関する調査報告が十分でないために、生体肝移植におけるドナーの術後管理というのは十分ではないと思われる。最近起こったドナーの死亡事故においては、肝切除量が多かったことから、残肝容量不足による肝機能不全が原因であった。ドナー側の緻密な肝機能モニタリングが行われていれば、未然に防ぐことができたのかもしれない。肝機能の回復の指標となり得るデータが蓄積されれば、ドナーの負担の軽減及び健康管理に貢献できるものと期待される。そこで今回我々は、70%部分肝切除モデルラットを用いて肝代謝系機能の指標となる総コレステロール (TC)、中性脂肪 (トリアシルグリセロール, TAG)、HDL-コレステロール (HDL-C)、LDL-コレステロール (LDL-C)、遊離脂肪酸 (FFA) の血漿脂質の測定を行った (Fig. 1)。

部分肝切除後、肝における TAG が1日目で増

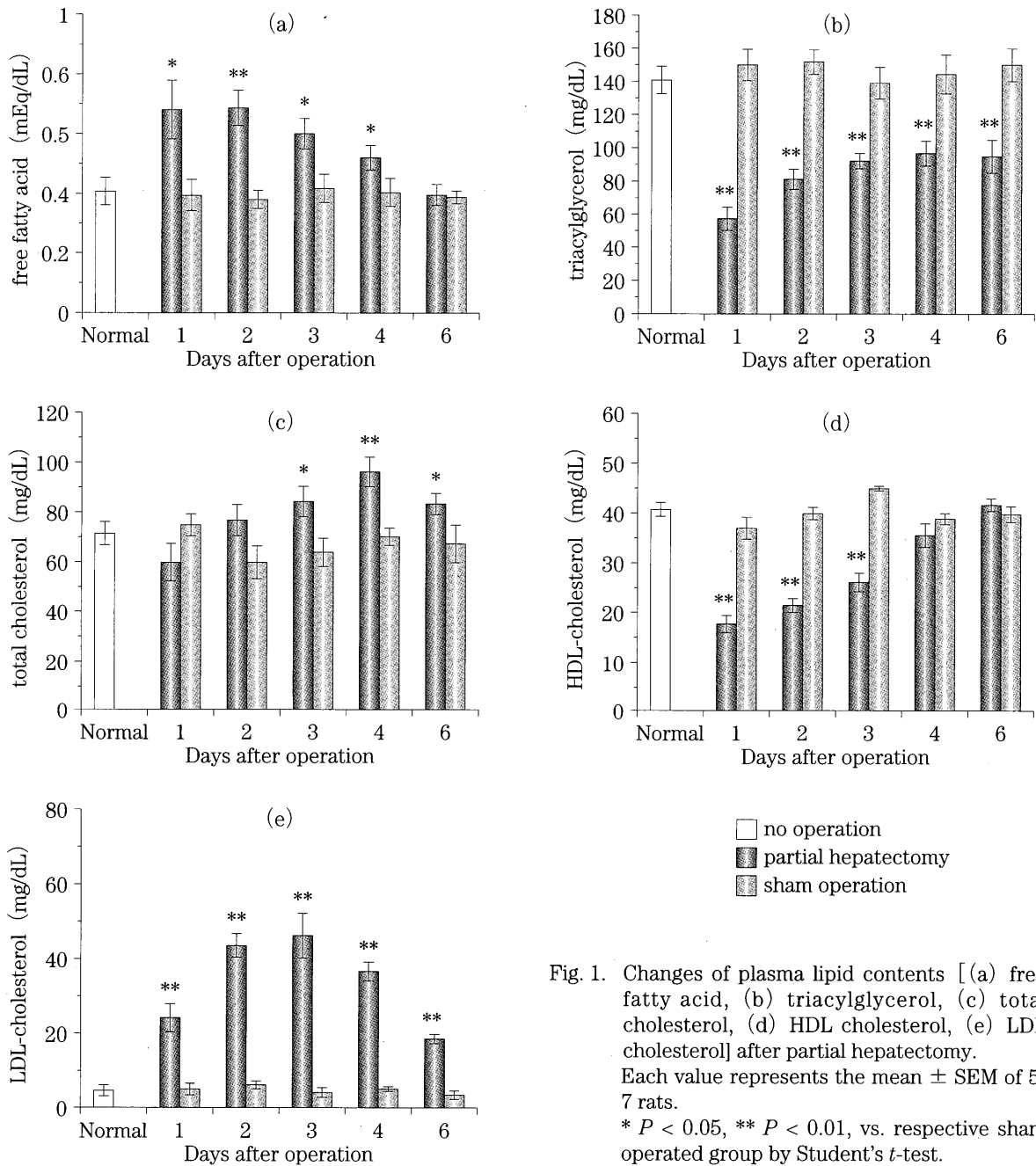


Fig. 1. Changes of plasma lipid contents [(a) free fatty acid, (b) triacylglycerol, (c) total cholesterol, (d) HDL cholesterol, (e) LDL cholesterol] after partial hepatectomy. Each value represents the mean  $\pm$  SEM of 5-7 rats. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , vs. respective sham operated group by Student's *t*-test.

加を示し、3日目で正常レベルに戻るという報告がある<sup>3)</sup>。

ここで、本実験において肝切除後、血中における遊離脂肪酸が増加し、逆にTAGが低下しているが、これは血中TAGが肝へ移行し、その結果、構成成分である脂肪酸がTAGに組み込まれることなく遊離したままであると考えることが出来る。また、胆汁酸合成の律速酵素である7 $\alpha$ -ヒドロキシラーゼが肝切除後、抑制されると

いう報告<sup>4,5)</sup>があることから、外因性TAGの消化管吸収は低下するので、内因性のものが増加していることが示唆される。

TAGが肝切除後に肝に取り込まれる理由はよくわかっていないが、脂質懸濁液が肝再生を促進するという報告<sup>6)</sup>があることから肝再生過程においてなんらかの関与があると考えられる。

TCに関しては、部分肝切除後若干低下するものの、その後徐々に増加したがあまり大きな変

化ではなかった。ここで、部分肝切除後、コレステロール生合成の律速酵素である 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) は増加することが報告されているが<sup>3)</sup>、これが本当とするならば、肝再生時、コレステロール合成は必ずしも必要ではないということを示している。また、HDL が成熟するのに必要な酵素である lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) 活性は低下することが知られている<sup>7)</sup>ので、これは本実験における肝切除後の HDL-C が低下するということを支持するものである。

Kaibori らは、部分肝切除術を施した肝硬変ラットに Hepatocyte Growth Factor (HGF) を投与したときの肝脂質代謝産物の血中レベルの変化<sup>8)</sup>及び、分離したノーマルのラット肝細胞の初代培養系において HGF を添加したときの脂質合成及びリポタンパクの分泌に関するレポートを出している<sup>9)</sup>。HGF は部分肝切除後、肝再生に先行して誘導される主に肝非実質細胞により作られる肝細胞増殖因子の 1 つである。それによれば、*in vivo* においては、HGF 投与後、24 時間以内に著しく血中脂質レベルの増加が示されている。また、*in vitro* においては、HGF 刺激後、12 時間までは脂質合成を抑制しているが、36 時間では TAG, TC, LDL/HDL 比が増加するということが示されている。本実験での肝切除後 1 日目の TAG 及び TC の若干の低下、そしてその後の値の増加というのは、肝再生過程初期において HGF が非実質細胞より分泌されることによるものかもしれない。また、肝切除後の LDL の増加及び HDL の低下も HGF によるものと示唆される。しかしながら、これは試験管内での特殊な条件下における作用を見ているので、*in vivo* でこの作用が現れているかどうか今後検討する余地のあるところではあるが、HGF による血中脂質量に及ぼす影響は少なからずあると思われる。さらに、肝切除後 6～18 時間の肝再生初期段階においてクロマチンのコレステロールが増加を示し、細胞複製時における G1-phase において必要であることが知られている<sup>10)</sup>ので、核内及び核外でのコレステロールの動向及び役割が異なるということが言えるかもしれない。

肝再生過程において、脂質代謝系は、HGF に代表される増殖因子など、おそらく多くの因子の関与により変化を示すことが示唆されたわけだが、正常の再生肝においては、おおよそ 1 週間程度で血漿脂質レベルが正常に戻ることが明らかとなった。肝重量は、70% の部分肝切除から 4 日目まで急激に増加を示し、6 日目では元の肝重量のおよそ 75% にまで回復することがわかっている。このことから血漿脂質レベルと肝重量変化が相関しているということがわかる。しかしながら、本実験においては、70% の肝切除時の検討しか行っておらず、肝切除の割合による血中脂質量の変化の程度というのは不明であり、今日の生体肝移植において、どれだけ肝臓を残せば安全か、具体的な基準が明確に決まっていない今、急を要する検討課題でもある。肝切除量が多い場合、残肝容量不足から術後肝不全による脂質代謝異常が誘発される可能性もあり、これは長期化すれば血管系疾患に発展することもあり得るので、血中脂質レベルを術後早期からモニタリングすることは意義あるものと確信する。また、当然ながら、脂質ばかりではなく糖質、タンパク質も影響を受けるということが容易に想像できる。部分肝切除後のこれら肝機能の回復の指標となり得るデータを蓄積し、術後のモニタリングをしっかりと行えば、ドナーの負担の軽減及び健康管理に貢献できるものと期待される。

## REFERENCES

- 1) Higgins G. M., Anderson R. M., *Arch. Pathol.*, **12**, 186-202 (1931).
- 2) Mitani H., Egashira K., Kimura M., *Pharmacol. Res.*, **48**, 417-427 (2003).
- 3) Field F. J., Mathur S. N., LaBrecque D. R., *Am. J. Physiol.*, **249**, G679-684 (1985).
- 4) Nakano K., Chijiwa K., Okamoto S., Yamashita H., Kuroki S., Tanaka M., *Eur. Surg. Res.*, **27**, 389-395 (1995).
- 5) Chijiwa K., Kozaki N., Naito T., Okamoto S., Kuroki S., Yamashita H., Tanaka M., *Br. J. Surg.*,

- 83, 482-485 (1996).
- 6) Holecek M., *Nutrition*, **15**, 784-788 (1999).
- 7) Bruscalupi G., Dini L., Trentalance A., *Cell Mol. Biol.*, **35**, 47-54 (1989).
- 8) Kaibori M., Kwon A. H., Nakagawa M., Wei T., Uetsuji S., Kamiyama Y., Okumura T., Kitamura N., *J. Hepatol.*, **27**, 381-390 (1997).
- 9) Kaibori M., Kwon A. H., Oda M., Kamiyama Y., Kitamura N., Okumura T., *Hepatology*, **27**, 1354-1361 (1998).
- 10) Albi E., Magni M. V., *J. Hepatol.*, **36**, 395-400 (2002).