

## 血管閉塞法による肝微小血管圧の測定とその応用

芝本利重\*, 上門千哲\*\*, 倉田康孝\*

### 要 旨

肝類洞圧および肝内血管抵抗の分布については見解の不一致があったが、改良されたマイクロピペット法ならびに血管閉塞法により、動物の種差はあるものの、肝類洞圧は門脈圧と肝静脈圧のほぼ中間値に近いことが明らかとなってきた。著者らは体循環の mean circulatory filling pressure の概念を肝循環に応用し、肝類洞圧の間接的な測定法として肝血管閉塞法を確立してきた。本総説では肝血管閉塞法についてその応用とともに解説した。摘出灌流肝臓で double occlusion pressure あるいは triple vascular occlusion pressure により類洞圧を測定して各種血管作動性物質の作用を検討すると、物質により肝血管の収縮部位は異なり、また大きな種差が存在する。しかしながら、ノルエピネフリンの反応は種差なく、presinusoid の血管を収縮させて肝内血液を駆出させる。このノルエピネフリンの反応は、運動時や出血性ショック時などの交感神経系の賦活により肝内血液が体循環系に放出させる機序を説明するものであり、生命維持に不可欠な生体防御反応は多くの種に共通することを示唆している。また、本法を用いた肝虚血再灌流傷害モデルと肝アナフィラキシー反応の検討では、肝静脈抵抗と肝内血液量の関連がみられ、肝内血行病態が明らかとなった。さらに、門脈のみから灌流する摘出肝臓で門脈あるいは肝静脈の片方だけを閉塞した時の圧曲線から肝類洞抵抗を推定する試みについても言及した。肝血管閉塞法は肝内血行動態の解析に有用な方法と思われる。

**Key Words;** sinusoidal pressure (肝類洞圧), hepatic circulation (肝循環), hepatic vascular resistance distribution (肝血管抵抗の分布), hepatic blood volume (肝血液量), isolated perfused liver (摘出灌流肝), hepatic microvascular pressure (肝微小血管圧)

### はじめに

肝臓は代謝などの機能の他に体内で最大の血液貯蔵部位としての役割がある<sup>1)</sup>。肝臓は非常に伸展性があり、血管のコンプライアンスは大きく他の血管のおよそ10倍である<sup>2,3)</sup>。そのため全血液量の12%が肝臓に存在し<sup>2,3)</sup>、そして肝内血液は肝重量のおよそ35%を占め<sup>1,3,4)</sup>、その約60%は毛細血管である肝類洞に存在する<sup>4~6)</sup>。ストレス状態ではその貯蔵血液が循環系に動員される。このように肝類洞は心血管系全体での血液の再分配の中心的役割をはたしている<sup>1)</sup>。しかしながら、肝類洞の圧ならびに肝内血管抵抗の分布についてはいまだに定説が確立されていない。

Nakata ら<sup>7,8)</sup>は顕微鏡下にラットの肝表面の血管にマイクロピペットを穿刺し、肝微小血管圧を直接測定した。その結果、門脈と肝細静脈の間には大きな圧勾配があるが、肝静脈側にはほとんど血管抵抗は存在しないと報告した。しかしながら、この研究では現在ではマイクロピペット法に汎用されている Servo-null system が使用されず、その成績は精度の上で問題がある。一方、これとは正反対に、Lautt ら<sup>1,3,9,10)</sup>はイヌとネコの肝静脈に逆行性にカテーテルを挿入し、先端の側孔から測定した圧を“lobar venous pressure”とした。その圧と門脈圧との圧勾配は0.5mmHg以下で類洞を含めたpresinusoidの血管抵抗はほとんどゼロであり、門脈

\*金沢医科大学生理機能制御学講座

\*\*鹿児島大学医学部外科学第一講座

から肝静脈にいたる主要な血管抵抗はpostsinusoidの肝静脈に存在すると報告した。しかし、その後、カテーテル自体が血流に対する抵抗となることが実験的に証明された<sup>11)</sup>。一方、近年、RotheらはServo-null systemを用いたマイクロピペット法で肝微小血管圧を測定し、それらは門脈圧と肝静脈圧のほぼ中間であることを示してきている<sup>12~15)</sup>。さらに著者らも摘出灌流肝臓において血管閉塞法により肝類洞圧を間接的に測定した結果<sup>16~19)</sup>、Rotheらに近い成績を見出してきている。そこで、本稿では、はじめに肝微小血管圧の測定法である血管閉塞法を概説する。さらに、血管作動性物質の血管収縮部位、ならびに血管閉塞法を用いて明らかとなった肝虚血再灌流傷害モデルと肝アナフィラキシー反応の肝内血行動態について解説する。

## 血管閉塞法

### A. 肝類洞圧の測定

本法は全身の体循環で測定される平均循環充満圧 mean circulatory filling pressure (Pmcf) の概念<sup>20,21)</sup>を肝循環に応用したものである。すなわち、肝循環を他の血管系から独立させた状態で肝臓の流入の血流を停止させた際に平衡に達する肝血管圧から肝類洞圧を推定する方法である。Pmcfは心臓を急速に停止させたときに瞬時に体内血液の再分配が生じ、すべての血管圧が等しくなったときの圧であり、血管コンプライアンスが最も大きな部位の血管圧を反映する<sup>20,21)</sup>。肝臓のほとんどの血液(50~80%)は類洞内に局在するため<sup>4~6)</sup>、肝類洞が肝臓の血管のコンプライアンスのほとんどを占めると考えられる。したがって、肝循環を独立し

た系で測定される肝臓の mean filling pressure は肝類洞圧を反映することになる。

### 1. 摘出灌流肝臓での測定

著者らは肝動脈を結紮し、門脈と下大静脈にカニューレションし、門脈からヘパリン加自家血にて定圧灌流した成犬の摘出灌流肝で mean filling pressure を測定した。すなわち、門脈と肝静脈側のカニューレを同時かつ瞬時にクランプしたときに門脈圧が低下し、肝静脈圧が上昇して同一値に平衡になる double occlusion pressure (Pdo) を測定した<sup>19,22)</sup>。そして、この Pdo は古典的な毛細管圧測定法である Pappenheimer and Sot-Rivera による Gravimetric 法<sup>23)</sup>により測定した肝類洞圧に一致することを示した<sup>19)</sup>。すなわち、同一の摘出灌流肝標本で Isogravimetric capillary pressure (Pc,i) と Pdo を同時に測定した結果、Pc,i = 4.6 ± 0.2 mmHg と Pdo = 4.5 ± 0.2 mmHg はほぼ一致した<sup>19)</sup>。Pdo の結果から総肝血管抵抗に占める肝静脈側の血管抵抗の比率は 54% であり、門脈側と肝静脈側の血管抵抗はほぼ等しい。

次に肝動脈も灌流したイヌの摘出灌流肝標本で検討した<sup>17)</sup>。生体では門脈血流は腹腔臓器の血流量が決定し、肝動脈圧は体血圧が決定しているために、門脈は門脈圧 (Ppv) が 6~9 mmHg になるように門脈血流量 (Qpv) 190 ml/min/100g liver の定流量灌流を行い、肝動脈は肝動脈圧 (Pha) が 70 mmHg になるように定圧灌流を行った (図 1A)。肝動脈、門脈、肝静脈の回路に装着した電磁弁を瞬時にかつ同時に閉塞した時に各々の圧が平衡に達する圧を triple vascular occlusion pressure (Pto) と命名し、mean filling pressure を測定した。肝門

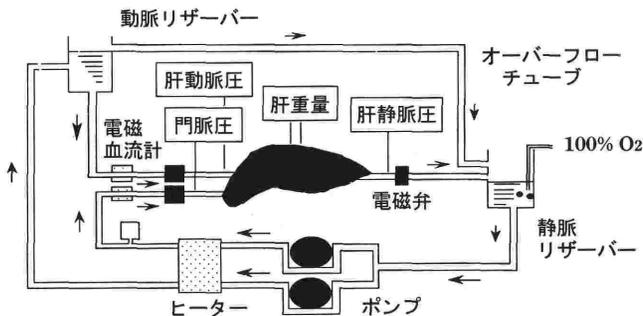


図1A 摘出肝の灌流模式図

門脈は定流量で、肝動脈は血液リザーバーの高さを固定して一定圧で灌流する。静脈側リザーバーの灌流血液は 100% O<sub>2</sub> によりバブリングされている。Triple vascular occlusion pressure 測定のために肝動脈、門脈、肝静脈の各ラインに電磁弁が装着されている。

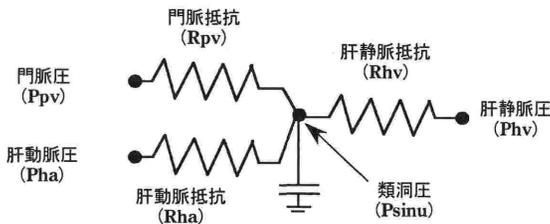


図1B 肝血管抵抗の模式図

部を圧測定の基準点とすると, Ppv 7.4mmHg, Phv 0.9mmHg, Pha 70mmHg のときに Pto は 5.0mmHg であった. この Pto も Gravimetric 法で測定した肝毛細管圧と比較した結果, 両者は一致した<sup>17)</sup>. 各血管分節の血管抵抗は図1Bより算出し, 門脈抵抗 (Rpv), 肝静脈抵抗 (Rhv), 肝動脈抵抗 (Rha) はそれぞれ 0.014, 0.016, 1.020mmHg/ml/min/100g と Rhv の総肝血管抵抗に対する比率は 54%であり, 門脈のみからの灌流時<sup>19,22)</sup>と変わらない. すなわち, イヌの摘出灌流肝臓においては肝静脈抵抗である postsinusoid の血管抵抗は総血管抵抗の約半分を占める.

本法により他の種の肝循環を検討すると種差の存在が明らかとなった. ラット摘出肝で門脈と肝動脈から灌流し, Pto を測定した<sup>16)</sup>. ただし, 肝動脈灌流は腹腔動脈の肝臓以外への分枝を結紮し, 大動脈から腹腔動脈を介して行った. また, 灌流液には稀釈血液 (ヘマトクリット 3.3%) を用いた. Ppv 6.5mmHg, Phv 0.4mmHg, Pha 75mmHg, Qpv 36.5ml/min/10g liver, Qha 7.6ml/min/10g liver のときに Pto は 2.5mmHg であった. 各血管抵抗は Rpv 0.114, Rhv 0.046, Rha 9.048mmHg/ml/min/10g liver となり, Rhv は総肝血管抵抗の 30% を占め, presinusoid の血管抵抗が優位である<sup>16)</sup>.

ウサギにおいてはアルブミン液だけで肝動脈を結紮し門脈から灌流する摘出肝標本で検討した結果, Ppv 7.3mmHg, Phv 1.2mmHg, Qpv 195ml/min/100g liver で Pdo は 3.7mmHg であり, Rhv は総肝血管抵抗の 41% を占めた<sup>18,24)</sup>. このウサギの血管抵抗の分布は Rothe らのマイクロピペットの成績と一致する<sup>13,14)</sup>.

以上の摘出灌流肝臓の方法論的な欠点として, 神経支配の欠如, ポンプによる溶血ならびに手術侵襲, また灌流液に血液を使用していない場合には肝組織の酸素化が不十分になる可能性もある.

さらには時間が経過すると灌流液内に老廃物蓄積の影響もある. 本質的には, 本法はあくまでも間接的な評価法である点が挙げられる.

## 2. 生体での測定

血管閉塞法は *in vivo* にも適用されている. Kjekshus ら<sup>25)</sup>は麻酔下のブタ (20~24kg) に門脈と肝静脈に圧測定カテーテルを留置し, 血管オクルーダーを流入側である門脈と肝動脈に装着した. 流出側である肝静脈の閉塞のために空気 60cc を注入すると肝静脈の流出路が閉塞できるバルーン付カテーテル<sup>26)</sup>を下大静脈内に留置した. それらを同時に作動させ, 肝臓の流出入の血管を閉塞させたときの門脈圧と肝静脈圧の平衡圧 (Pto に匹敵する) を測定した. 右心房を圧測定の基準点とすると Ppv 7.9mmHg, Phv 6.1mmHg で平衡圧は 7.2mmHg で, Ppv との圧較差 (0.7mmHg) より Phv との圧較差 (1.1mmHg) が大きく, 門脈から肝静脈までの圧勾配のうち 61% が postsinusoid が占めることを示した.

## B. 血管閉塞法による肝類洞抵抗測定の試み

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<sup>13)</sup>肝類洞にも血管抵抗が存在する. そこで, 我々は, 肺循環で汎用されている流出入血管の片方だけを閉塞する血管閉塞法<sup>27)</sup>を用いて門脈のみから灌流するラット摘出肝において肝類洞の起始部と終末部の圧測定を試みた<sup>28)</sup>. 図2A に示すように門脈だけを閉塞すると Ppv は瞬時に低下した後, 緩徐に低下し続ける. その急速に低下した圧を portal occlusion pressure (Ppo) とし, 肝類洞起始部の圧を反映するものと推定した<sup>28)</sup>. また, 図2B に示すように肝静脈のみを閉塞したとき Phv は瞬時に上昇した後, 緩徐に上昇し続けることから, 急速に上昇した圧を hepatic venous occlusion pressure (Phvo) とし, 肝類洞終末部の圧を反映するものと推定した<sup>28)</sup>. すなわち, 門脈の閉塞直後の Ppv の急激な低下は門脈側の血管壁の伸展性が小さな, すなわちコンプライアンスの小さな血管分節を介するものであり, 緩徐に変化する Ppv 低下は血管壁の伸展性があるコンプライアンスの大きな肝類洞を介することによると推察される<sup>27)</sup>. また, 肝静脈の閉塞後の Phv の急激な上昇は門脈側の血管壁の伸展性が小さな, すなわちコンプライアンスの小さな血管分

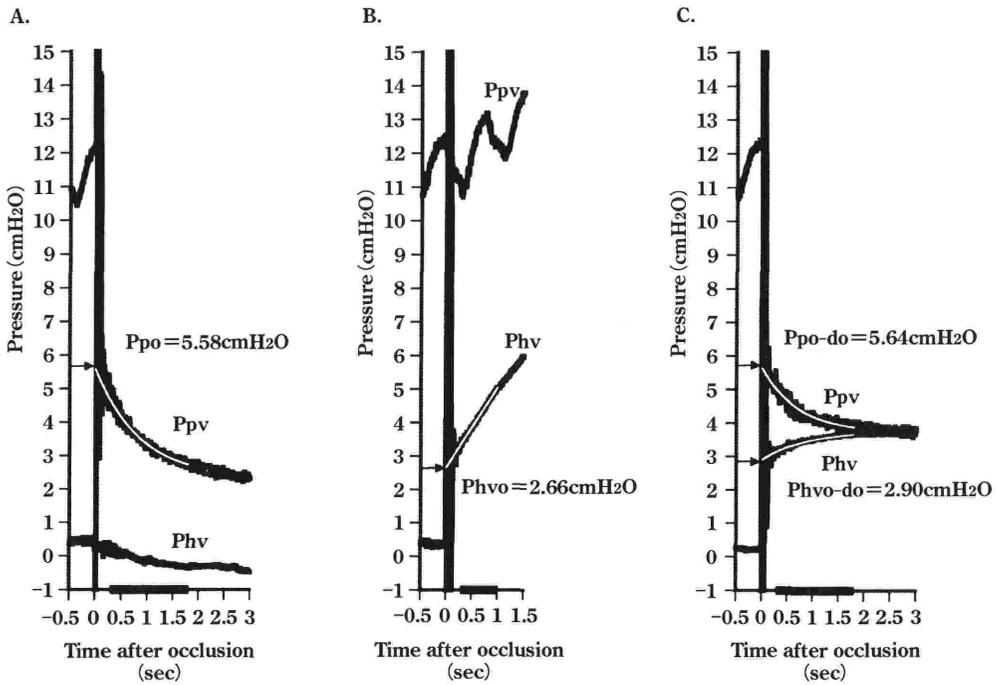


図2A Portal occlusion pressure (Ppo)測定の一例

ヘマトクリット30%の血液で25ml/minで定流量するラット摘出肝の門脈を閉塞した時の門脈圧(Ppv)と肝静脈圧(Phv)を示す。血管閉塞によるノイズの影響が少なくなる閉塞後0.3秒から1.8秒のPpvの曲線を指数関数回帰させ、閉塞直後のPpv値、5.58cmH<sub>2</sub>OがPpoとして求まる。

図2B Hepatic venous occlusion pressure (Phvo)測定の一例

図2Aと同じラット肝標本において肝静脈を閉塞した時のPpvとPhvを示す。血管閉塞によるノイズの影響が少なくなる閉塞後0.3秒から1.0秒のPpvの曲線を直線回帰させ、閉塞直後のPhv値、2.66cmH<sub>2</sub>OがPhvoとして求まる。

図2C Double occlusionによるPpoとPhvoの推定値の測定

図2Aと同じラット肝標本において門脈と肝静脈を同時に閉塞した時のPpvとPhvを示す。血管閉塞によるノイズの影響が少なくなる閉塞後0.3秒から1.8秒のPpvとPhvの曲線を指数関数回帰させ、閉塞直後のPpv値、5.64cmH<sub>2</sub>OをPpoの推定値、Phvo-doとして求め、一方、閉塞直後のPhv値、2.90cmH<sub>2</sub>OをPhvoの推定値、Phvo-doとして求める。(文献28から引用)

節を介するものであり、緩徐に上昇するのは血管壁の伸展性のある大きなコンプライアンスの肝類洞を介することによると推察される<sup>27)</sup>。これらの仮説からPpoは肝類洞の起始部の圧であり、Phvoは肝類洞終末部の圧となり、それらの圧較差は肝類洞による圧勾配となる。それらを門脈血流量で除すことにより肝類洞抵抗が求まる。

Ppvが*in vivo*のラット<sup>12)</sup>と同じになるように門脈のみからヘマトクリット30%の血液でPpv 9.1cmH<sub>2</sub>O, Phv 0.4cmH<sub>2</sub>O, Qpv 15.6ml/min/10g liverで灌流したラット摘出肝においてPpoとPhvoを測定すると、Ppoは5.3cmH<sub>2</sub>O, Phvoは2.0cmH<sub>2</sub>Oであった。類洞抵抗は0.212cmH<sub>2</sub>O/ml/min/10g liverであり、類洞を含めない門脈抵抗と肝静脈抵抗はそ

れぞれ、0.251と0.105cmH<sub>2</sub>O/ml/min/10g liverとなり、門脈から肝静脈までの圧勾配のうち37%が肝類洞が占め、門脈は最も多くの44%、そして肝静脈はわずか19%であった<sup>28)</sup>。このようにラットにおいては肝静脈抵抗が小さい成績は門脈から下大静脈に至る圧較差に占める肝細静脈と下大静脈の圧較差の比率が0.37とのマイクロピペット法の成績と矛盾しない。

図3Aにはラット摘出肝でPhvを0~1cmH<sub>2</sub>Oに一定に保って、血流量を変えた際のPpoとPhvoの測定例を示し、図3Bにそれらをまとめた成績を示す<sup>28)</sup>。血流量が増加するに従い、PpvとPhvoは増加するがPpoは変化しない。そのため、PpvとPpoの圧較差とPhvoとPhvの圧較差は流量依存性に

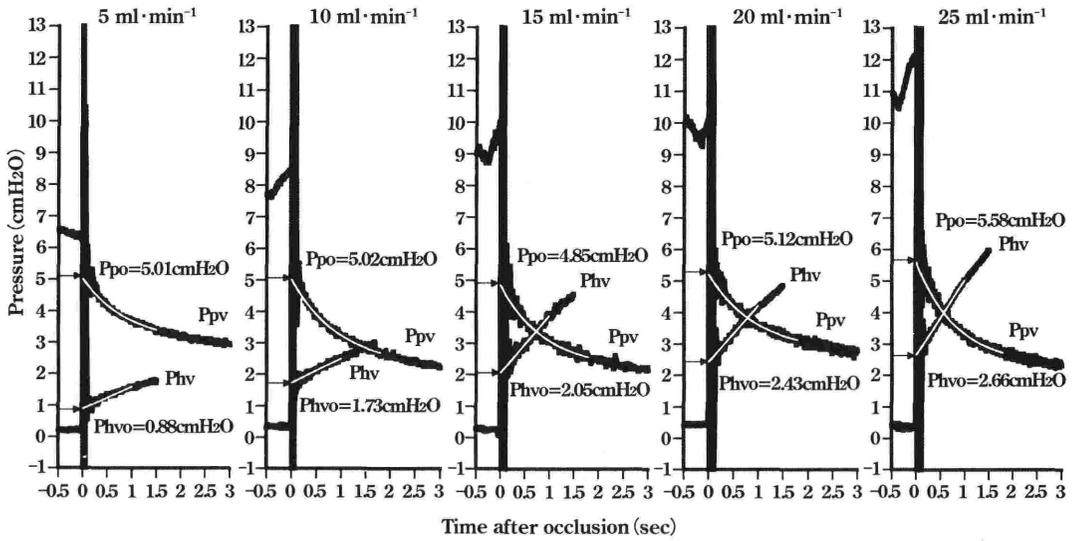


図3A ヘマトクリット 30%の血液で定流量するラット摘出肝において門脈血流量 5ml/min から 25ml/min まで段階的に増加させた時の血管内圧

門脈を閉塞した時の門脈圧 (Ppv) と肝静脈を閉塞した時の肝静脈圧 (Phv) を同一画面に合成して示す。Ppv と Phv の曲線上の白線はそれぞれ回復曲線と回復直線を示し、その閉塞直後の値は Ppo と Phvo を示す。流量が大きくなるに従い Ppv と Phvo は増大するが、Ppo は比較的一定である。Phv は一定に保つように灌流した。

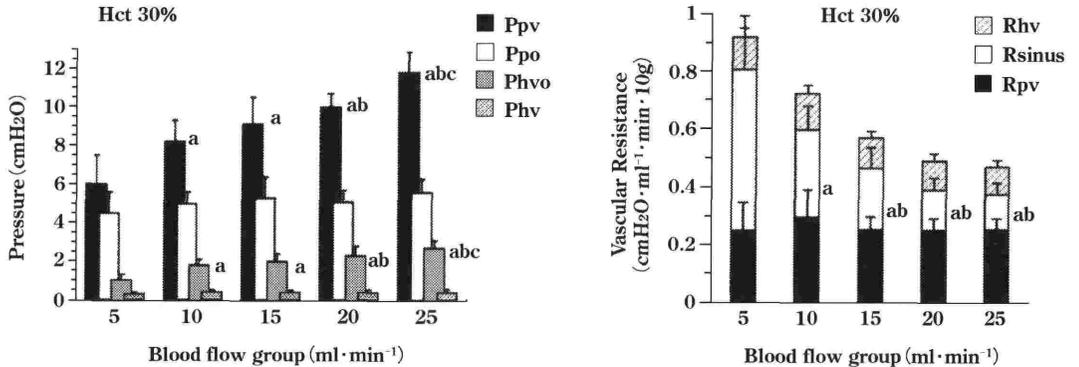


図3B ヘマトクリット 30%の血液で定流量するラット摘出肝において門脈血流量 5ml/min から 25ml/min まで段階的に増加させた時の各血管内圧と各血管抵抗

流量が大きくなるに従い Ppv と Phvo は増大するが、Ppo は比較的一定である。したがって、流量が大きくなるに従い類洞抵抗は減少するが門脈と肝静脈の抵抗には有意な変化はない。Rpv, 門脈抵抗; Rsinus, 類洞抵抗; Rhv, 肝静脈抵抗。<sup>a</sup>p<0.05 vs. 5ml/min, <sup>b</sup>p<0.05 vs 10ml/min; <sup>c</sup>p<0.05 vs. 15ml/min. (文献 28 から改変引用)

増加し、一方 Ppo と Phvo の圧較差は減少する。このことより類洞抵抗は流量依存性に減少し、門脈抵抗と肝静脈抵抗は血流量が変化しても一定であった。この流量増加時の類洞抵抗の減少は類洞血管の recruitment あるいは distension によるものと考えられる<sup>28)</sup>。

なお、Ppo と Phvo はそれぞれ門脈と肝静脈を単独で閉塞して求まるが、図 2C に示すように流出

入側を同時閉塞する double occlusion 時の Ppv と Phv を同様に指数関数回復の解析をすると、Ppo と Phvo の推定値がそれぞれ Ppo-do, Phvo-do として求まる<sup>28)</sup>。薬物投与時などに圧が時々刻々と変化するようなときにも一回の閉塞操作で Ppo と Phvo が求まり、様々な肝循環病態解析に応用できる。

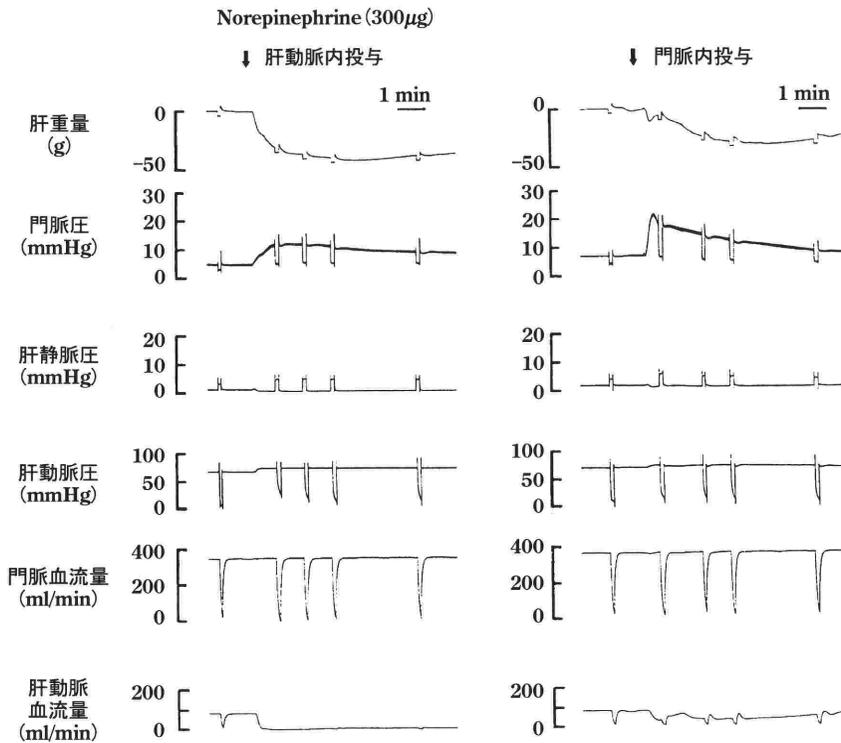


図4 イヌ摘出灌流肝に Norepinephrine 300 $\mu$ g を肝動脈内(HA)と門脈内(PV)に投与したときの反応

Norepinephrine 投与後、門脈圧上昇に比べて Triple vascular occlusion pressure の増加が少なく、presinusoid の血管の収縮が優位であることが示唆される。肝重量が低下し、肝臓内血液量が減少している。(文献 17 から改変引用)

## 血管作動性物質の肝血管収縮部位

### A. Norepinephrine

Norepinephrine (NE) が肝血管収縮により肝内血液量を減少させることはよく知られ<sup>2,3,14,15,17,18,25,26,29</sup>、この作用は主として presinusoid の血管収縮によることがわかってきた<sup>12,14,15,17,18,25</sup>。図4 に図1A の方法で灌流したイヌ摘出肝の門脈内と肝動脈内に NE 300 $\mu$ g (5 $\mu$ M) を投与した例を示す<sup>17</sup>。肝動脈内投与では肝動脈血流量は著明に減少し、肝動脈収縮が生じた。また、Ppv は 8mmHg 上昇するも肝類洞圧を反映する Pto はわずか 2mmHg しか増加せず、Pto と Phv との圧較差の増加に対して Pto と Ppv との圧較差の増加は大きく、肝静脈より門脈が強く収縮している。肝重量は血管収縮とともに著明に低下し、肝内血液量が減少した。一方、門脈内投与でも Ppv と Pto の変化は肝動脈内投与と同様であり、肝動脈血流も軽度低下し、肝重量も減少した。Rhv の 2 倍の増加に対して、Rpv は 3.5 倍に、また Rha は肝動脈投与では 35 倍、門脈投与でも 3

～5 倍に増加し、presinusoid の血管抵抗の増加が優位である。肝重量は重量 100g あたり 25g の低下を認めた<sup>17</sup>。

ブタでも NE は presinusoid を優位に収縮する<sup>25</sup>。Kjekshus らは前述の *in vivo* での血管閉塞法により肝類洞圧を測定し、NE 0.5 $\mu$ g/kg/min の門脈内投与による Rpv の増加は Rhv の増加に比べて 2 倍大きいことを報告している。また、肝臓容積を超音波法により計測し、20%の減少を認めている<sup>25</sup>。

ウサギ摘出肝臓の門脈に NE 33 $\mu$ g (1 $\mu$ M) を投与すると Rpv は 2 倍に増加するが、Rhv には有意な変化は認めず、肝重量は 10g/100g 肝重量の低下を認めた<sup>18</sup>。麻酔下ウサギへの NE の門脈内注入でも肝静脈側抵抗の増加はあるものの門脈と肝類洞の血管抵抗増加が大きく、やはり肝臓容積が減少する<sup>14,15</sup>。さらにラット<sup>12,30</sup>、モルモット<sup>30</sup>、マウス<sup>31</sup>でも NE に対する反応は presinusoid 優位の血管収縮と肝容積あるいは肝重量の減少が認められる。

このような NE に対する肝血管反応は、運動時

や出血性ショック時などにみられる交感神経系の賦活により肝内血液が体循環系に放出される機序を説明するものであり、生命維持に不可欠な生体防御反応は多くの種に共通したものであることを示唆している。

一般的に肝血液量の調節は肝臓への血流量の変化ならびに流出圧である肝静脈圧あるいは下大静脈圧の変化に依存した肝血管の distending pressure の変化に基づく受動的機序と血管平滑筋の活動性に基づく能動的な機序よりなる<sup>15)</sup>。出血などの低血圧時には交感神経系の賦活により血液再分配が生じる。腎や皮膚とともに腹腔臓器の細動脈収縮が著明となり、門脈血流が低下する。その結果、肝類洞圧が低下し、受動的に肝類洞内血液量減少が生じ、それは肝内血液量の減少となる。一方、交感神経賦活時にはそのような肝外の受動的な機序に加えて、肝臓支配の交感神経終末から放出される NE の上述した能動的な肝血管収縮機序による肝内血液駆出が生じ、体循環への肝貯蔵血液の動員を確かなものに行っていると考えられる。NE の presinusoid 優位の血管収縮による肝内血液量の減少の詳細な機序については不明である。presinusoid である門脈細静脈の収縮が強くと生じれ

ば、その末梢の肝類洞血流量が減少し、結果として肝類洞圧の低下、肝類洞容積の低下となる。このような門脈細静脈の収縮が肝臓内で heterogeneous に生ずれば<sup>32,33)</sup> 全体としての門脈血流量は減少しなくとも肝重量の減少が説明できるものと考えられる。この presinusoid の血管収縮による肝内血液減少の機序解明は今後の検討課題である。

**B. Histamine**

Histamine (His) の肝血管作用はイヌでよく検討され、NE とは全く対照的に肝静脈を優位に収縮させて、肝鬱血、すなわち肝内血液量を増加させる<sup>17,22,34,35)</sup>。図5 にイヌ摘出灌流肝の門脈内に His 20 $\mu$ g を投与した例を示す<sup>17)</sup>。投与後1分には Ppv は 17mmHg 上昇し、Phv は軽度減少した。一方、Pto は投与前値の 5mmHg から 17.6mmHg に著明に増加し、Pto と Phv の圧較差が 16.4mmHg と投与前に比べて大きく増加したのに対して Pto と Ppv との圧較差は 7.9mmHg とその増加は小さかった。肝静脈が門脈より強く収縮していることを示す。血管抵抗は Rpv が 2.2 倍の増加に対して Rhv は 3.3 倍に増加した。肝重量は血管収縮とともに著明に増加した<sup>17)</sup>。この肝重量増加は肝静脈であ

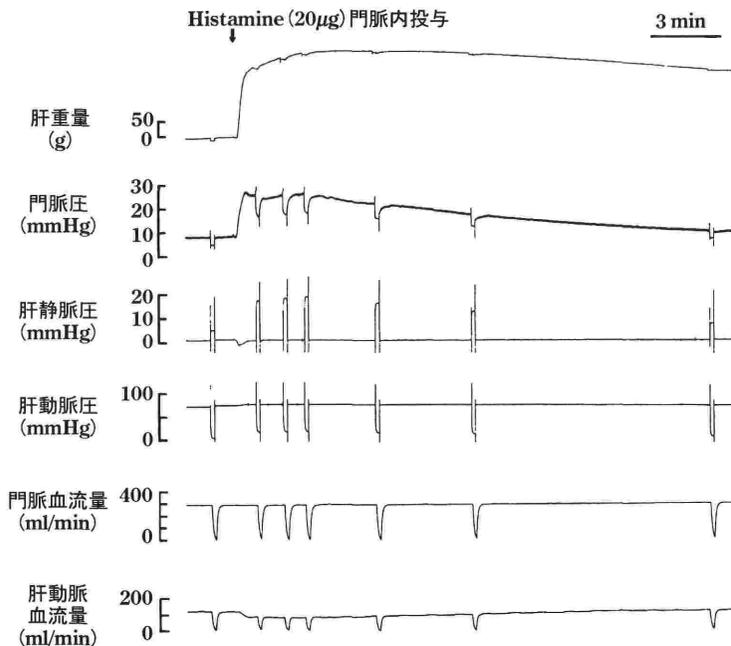


図5 イヌ摘出灌流肝に Histamine 20 $\mu$ g を門脈内に投与したときの反応

Histamine 投与後、門脈圧上昇とともに triple vascular occlusion pressure も大きく増加し、postsinusoid の血管の収縮が優位であることが示唆される。肝重量は増加し、肝臓内血液量が増加している。(文献 17 から改変引用)

る肝流出部の抵抗増大による distending pressure である肝類洞圧の上昇, そして肝類洞血管容積増大による受動的なものである. さらに, 肝類洞圧上昇による血管外への体液濾過の増加も関与している.

このような His に反応して収縮するイヌの肝静脈部位は小葉下静脈であり, そこに局在する平滑筋層であることが知られている. ほとんどの種は小葉下静脈には血管平滑筋は存在しないが, イヌ, アザラシ, 水陸両棲のビーバー, カワウソなどには認められる<sup>36)</sup>. この血管平滑筋の生理学的意義は不明であるが, His 以外にも phenobarbital, トロンボキサン A<sub>2</sub><sup>22)</sup>, 血小板活性化因子<sup>37)</sup>, endothelin-1<sup>38)</sup>などが収縮を惹き起こす.

His に対する反応には著しい種差が存在する. モルモットは肝静脈側優位の血管収縮と肝重量増加反応を示すが<sup>31)</sup>, ネコ<sup>30)</sup>とラット<sup>31,39)</sup>には His の血管収縮反応はみられない. ウサギでは Rothe ら<sup>14)</sup>は肝静脈収縮を起こし, 肝臓の厚みを 3.7%増加させるとしているが, 我々は選択的な門脈側の血管収縮を報告している<sup>18)</sup>. また, マウスでは His は門脈側を優位に収縮させる<sup>31)</sup>.

### C. Endothelin

Endothelin (ET) は血管内皮細胞由来の血管収縮性のペプチドであるが, 肝血管も収縮させ, エンドトキシン肝障害, 肝虚血再灌流障害, 肝硬変などの病態への関与が考えられている. ET の肝血管収縮部位についてもいくつかの報告がある.

Rothe らは麻酔下ウサギにおいてマイクロピペット法により ET-1 は Ppv と P $\mu$ hv の上昇, 門脈血流の低下を惹起し, presinusoidal portal venule だけでなく, postsinusoid の血管も収縮させると報告している<sup>15)</sup>. しかし, 我々は門脈だけから灌流するウサギ摘出肝において ET-1 (0.05~5 $\mu$ g) は presinusoid の血管を選択的に収縮させ, 肝重量の容量依存的な減少を認めている<sup>24)</sup>. この選択的な presinusoid の収縮は逆方向灌流肝への ET-1 投与でも認められ, Pdo の上昇とともに流出側の門脈収縮による肝鬱血のために肝重量は増加した<sup>24)</sup>.

イヌの肝血管鑄型の形態学的検討では ET-1 (1 $\mu$ g/kg) は 100~250 $\mu$ m の小葉下静脈の平滑筋を収縮させるが, ET-3 はそれを弛緩させることが報告されている<sup>38)</sup>.

ラットでは ET-1 の肝血管作用について肝微小血管圧測定はなされておらず, 顕微鏡下の肝類洞血管の観察の報告がある. Zhang ら<sup>40)</sup>はラットの摘出灌流肝臓で星細胞の存在部位に一致する肝類洞の収縮を認め, ET-1 (1nM) が星細胞を収縮させて肝類洞抵抗を調節していることを示唆した. 星細胞は Disse 腔に存在し, その肝類洞壁の周りを取り巻く細胞突起の収縮により肝類洞径を縮小する可能性がある<sup>41)</sup>. しかし, 星細胞の ET-1 に対する収縮性<sup>41)</sup>については異論もあり, ET-1 に対して収縮性が認められた培養星細胞は肝組織から分離後, 数日経たもので自然に myofibroblast の性質を獲得しており, 正常肝臓から採取した新鮮な星細胞は収縮反応を示さないとの報告がある<sup>42)</sup>. 一方, Kaneda ら<sup>43)</sup>は 1nmol/l ET-1 をラット門脈に注入し血管収縮部位を光顕的ならびに超微形態学的に検討し, 40~80 $\mu$ m 径の preterminal portal venule の遠位部の選択的な収縮, すなわち presinusoid の血管の選択的な収縮を認めた. それらの血管の中には収縮が強く血管腔が閉塞しているものも認められた.

## 肝血管閉塞法の肝循環障害の病態生理解明への応用

### A. 肝虚血再灌流障害

肝臓移植や肝臓外科手術時に肝血流を一時的に遮断した後に再開通すると急性の虚血再灌流肝傷害が生ずる. その細胞傷害メカニズムについては再灌流時に発生する活性酸素の関与が指摘されている<sup>44)</sup>. しかしながら, 血行力学的な効果については十分な検討はなされていなかった. 我々は肝動脈と門脈から灌流するラット摘出肝において Pto を測定し, 肝虚血再灌流傷害時の肝腫大に対する肝類洞圧の役割を明らかにした<sup>16)</sup>. 図6にその1実験例を示す. 灌流を1時間停止した後に再開すると肝重量はその直後と1時間後にピークを示す2峰性の増加を示した. 再灌流後に Ppv は著明に上昇し, Pto も虚血前より上昇した. そして, Ppv と Pto との圧較差は著しく増加したが, Pto と Phv との圧較差も増加した. すなわち, Rpv の3倍の増加に対して, Rhv も2倍に増加した. なお, これらの圧の変化は再灌流後1時間にはほぼ虚血前値に復した. 再灌流直後の肝重量のピーク値と

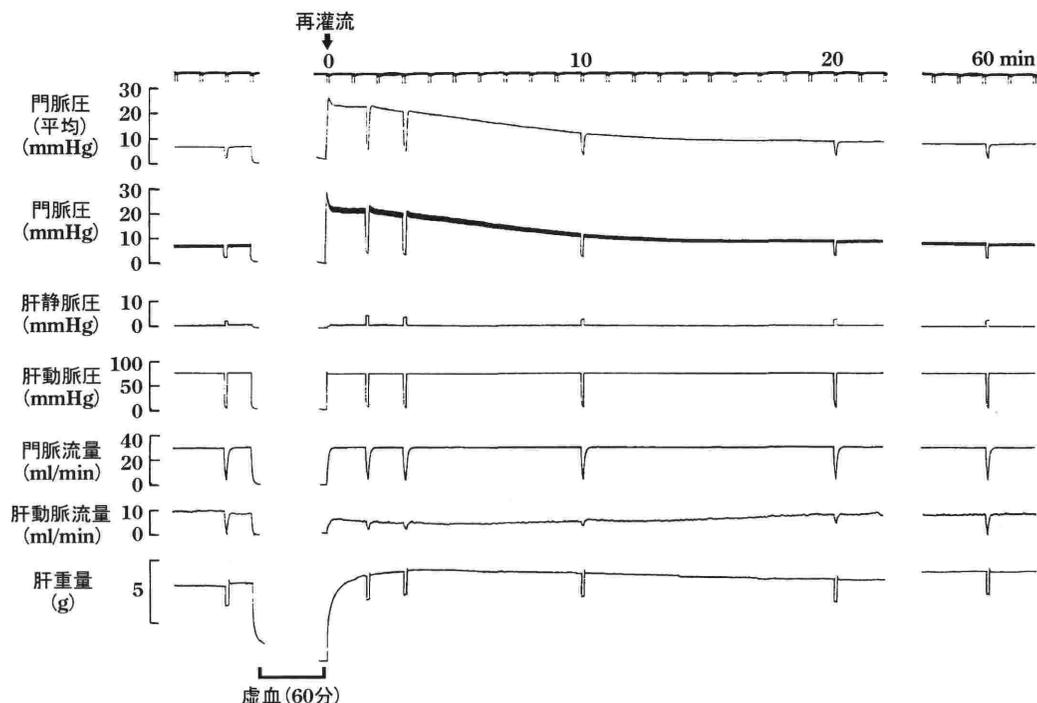


図6 ラット摘出灌流肝を1時間の虚血の後に再灌流した時の典型例

灌流方法は図1aと同じであるが血液は5% CO<sub>2</sub>, 95% O<sub>2</sub>の混合ガスによりバブリングした。また、肝動脈は大動脈から腹腔動脈を介して灌流している。再灌流後、門脈圧上昇とともに Triple vascular occlusion pressureも増加した。肝重量は増加し、肝臓内血液量が増加している。(文献16から改変引用)

そのときの Pto 値の間には正の相関が認められ、初期の肝重量増加には肝静脈収縮による肝類洞圧の上昇が関与した。しかし、再灌流1時間後の肝重量増加時には Pto の増加はわずかで、この肝重量増加は Pto 以外の因子の関与、すなわち、肝細胞障害が考えられた<sup>44)</sup>。これらの結果は再灌流直後には肝静脈血管抵抗の増大によって血行力学的に肝腫大を来たすことを示唆するものである。

### B. 肝血管アナフィラキシー

アナフィラキシーショックの血圧低下には不整脈、循環血液量減少、心収縮力低下、肺高血圧の関与が指摘されている<sup>45)</sup>。アナフィラキシーショックの循環血液量の減少に関連して、Wagnerらはイヌのアナフィラキシーショックモデルにおいて静脈抵抗の増大が静脈還流量を減少させ、低血圧に関与していることを示した<sup>46)</sup>。実際にイヌにブタ蛔虫抗原を静脈内投与によりアナフィラキシーショックを起こすと静脈系である肝臓に顕著な鬱血が生じ、有効循環血液量が減少することはよく知られている。しかしながら、最近まで

アナフィラキシー反応で肝臓の静脈収縮を証明した報告はなかった。Yamaguchiらは雑種成犬の摘出灌流肝臓にブタ蛔虫抗原を投与することにより肝鬱血を来たす肝アナフィラキシーモデルを作成し、Pdoの測定から選択的に肝静脈が収縮することを初めて生理学的に明らかにした<sup>19)</sup>。しかしながら、イヌの肝静脈には前述したように発達した平滑筋が存在し、このアナフィラキシーの肝静脈収縮はイヌに特異的であり、他の種にはみられない可能性もある。そこで我々はモルモットに卵白アルブミン(1mg)を腹腔内に投与して、2週間後にその肝臓を摘出灌流し、アナフィラキシー血管収縮反応を検討した<sup>47)</sup>。図7にその1実験例を示す。ヘパリン化自家血液(Hct 8%)で定流量灌流(40ml/min)する灌流液内に卵白アルブミン0.1mgを投与すると、4~6分に血管収縮はpeakに達し、Pdoも投与前値の3.7±0.3cmH<sub>2</sub>Oから7.9±0.5cmH<sub>2</sub>Oに増加した。Rpvは3.8倍、Rhvは2.2倍に増加し、門脈側の血管収縮が優位ではあったが、肝静脈収縮も認められた。肝静脈の有意の収

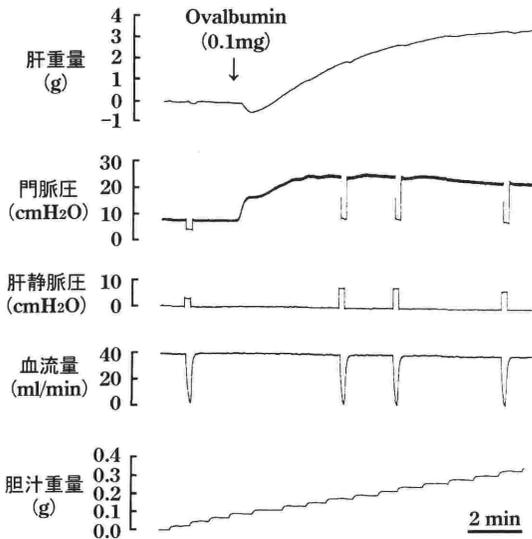


図7 卵白アルブミンで感作したモルモットの抽出灌流肝のアナフィラキシー反応の1例

肝動脈を結紮し門脈から定流量で灌流している。抗原である卵白アルブミン投与後、門脈圧上昇とともにdouble occlusion pressureも増加した。肝重量は増加し、肝臓内血液量が増加している。

縮により肝重量は増加し、抗原投与後10分に最大となり、肝重量10g当たり $2.4 \pm 0.8$ g増加した。このモルモットの肝アナフィラキシーもイヌのモデルに類似して肝静脈収縮により、肝鬱血を来たすことが判明した。なお、モルモット肝アナフィラキシーの責任物質を検討すると、ヒスタミン、セロトニン、ならびにトロンボキサンなどのシクロオキシゲナーゼ代謝物の関与は少なく、presinusoidの血管収縮は主として血小板活性化因子が関与し、postsinusoidの血管収縮にはロイコトリエンの関与が示唆されている<sup>48)</sup>。また、モルモット肝臓の血小板活性化因子に対する反応はアナフィラキシー反応に類似していた<sup>49)</sup>。

さらに、肝アナフィラキシーについて、ラットの肝臓において同様の検討を行うとほぼ選択的に近いpresinusoid優位の収縮により、肝重量減少がみられた<sup>50)</sup>。この肝重量の減少は肝内血液量の減少を示唆しており、ラットではイヌやモルモットと同じように門脈圧上昇により消化管血管床に鬱血を惹起し、循環血液量の減少に関与すると考えられるが、肝臓自体はモルモットやイヌと異なり、ほぼ選択的なpresinusoidの血管収縮により肝内貯蔵血液を循環血液に動員し、血圧低下に代償

的に働くことを示唆する成績と考えられる。しかしながら、アナフィラキシーショック時にヒトの肝血管は収縮するのか、もし収縮する場合にはpresinusoidの収縮が優位か、あるいはpostsinusoidの収縮が強く肝鬱血を来たすのかは不明であり、今後の検討を待たねばならない。

## 終わりに

肝類洞圧は従来から報告されていたように極端に門脈圧あるいは肝静脈圧に近似しているということではなく、動物の種差はあるものの、それらのほぼ中間値に近いことが近年のマイクロピペット法ならびに抽出灌流肝臓における血管閉塞法で明らかになってきた。しかしながら、これらの方法も多くの欠点がある。特に血管閉塞法では解剖学的にどの血管の圧を反映しているかの直接的な証明がない。今後は同一標本での血管閉塞法とマイクロピペット法の同時測定による比較検討も必要であろう。血管作動性物質の血管収縮部位については種差が著しいが、ノルエピネフリンに対する反応は多くの種でpresinusoidの血管を収縮させて肝内血液を駆出させることは特筆すべきである。

本研究は平成15年度金沢医科大学共同研究C2003-1と平成15年度科学研究費No.15591665の助成金によった。

## 文 献

- 1) Greenway CV, Lutt WW: Hepatic circulation. In: Handbook of Physiology. The Gastrointestinal System Motility and Circulation. sec. 6, vol. I, chap. 41, Bethesda, Am Physiol Soc 1989. p.1519-64.
- 2) Bennett TD, Rothe CF: Hepatic capacitance response to changes in flow and hepatic venous pressure in dogs. Am J Physiol 1981; 240: H18-28.
- 3) Greenway CV, Seaman KI, Innes IR: Norepinephrine on venous compliance and unstressed volume in cat liver. Am J Physiol 1985; 248: H468-76.
- 4) Conway JG, Popp JA, Thurman RG: Microcirculation in periportal and pericentral regions of lobule in perfused rat liver. Am J Physiol 1985; 249: G449-56.
- 5) Miller DL, Zanolli CS, Gumucio JJ: Quantitative morphology of the sinusoids of the hepatic acinus. Quantitative analysis of rat liver. Gastroenterology 1979; 76: 965-9.
- 6) Ohara N, Schaffner T, Reichen J: Structure-function relationship in secondary biliary cirrhosis in the rat.

- Stereologic and hemodynamic characterization of a model. *J Hepatol* 1993; 17: 155-62.
- 7) Nakata K, Leong GF, Brauer RW: Direct measurement of blood pressures in minute vessels of the liver. *Am J Physiol* 1960; 199: 1181-8.
  - 8) Shibayama Y, Nakata K: Localization of increased hepatic vascular resistance in liver cirrhosis. *Hepatology* 1985; 5: 643-8.
  - 9) Lauth WW, Greenway CV, Legare DJ: Effect of hepatic nerves, norepinephrine, angiotensin, and elevated central venous pressure on postsinusoidal resistance sites and intrahepatic pressures in cats. *Microvasc Res* 1987; 33: 50-61.
  - 10) Legare DJ, Lauth WW: Hepatic venous resistance site in the dog: localization and validation of intrahepatic pressure measurements. *Can J Physiol Pharmacol* 1987; 65: 352-9.
  - 11) Maass-Moreno R, Rothe CF: Contribution of the large hepatic veins to postsinusoidal vascular resistance. *Am J Physiol* 1992; 262: G14-22.
  - 12) Bohlen HG, Maass-Moreno R, Rothe CF: Hepatic venular pressures of rats, dogs, and rabbits. *Am J Physiol* 1991; 261: G539-47.
  - 13) Maass-Moreno R, Rothe CF: Distribution of pressure gradients along hepatic vasculature. *Am J Physiol* 1997; 272: H2826-32.
  - 14) Rothe CF, Maass-Moreno R: Hepatic venular resistance responses to norepinephrine, isoproterenol, adenosine, histamine, and ACh in rabbits. *Am J Physiol* 1998; 274: H777-85.
  - 15) Rothe CF, Maass-Moreno R: Active and passive liver microvascular responses from angiotensin, endothelin, norepinephrine, and vasopressin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: H1147-56.
  - 16) Ling YQ, Shibamoto T, Honda T, et al: Increased sinusoidal pressure is associated with early liver weight gain in ischemia-reperfusion injury in isolated perfused rat liver. *J Surg Res* 2000; 88: 70-7.
  - 17) Shibamoto T, Wang HG, Tanaka S, et al: Hepatic capillary pressure is estimated using triple vascular occlusion method in isolated canine liver. *Am J Physiol* 1996; 271: R1130-41.
  - 18) Shibamoto T, Wang HG, Miyahara T, et al: Presinusoidal vessels predominantly contract in response to norepinephrine, histamine, and KCl in rabbit liver. *J Appl Physiol* 1999; 87: 1404-12.
  - 19) Yamaguchi Y, Shibamoto T, Hayashi T, et al: Hepatic vascular response to anaphylaxis in isolated canine liver. *Am J Physiol* 1994; 267: R268-74.
  - 20) Guyton AC, Lindsey AW, Kaufman BN: Effect of mean circulatory filling pressure and other peripheral circulatory factors on cardiac output. *Am J Physiol* 1955; 180: 463-8.
  - 21) Rothe CF: Mean circulatory filling pressure: its meaning and measurement. *J Appl Physiol* 1993; 74: 499-509.
  - 22) Urayama H, Shibamoto T, Wang HG, et al: Thromboxane A<sub>2</sub> analogue contracts predominantly the hepatic veins in isolated canine liver. *Prostaglandins* 1996; 52: 483-95.
  - 23) Pappenheimer JR, Soto-Rivera A: Effective osmotic pressure of the plasma proteins and other quantities associated with the capillary circulation in the hindlimbs of cats and dogs. *Am J Physiol* 1948; 152: 471-91.
  - 24) Wang HG, Shibamoto T, Miyahara T: Endothelin-1 selectively contracts portal vein through both ETA and ETB receptors in isolated rabbit liver. *Am J Physiol* 1997; 273: G1036-43.
  - 25) Kjekshus H, Risoe C, Scholz T, et al: Methods for assessing hepatic distending pressure and changes in hepatic capacitance in pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: H1796-803.
  - 26) Kjekshus H, Risoe C, Scholz T, et al: Regulation of hepatic vascular volume: contributions from active and passive mechanisms during catecholamine and sodium nitroprusside infusion. *Circulation* 1997; 96: 4415-23.
  - 27) Hakim TS, Kelly S: Occlusion pressure vs. micropipette pressures in the pulmonary circulation. *J Appl Physiol* 1989; 67: 1277-85.
  - 28) Kamikado C, Shibamoto T, Hongo M, et al: Effects of Hct and norepinephrine on segmental vascular resistance distribution in isolated perfused rat livers. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H121-30.
  - 29) Greenway CV, Lauth WW: Effects of infusions of catecholamines, angiotensin, vasopressin and histamine on hepatic blood volume in anaesthetized cat. *Br J Pharmacol* 1972; 44: 177-84.
  - 30) Shibamoto T, Narushima M, Ling YQ, et al: Different hepatic vascular response to noradrenaline and histamine between guinea-pig and rat. *Acta Physiol Scand* 2004; 180: 255-63.
  - 31) Shibamoto T, Koyama S: Hepatic vascular response to norepinephrine and histamine in isolated-perfused mouse. *Jpn J Physiol* 2001; 51: S150.
  - 32) Beckh K, Otto R, Ji S, et al: Control of oxygen uptake, microcirculation and glucose release by circulating noradrenaline in perfused rat liver. *Biol Chem* 1985; 366: 671-8.
  - 33) Lenzen R, Funk A, Kolb-Bachofen V, et al: Norepinephrine-induced cholestasis in the isolated perfused rat liver is secondary to its hemodynamic effects. *Hepatology* 1990; 12: 314-21.
  - 34) Lauth WW, Legare DJ: Effect of histamine, norepinephrine, and nerves on vascular pressures in dog liver. *Am J Physiol* 1987; 252: G472-8.
  - 35) Mahfouz M, Aida G: Pharmacodynamic of intrahepatic circulation in shock. *Surgery* 1967; 61: 755-62.
  - 36) Ekataksin W, Kaneda K: Liver microvascular architecture

- ture: An insight into the pathophysiology of portal hypertension. *Semin Liver Dis* 1991; 19: 359-82.
- 37) Wang HG, Shibamoto T, Koyama S: Effect of platelet-activating factor on hepatic capillary pressure in isolated dog liver. *Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acid* 1997; 57: 293-8.
  - 38) Aharinejad S, Nourani F, Egerbacher M, et al: Sphincters of canine hepatic sublobular veins respond to endothelin-1 and 3. *Anat Embryol (Berl)* 1997; 196: 299-309.
  - 39) Hogestatt ED, Hammarstrom LE, Andersson KE, et al: Contractile effects of various vasoactive agents in small rat portal veins and hepatic arteries and the influence of sympathetic denervation on the noradrenaline response. *Acta Physiol Scand* 1986; 128: 309-15.
  - 40) Zhang JX, Bauer M, Clemens MG: Vessel- and target cell-specific actions of endothelin-1 and endothelin-3 in rat liver. *Am J Physiol* 1995; 269: G269-77.
  - 41) Kawada N, Tran-Thi T, Klein H, et al: The contraction of hepatic stellate (Ito) cells stimulated with vasoactive substances. Possible involvement of endothelin-1 and nitric oxide in the regulation of the sinusoidal tonus. *Eur J Biochem* 1993; 213: 815-23.
  - 42) Rockey DC, Housset CN, Friedman SL: Activation-dependent contractility of rat hepatic lipocyte in culture and in vivo. *J Clin Invest* 1993; 92: 1795-804.
  - 43) Kaneda K, Ekataksin W, Sogawa M, et al: Endothelin-1-induced vasoconstriction causes a significant increase in portal pressure of rat liver: localized constrictive effect on the distal segment of preterminal portal venules as revealed by light and electron microscopy and serial reconstruction. *Hepatology* 1998; 27: 735-47.
  - 44) Li C, Jackson RM: Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 282: C227-41.
  - 45) Brown AF: Anaphylactic shock: mechanism and treatment. *J Acci Emerg Med* 1995; 12: 89-100.
  - 46) Wagner EM, Mitzner WA, Bleecker ER: Peripheral circulatory alterations in canine anaphylactic shock. *Am J Physiol* 1986; 251: H934-40.
  - 47) Ruan Z, Shibamoto T, Shimo T, et al: NO, but not CO, attenuates anaphylaxis-induced postsinusoidal contraction and congestion in guinea pig liver. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286: R94-100.
  - 48) Shibamoto T, Ruan Z: Chemical mediators responsible for hepatic vascular anaphylaxis in guinea pig. *Jpn J Physiol* 2003; 53: S167.
  - 49) Ruan Z, Shibamoto T, Shimo T, et al: Effects of platelet-activating factor and thromboxane A<sub>2</sub> on isolated perfused-guinea pig liver. *Prostaglandins Other Lipid Mediators* 2004; 73: 73-85.
  - 50) Shimo T, Shibamoto T, Tsuchida H: Hepatic anaphylaxis in rat is characterized by predominant presinusoidal constriction and vascular volume loss, and is mediated mainly by mast cells. *Anesthesiology* 2003; 99: A732.