

長時間体内肝冷却灌流の有用性に関する実験的検討

中原 英 樹

広島大学医学部外科学第二講座 (主任: 土肥雪彦教授)

受付平成6年9月9日

受理平成6年9月28日

生体内において肝臓に流入する血行, 及び流出する血行をすべて遮断 (Hepatic Vascular Exclusion, 以下 HVE) し, さらに冷却された灌流液で灌流する肝冷却灌流法 (In-situ Hypothermic Perfusion) は, 門脈や下大静脈に浸潤するような腫瘍切除や血行再建を伴うような肝手術において出血を抑制し, 阻血中の肝の Viability も保つ方法として注目されている。しかし, HVE の安全性を検討した報告はきわめて少なく, その時間的な限界はあまり明確になっていない。そこで著者は, 豚を用いて, 60分, 120分, 180分の肝阻血を行い, HVE の有用性と限界を明らかにする目的で, 直腸・肝深部温度, 全身血行動態, 肝エネルギー代謝, 病理学的所見などから実験的検討を行った。

灌流液としては, 乳酸加リンゲル液 (lactated Ringer's solution, 以下 LR 液), University of Wisconsin solution (以下 UW 液) を用いた。

阻血中の肝深部温 (°C) は, 温阻血群において60分阻血 32.3 ± 1.1 , 120分阻血 36.2 ± 0.3 , 180分阻血 35.3 ± 2.6 と, 阻血前 (各々 33.9 ± 0.6 , 37.0 ± 0.6 , 36.2 ± 1.5) と比べ変化なかったが, 冷却灌流群では各群ともに20°C前後に低下した。再灌流後15分までにこれらはほぼ阻血前値まで回復した。一方, 直腸温 (°C) は冷却灌流群で再灌流後15分でやや低下した (60, 120, 180分の LR 灌流群で各々 33.7 ± 2.1 , 34.0 ± 1.9 , 33.6 ± 1.0 , 120, 180分の UW 灌流群で各々 35.5 ± 1.3 , 34.8 ± 0.8) が各群間に有意差を認めず, 実験の全経過を通じて安定していた。このことから本法により, 体温に影響を与えず, 体内で肝温度を下げる可能性が示された。

また全身血行動態についてみると, 120分までの阻血では動脈圧, 心拍出量, 平均肺動脈圧に各群間で差を認めず循環が安定していたのに対し, 180分阻血では UW 液を用いた冷却灌流群でのみ循環の安定が得られた。温阻血群では再灌流後120分までに全例が死亡, LR 灌流群でも再灌流後に血圧が低下した。全身血行動態の点からは, LR 液による灌流は120分までが限界で, それ以上の冷却灌流には UW 液を用いるなどの工夫が必要となる。

再灌流後の門脈血流量, 肝動脈血流量, 肝組織酸素飽和度は, 120分までの阻血において各群間に差はないが, 180分阻血では冷却灌流群で高値を示し, 温阻血群では回復しなかった。

エネルギー代謝の点からは, 60分の肝阻血では, 温阻血群と LR 液を用いた冷却灌流群において再灌流後120分の肝組織アデノシン三リン酸 (ATP) 値 ($\mu\text{mol/g wet wt.}$) の回復に有意差はなかった (2.04 ± 0.24 vs. 2.38 ± 0.19)。

120分の肝阻血では, 温阻血群において再灌流後120分で阻血前の ATP 値 (2.85 ± 0.60) の約55%までしか回復しなかった (1.58 ± 0.24) が, LR 液, UW 液を用いた冷却灌流群では阻血前値 (各々 2.83 ± 0.24 , 2.83 ± 0.33) の約75%まで回復し (各々 2.22 ± 0.19 , 2.00 ± 0.37), 有意に良好であった ($p < 0.05$)。しかし, 灌流液による差はなかった。

180分の肝阻血では, 温阻血群において再灌流後の肝組織 ATP は回復せず, 全例再灌流後120分以内に死亡した。LR 液による冷却灌流群でもその回復は阻血前値 (2.74 ± 0.26) の約50% (1.32 ± 0.36) にとどまったが, UW 液による冷却灌流では阻血前値 (2.53 ± 0.22) の約75% (1.92 ± 0.31) まで回復した ($p < 0.05$)。

温阻血群では阻血中のアデノシンリン酸 (AMP) の値 ($\mu\text{mol/g wet wt.}$) が低下し、阻血時間の延長によりその低下は著明となった (60, 120, 180分で各々 $1.19 \pm 0.37, 1.16 \pm 0.10, 0.79 \pm 0.30$)。一方、冷却灌流群では阻血180分でも高く (LR 灌流群: 1.65 ± 0.20 , UW 灌流群: 1.58 ± 0.17)、これが阻血中の肝組織アデニンスクレオチド総量を高く保ち、120分までの冷却灌流において灌流液の種類を問わず再灌流後の ATP の回復を促すものと考えられる。

病理組織学的に検索すると、光顕的には、冷却灌流群で阻血中その構造が比較的良好に保たれ再灌流後もあまり形態学的変化がなかったのに対し、温阻血群では阻血中から肝小葉内に出血があり、電顕的にも肝細胞の破壊、細胞内小器官の変性など障害が強かった。

以上の結果より、体内での物理的冷却法は肝阻血障害を軽減させる有効な手段であること、この方法による肝阻血の限界は120分までであることが判明した。それより長時間の肝阻血が要求される場合には、UW 液を用いるなど阻血中からの肝細胞保護が必要であることが明らかとなった。

Key words: 体内肝冷却灌流法, 肝組織アデニンスクレオチド, 長時間肝阻血, 虚血再灌流障害

臓器外科手術の進歩の歴史は、肝切除における出血に対するコントロール法の開発の繰り返しといっても過言ではない。門脈系、肝動脈系からの出血は、肝門部を一括して遮断するプリングル法の確立によりある程度解決された²³。しかし長時間の肝門部遮断は、肝組織の不可逆的な変化をもたらすのみならず、門脈うっ滞により全身循環へ悪影響を及ぼすため、実際の臨床では10~15分の血流遮断と5分間の血流再開の繰り返しにより行われている。しかし長時間の肝流入血行遮断が可能となれば、複数脈管への浸潤のある悪性腫瘍や下大静脈腫瘍栓を伴う症例に対しても安全で確実な切除が可能となり、その結果、予後の向上が期待できる。そこで長時間の肝流入血行遮断を安全に行うことが必要となってくる。これまでの報告から、肝流入血行の完全遮断により、肝の Viability は著明に低下することが明らかとなっている^{9,10}。しかし、虚血中の肝の Viability の低下を何らかの方法で軽減することが可能となれば、長時間の肝流入血行遮断が、安全で臨床的にも有用な方法として期待し得るものとなる。

これまで当科においても、板本による雑種成犬を用いた1時間の体内肝冷却灌流の研究⁶、また片山による豚を用いた閉塞性黄疸肝における1時間の体内肝冷却灌流の研究¹² など体内冷却灌流の安全性と臨床応用に向けての可能性について基礎的研究を重ね、1時間までの本法の有用性を示してきた。しかしながら、この体内冷却灌流法に伴う全身血行動態・肝血行動態の変化や、最長虚血時間に関してはまだ不明な点が多く、その安全限界に関しては明らかでない。今回、より安全な肝切除法の1つとしての肝血行遮断 (Hepatic vascular exclusion, 以下 HVE)、及び体内

冷却灌流法の確立をめざし、これらの点を明らかにする目的で以下の実験を行った。

対象及び方法

対象

実験動物は、体重 20 kg 前後の豚を用い、24時間絶食、自由飲水の条件で使用した。

麻酔方法

塩酸ケタミン 10 mg/kg、硫酸アトロピン 0.025 mg/kg を筋注し基礎麻酔とした。耳介静脈を 24 G エラスター針で確保し、チオペンタールナトリウム 15 mg/kg、スキサメトニウムクロライド 2 mg/kg を静注、気管内挿管後レスピレーターに接続し、N₂O 3 liters/min、O₂ 3 liters/min、エトレン 1%にて1回換気量15 ml/kg、呼吸回数12回/min の条件下に調節呼吸を行い、動脈血ガス分析により PaO₂120~150 mmHg になるように調節した。また実験中進行する代謝性アシドーシスに対しては、7%炭酸水素ナトリウムを虚血導入時より適宜点滴投与し、補正を行った。術中の筋弛緩は臭化パンクロニウムを適宜静脈内投与した。右頸静脈より 7 Fr シースを挿入、これから 5 Fr thermo-dilution catheter を肺動脈内に留置した。術中輸液には耳介静脈からは10%ブドウ糖溶液を 10 ml/kg/h で、右頸静脈に留置したシースからは乳酸加リンゲル液 (lactated Ringer's solution, 以下 LR 液) を 10 ml/kg/h で投与した。左大腿動脈に 20 G エラスターを挿入し動脈圧測定用トランスデューサーに接続、動脈圧を継続的にモニターした。直腸温はサーミスター端子を直腸内に挿入し連続モニターした。

手術方法

腹部正中切開により開腹、肝周囲の血行郭清を行っ

た。これにより、肝周囲の血行は門脈・肝動脈・肝部下大静脈・胆管傍血行以外はすべて遮断される。温阻血群では、脾門部にて脾動脈を結紮、脾静脈を剥離、テーピングし、続いて左大腿静脈、左頸静脈を剥離、左大腿静脈から 12 Fr カテーテルを下大静脈に、脾静脈から 12 Fr カテーテルを門脈本管に、左頸静脈に 14 Fr カテーテルを挿入し、Bio-pump® (Bio-console Bio-Medicus, Inc., Minneapolis Minnesota U.S.A.) に接続し、阻血中の門脈大循環系バイパスとし、総胆管、肝動脈、門脈、肝上部下大静脈、肝下部下大静脈の順に鉗子を用いて血行遮断した。冷却灌流群では、右大腿静脈を剥離、10 Fr 脱血用カテーテルを肝部下大静脈まで挿入、温阻血群と同様に、総胆管、肝動脈、門脈、肝上部下大静脈を鉗子で遮断、肝下部下大静脈は脱血用カテーテルが挿入されているためターニケットにて遮断し、肝動脈より 20 Fr エラスターを、門脈には遮断後にポリエチレンチューブを挿入、灌流液を滴下し肝を冷却した。灌流液には、LR 液、University of Wisconsin 液 (Belzer UW, Du Pont 社, 以下 UW 液) を使用した。バイオポンプ流量は 1000~1500 rpm にて 400 ml/min 以上に調節した。阻血終了後は、速やかにバイオポンプ内の血液を体内に戻し、その後2時間開腹したまま全身血行動態の測定、肝組織の採取を行った。終了時に右頸静脈より術後輸液、採血のためのカテーテルを挿入した (Fig. 1)。

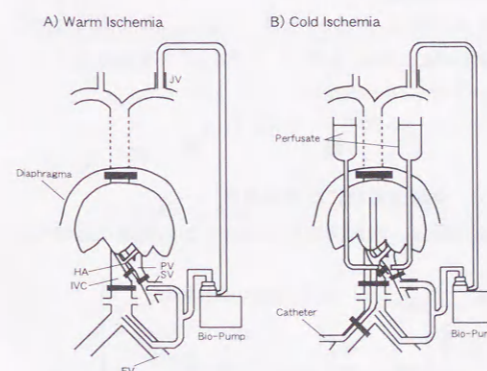


Fig. 1. Schematic diagrams of Hepatic Vascular Exclusion (HVE).

HVE was performed for 60, 120, 180 min with (B) and without (A) in situ cold perfusion. 4°C lactated Ringer's solution and University of Wisconsin (UW) solution were used as perfusates. HA: Hepatic Artery, PV: Portal Vein, IVC: Inferior Vena Cava, SV: Splenic Vein, FV: Femoral Vein, JV: Jugular Vein.

実験群

1) 60分阻血群

a) 温阻血群

HVE 60分 (n=5)を行った。

b) LR 冷却灌流群

HVE 60分に加え LR 液により冷却灌流 (n=5) を行った。灌流量は約 2000 ml とし、1 m の高さよりの自然滴下とした。

2) 120分阻血群

a) 温阻血群

HVE 120分 (n=5) を行った。

b) LR 冷却灌流群

HVE 120分に加え LR 液による冷却灌流 (n=5) を行った。灌流量は約 3000 ml とし、1 m の高さよりの自然滴下とした。

c) UW 液冷却灌流群

HVE 120分に加え UW 液による冷却灌流 (n=5) を行った。灌流液には初期灌流として LR 液 1000 ml を用い、続いて UW 液 1000 ml にて維持、灌流終了前に LR 液 1000 ml にて UW 液を洗い流した。

3) 180分阻血群

a) 温阻血群

HVE 180分 (n=5) を行った。

b) LR 冷却灌流群

HVE 180分に加え LR 液による冷却灌流 (n=5) を行った。灌流量は約 4000 ml とし、1 m の高さより自然滴下とした。

c) UW 液冷却灌流群

HVE 180分に加え UW 液による冷却灌流 (n=5) を行った。120分 UW 液灌流群と同様に、初期灌流として LR 液 1000 ml を用い、続いて UW 液 2000 ml にて維持、灌流終了前に LR 液 1000 ml にて UW 液を洗い流した。

測定項目

① 直腸温、肝深部温

肝の体内冷却が体温に与える影響を検討するため直腸温及び肝深部温度を測定した。

直腸温は直腸内に留置したサーミスター端子より持続モニタリングを行った。

肝深部温は、針型サーミスター及び温度計 (Model-MGA III 型温度計, 芝浦電子製作所) を用い、肝右葉内側区域のほぼ同一部位で表面より約 1 cm 深部で測定した。

② 血行動態

阻血中全群で Bio-pump® を用いた体外循環を行うため、これによる全身血行動態の変化、肝内の血流、

血流分布の変化をモニタリングした。

(1) 全身血行動態

大腿動脈圧, 心拍出量, 平均肺動脈圧に関して開腹時, 血流遮断前, 血流遮断中, 再灌流後15分, 30分, 60分, 120分に測定した。心拍出量・平均肺動脈圧は肺動脈内に留置した thermo-dilution catheter を用い測定した。

(2) 肝血行動態

門脈血流量・肝動脈血流量は門脈・肝動脈本幹に設置した超音波血流計 (2-Channel Ultrasonic Bloodflow Meter T201, Transonic Systems Inc.) を用い測定した。

肝組織酸素飽和度 (SaO₂) はパンオキシメータ (HSO-6, Allows Co.Ltd) を用いて肝左葉内側区域のほぼ同一部位で測定した。

(3) 肝組織エネルギー代謝

肝組織エネルギー代謝の指標としては, 組織アデニンヌクレオチドを以下の時期に高速液体クロマトグラフィーにより測定した²⁶。開腹時, 血流遮断前, 阻血終了時, 再灌流後30分, 60分, 120分に肝組織を約 3 g 採取, 直ちに液体窒素により凍結後, 液体窒素中で保存し, 後の測定に供した。

採取した組織約 0.5 g に, 10%トリクロロ酢酸 (以下 TCA) 液 10 ml を加えポリトロン[®]にて破碎した後遠沈 (25000 g, 10分間, 0℃), 上清を分離後, 沈澱に再び10% TCA 液 10 ml を加え同様の操作により, 上清を分離した。この2回の上清を混ぜ合わせ組織抽出液とした。これに4倍量のジエチルエーテルを加え TCA を抽出除去した。測定はリクロルソルブ NH₂ カラムを使用し, UVIDEC-100-V UV spectrophotometer (JASCO) により波長 254 nm で分光学的に, 組織アデノシンリン酸 (以下 AMP), アデノシンニリン酸 (以下 ADP), アデノシン三リン酸 (以下 ATP) を同時測定し, これらの総和であ

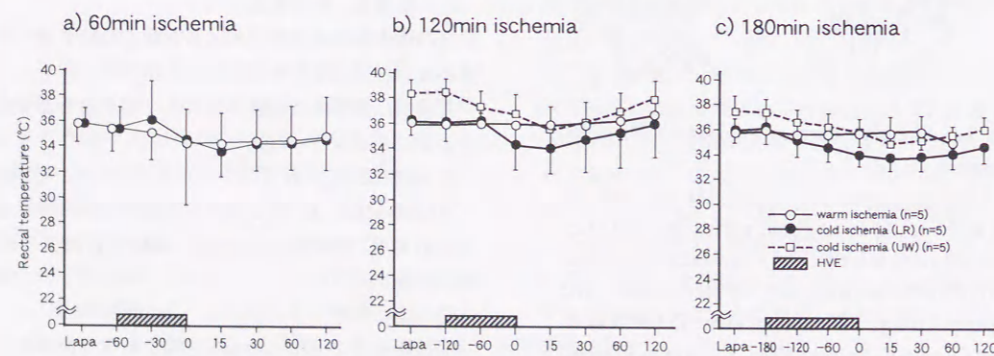


Fig. 2. Changes of Rectal Temperature during and after HVE.

るアデニンヌクレオチド総量 (以下 TAN) を計算により求めた。

(4) 肝機能検査

肝機能検査の指標として血清 Glutamic oxaloacetic Transaminase (以下 S-GOT), Lactate dehydrogenase (以下 LDH) を, 開腹時, 再灌流後120分に留置した大腿動脈圧測定用エラストマーより採血し測定した。

(5) 病理組織学的検索

肝組織は開腹時, 阻血終了時, 再灌流後120分 (180分温阻血群では再灌流後120分以内に全例死亡したため再灌流後60分) に採取し以下の方法で処理し病理組織学的に検討した。採取した肝組織を2.0%パラホルムアルデヒド, CaCl₂, MgCl₂ (1 mM) 加 0.1 M Na-カコジル酸緩衝液 10 ml に浸し, 家庭用電子レンジ (サンヨー製) を用いて20秒間 microwave 照射を行った⁷⁾。照射後, 光顕用には10%緩衝ホルマリンで1昼夜浸漬後固定し, 型のごとくパラフィン包埋後, ヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色を行った。180分阻血群では電顕の観察も行った。2.5%グルタルアルデヒド (リン酸緩衝液で pH7.4 に調節: 4℃, 2時間以上), さらにリン酸緩衝液で洗浄後1%オスミウム酸 (4℃, 1時間) で後固定した。脱水後, Epon 812 で包埋し, 超薄切片を作成し, 酢酸ウラン/クエン酸鉛で二重染色し, 日立製 H-800 を用いて観察した。

統計学的処理

各測定値は Mean±S.D. で示し, 有意差検定には Student's t test を用い, 5%以下を有意差ありとした。

結 果

① 直腸温並びに肝深部温度

直腸温は, 冷却灌流群で阻血中から再灌流直後にか

けてやや低下する傾向にあったが, それぞれ60分, 120分, 180分の阻血時間で各群間に有意差はなかった (Fig. 2)。

肝深部温度 (°C) は, 60分阻血では阻血終了時, 温阻血群の32.3±1.1と比べて, 冷却灌流群では17.3±1.6と有意に低下していた (p<0.01) が再灌流後の回復は良好であった。120分阻血でも同様に, 温阻血群の阻血終了時の36.2±0.3に比べ, LR 灌流群及び UW 灌流群では各々20.9±2.2, 23.4±0.8と有意に低下していた (p<0.01) が, 再灌流後の回復は比較的速度やかであった。180分阻血でも冷却灌流群では阻血中温阻血群と比較し有意 (p<0.01) な肝深部温度の低下が確認された (Fig. 3)。

(2) 血行動態

(1) 全身血行動態

動脈圧 (mmHg) は60分, 120分, 180分の各阻血において, 阻血終了時まで各群間に有意差はなかったが, 阻血導入時と比較すると終了時に軽度低下する傾向が

みられた。再灌流後も60分, 120分阻血では各群間に有意差はなかったが, 180分阻血では温阻血群, LR 灌流群で急激な低下を示した (再灌流後15分で各々49.7±14.6, 62.0±7.8)。一方, UW 灌流群では再灌流後15分103.0±9.7でこれら2群と比較し有意に高く保たれた (p<0.01) (Fig. 4)。

心拍出量 (ml/min/kg Body Wt.) も, 動脈圧と同様に阻血導入により低下する傾向がみられたが, 60分, 120分阻血では各群間に有意差はなかった。180分阻血では阻血終了時まで各群間に差はなかったが, 温阻血群, LR 灌流群では再灌流後低下する傾向がみられたのに対し, UW 灌流群では改善傾向があり, 再灌流後120分では, LR 灌流群 (48.7±1.0) より UW 灌流群 (72.7±9.2) で有意に高値であった (p<0.01) (Fig. 5)。

平均肺動脈圧は60分, 120分, 180分阻血において各群間に有意差はなく, Bio-pump[®] による肺動脈圧の上昇はなかった (Fig. 6)。

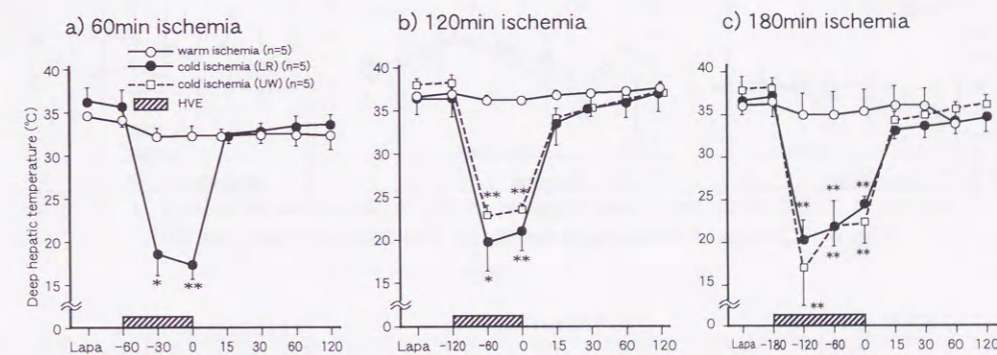


Fig. 3. Changes of Deep Hepatic Temperature During and after HVE.

*p<0.05, **p<0.01 vs. warm ischemia group

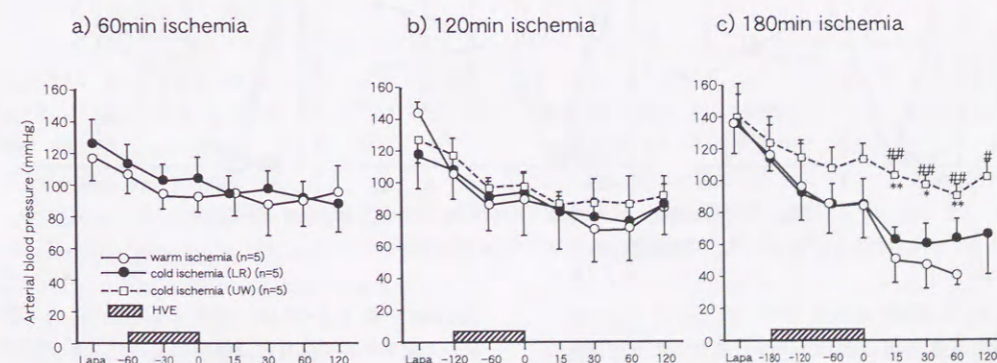


Fig. 4. Changes of arterial Blood Pressure during and after HVE.

*p<0.05, **p<0.01 vs. warm ischemia group

#p<0.05, ##p<0.01 vs. LR perfusion group

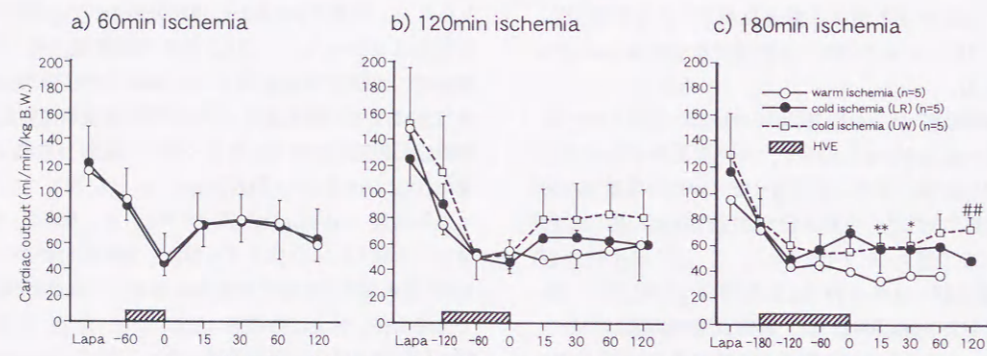


Fig. 5. Changes of Cardiac Output during and after HVE.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. warm ischemia group
$p < 0.01$ vs. LR perfusion group

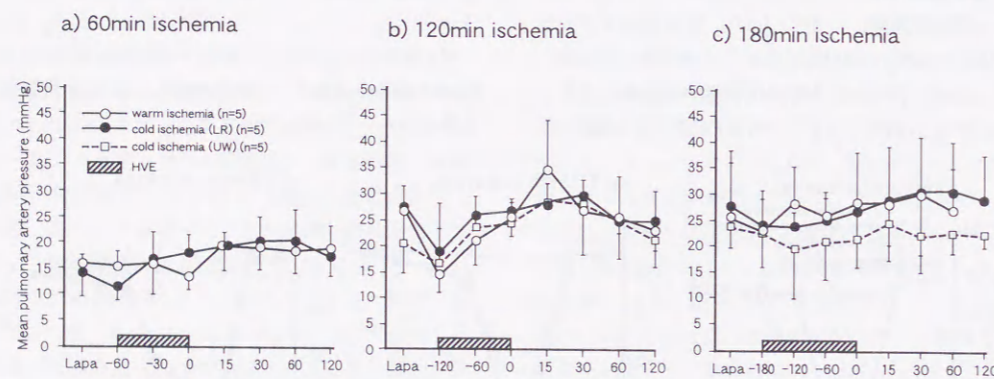


Fig. 6. Changes of Mean Pulmonary Artery Pressure during and after HVE.

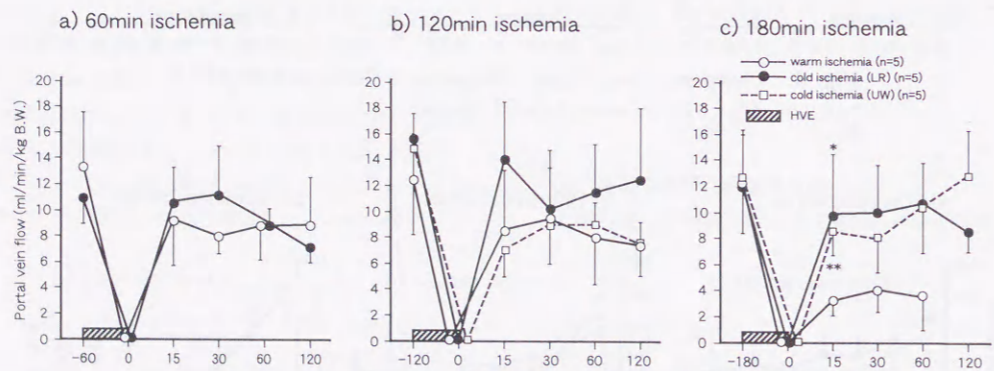


Fig. 7. Changes of Portal Vein Flow during and after HVE.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. warm ischemia group

(2) 肝血行動態

門脈血流量 (ml/min/kg Body Wt.) は60分阻血, 120分阻血で各群間に有意差はなかった。180分阻血では再灌流後15分で温阻血群 3.3 ± 1.2 に対し, LR灌流群 10.0 ± 4.5 , UW灌流群 8.6 ± 1.9 と冷却灌流群で有

意に高く (各々 $p < 0.05, 0.01$), その後もこの2群において全体に高く保たれる傾向にあった。LR灌流群, UW灌流群の間には有意差はなかった (Fig. 7)。

肝動脈血流量も門脈血流量と同様に60分, 120分阻血で各群間に有意差はなかった。180分阻血では温阻

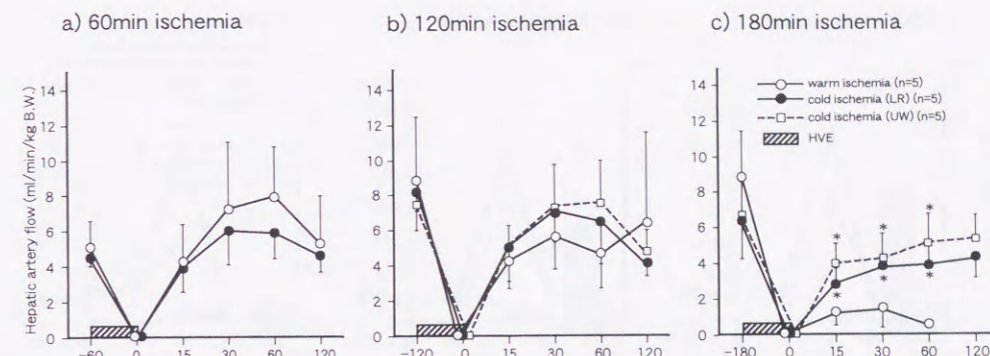
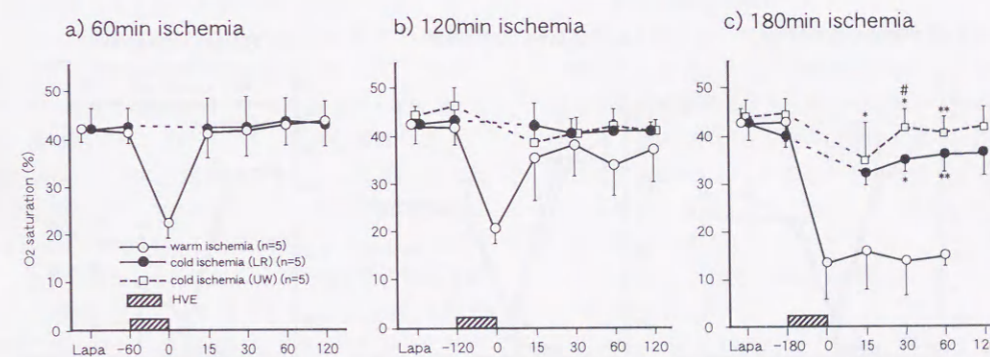


Fig. 8. Changes of Hepatic Artery Flow during and after HVE.

* $p < 0.05$ vs. warm ischemia group

Fig. 9. Changes of Liver O₂ Saturation during and after HVE.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. warm ischemia group

$p < 0.05$ vs. LR perfusion group

血群と比較し, 冷却灌流群で再灌流後有意に高く保たれた ($p < 0.05$) が, LR灌流群, UW灌流群の間には有意差はなかった (Fig. 8)。

肝組織酸素飽和度 (%) は, 60分, 120分阻血では温阻血群でも再灌流後に回復がみられた。しかし, 180分阻血では温阻血群においては回復はみられず, 再灌流後120分で, LR灌流群は 36.2 ± 0.4 (阻血前 39.8 ± 2.3), UW灌流群は 41.8 ± 4.1 (同 44.6 ± 3.3) と両群ともに良好な回復を示した (Fig. 9)。

③ 肝組織エネルギー代謝

60分, 120分, 180分温阻血群の阻血終了時の肝組織AMP ($\mu\text{mol/g Wet Wt.}$) はそれぞれ 1.19 ± 0.37 , 1.16 ± 0.10 , 0.79 ± 0.30 で, 阻血時間の延長にともない低下する傾向がみられた。しかし, LR灌流群では, 各々 1.79 ± 0.41 , 1.65 ± 0.34 , 1.65 ± 0.20 , また120分, 180分UW灌流群での阻血終了時のAMPは各々 1.50 ± 0.25 , 1.58 ± 0.17 となった。このように, 冷却灌流群では阻血時間による変化はなく, また, 120

分, 180分阻血では温阻血群と比較して有意に高く保たれた (それぞれ $p < 0.05, 0.01$)。しかし, LR灌流群, UW灌流群の間には有意差はなかった。また阻血前, 再灌流後のAMPに関しては各群間に有意差はなかった (Fig. 10)。

阻血前の肝組織ATP ($\mu\text{mol/g Wet Wt.}$) は, 各群ともに $2.7 \sim 2.8$ で, これらは阻血時間, 阻血法を問わず阻血終了時には 0.5 前後に低下した。60分阻血では, 再灌流後120分で温阻血群 2.04 ± 0.24 , LR灌流群 2.38 ± 0.19 と両群で回復がみられ, これらの間に差はなかった。120分阻血では各群ともに回復はみられたが, 再灌流後120分で, 温阻血群は 1.58 ± 0.24 と阻血前値の58%までしか回復しなかったのに対し, LR灌流群では 2.22 ± 0.19 , UW灌流群では 2.00 ± 0.37 と阻血前値の70%以上に回復し, 冷却灌流群で有意に高値であった。しかしこのLR灌流群, UW灌流群の2群間には有意差はなかった。180分阻血では, 温阻血群ではもはや回復はみられなかった (再灌流60分で

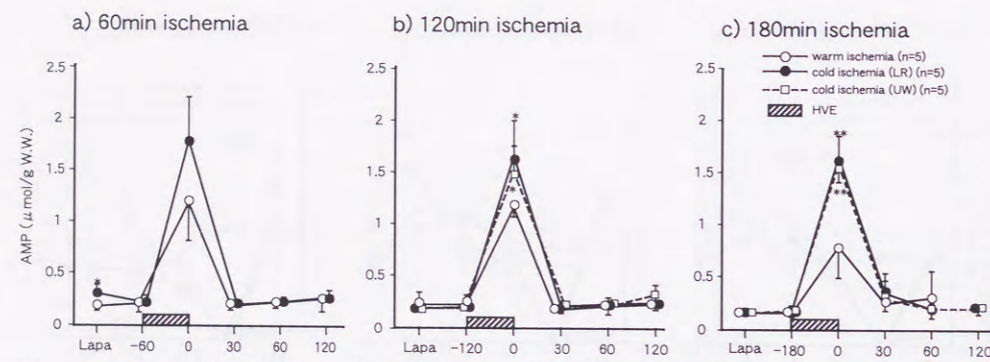


Fig. 10. Changes in the levels of Adenosine Monophosphate (AMP) in liver tissue during and after HVE.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. warm ischemia group

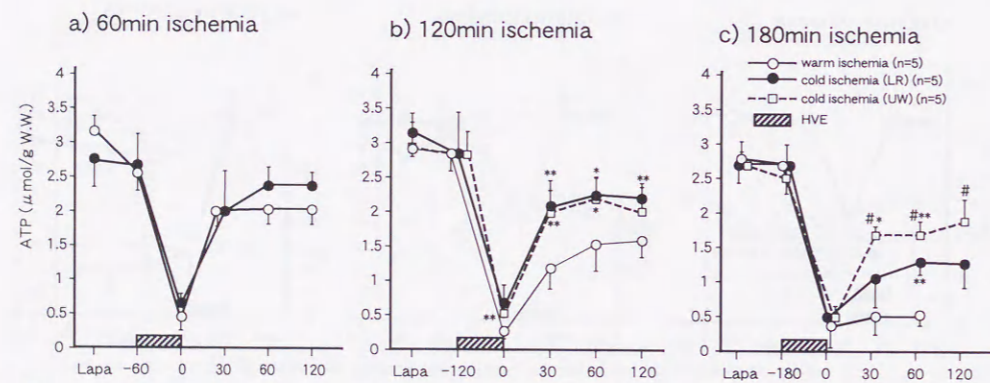


Fig. 11. Changes in the levels of Adenosine Triphosphate (ATP) in liver tissue during and after HVE.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. warm ischemia group

$p < 0.05$ vs. LR perfusion group

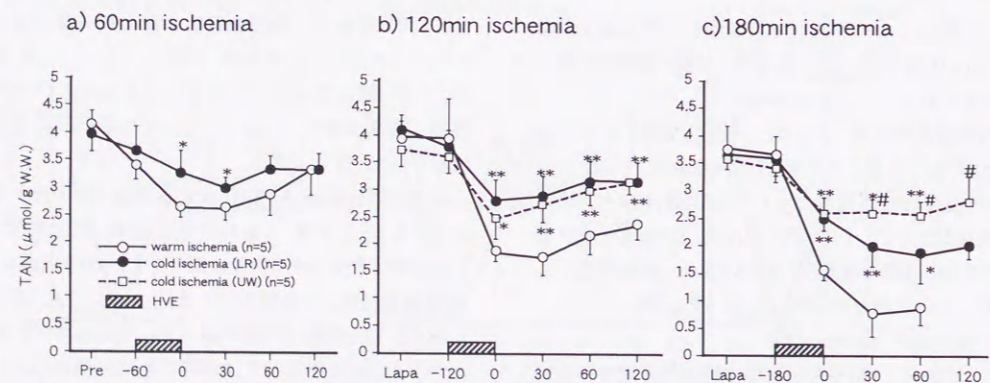


Fig. 12. Changes in the levels of Total Adenine Nucleotide (TAN) in liver tissue during and after HVE.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. warm ischemia group

$p < 0.05$ vs. LR perfusion group

0.58 ± 0.14). 一方, LR 灌流群では回復は認められ
たが再灌流後120分で 1.32 ± 0.36 (阻血前値の49%)

であったのに対し, UW 灌流群では 1.92 ± 0.31 (阻
血前値の76%)と, LR 灌流群と比較して有意に良好

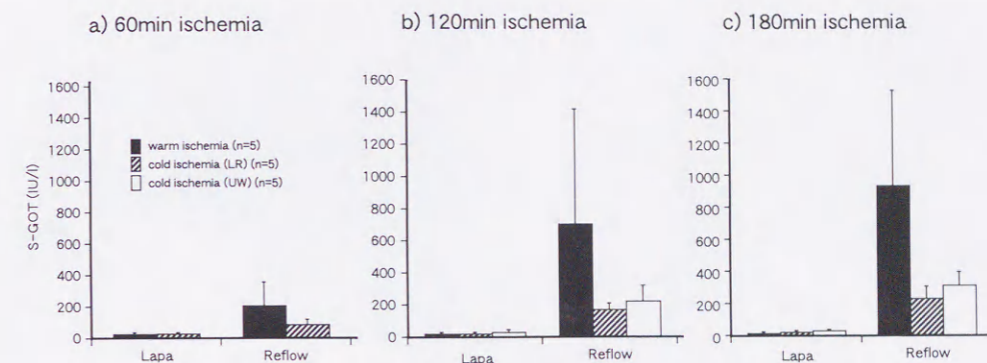


Fig. 13. Changes in the levels of S-GOT before and after HVE.

な回復を示した ($p < 0.05$) (Fig. 11)。

これらの総量である TAN ($\mu\text{mol/g Wet Wt.}$)は、
阻血中より冷却灌流群で高い傾向があった。つまり、
60分温阻血群では阻血中 2.62 ± 0.17 であったのに対し、
LR 灌流群では 3.28 ± 0.39 と有意に高値であった
($p < 0.05$)。同様に再灌流後30分でも LR 灌流群で有
意に高値を示した ($p < 0.05$) が、再灌流後120分では
温阻血群 3.30 ± 0.44 , LR 灌流群 3.34 ± 0.30 と差はな
かった。同様に120分阻血において阻血終了時の温阻
血群の TAN は 1.83 ± 0.14 であったのに対し, LR 灌
流群では 2.81 ± 0.38 , UW 灌流群では 2.46 ± 0.35 と
有意に高値であった (各々 $p < 0.01, 0.05$)。再灌流後
も冷却灌流を行った両群では全経過を通じて有意に高
値であった (ともに $p < 0.01$) が、灌流液による差は
なかった。180分阻血でも、温阻血群では阻血終了時
の TAN は 1.52 ± 0.12 であったのに対し, LR 灌流群
では 2.55 ± 0.27 , UW 灌流群では 2.61 ± 0.28 と有
意に高値を示した (ともに $p < 0.01$)。しかしながら、120
分阻血と異なり、温阻血群, LR 灌流群では再灌流後
30分で、各々 $0.78 \pm 0.41, 1.99 \pm 0.35$ と阻血中よりさ
らに低下がみられ、これは UW 群の 2.62 ± 0.24 と比
べ有意に低かった (ともに $p < 0.05$)。UW 群では再
灌流後120分でも 2.83 ± 0.44 と阻血前値の82%まで回
復したのに対し, LR 灌流群では 2.01 ± 0.25 (56%)
と回復がみられなかった。温阻血群は再灌流後120分
以内に全例死亡したため測定できなかった (Fig. 12)。

④ 肝機能検査

再灌流後120分 (180分温阻血群では再灌流後60
分), S-GOT は温阻血群で高い傾向がみられ、有意
差はなかったが阻血時間が長いほど高くなる傾向があ
った。一方, LR 灌流群, UW 灌流群ではいずれも
低値であった (Fig. 13)。LDH も同様の結果を示し
た。

⑤ 病理組織学的検討

いずれの群においても開腹時生検標本の顕微鏡所見及
び電顕所見を対象とした。開腹時標本では、光顕的
には肝小葉の基本構造はよく保たれており (Photo. 1),
グリソン鞘に浮腫はなく、炎症細胞浸潤は軽微であ
った。また電顕的には、肝細胞のミトコンドリアの微細
構造が明瞭に観察され、グリコーゲン顆粒は豊富であ
った (Photo. 2)。

以下、60分、120分、180分阻血群について述べる。

(1) 60分阻血群

阻血終了時には肝細胞の一部に小空胞状変性が見
だされたが、温阻血群と LR 灌流群で明らかな差は
見いだされなかった (Photo. 3a, 3b)。再灌流後には、
グリソン鞘の軽度な浮腫と多核白血球浸潤が、肝小葉
には明らかならう血ないし出血があり、多核白血球が
種々の程度に浸潤していた。また、主として小葉中心
性に小空胞状変性あるいは肝細胞の単細胞壊死が散見
された。巣状壊死はなかった。こうした変化は温阻血
群で強い傾向があったが (Photo. 4a, 4b), 肝細胞変

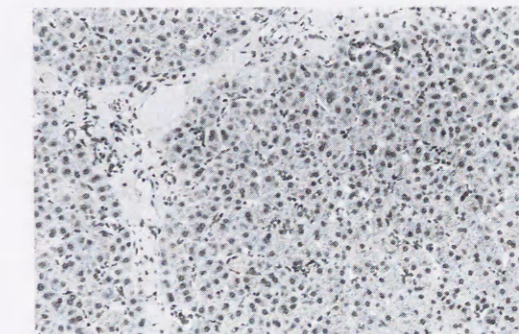


Photo. 1. Light microscopic appearance of pig
liver soon after laparotomy.
H. E. staining, $\times 180$

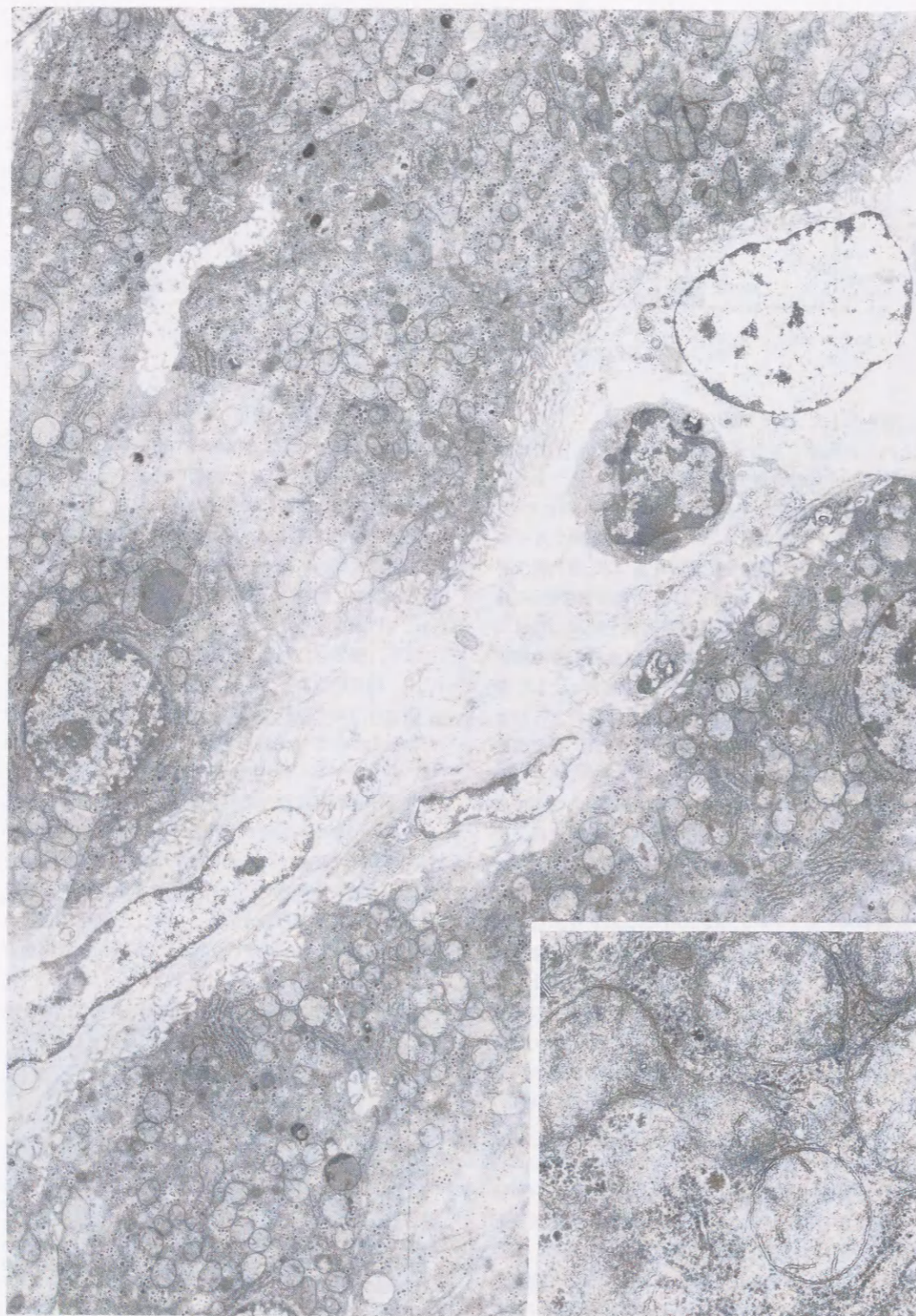
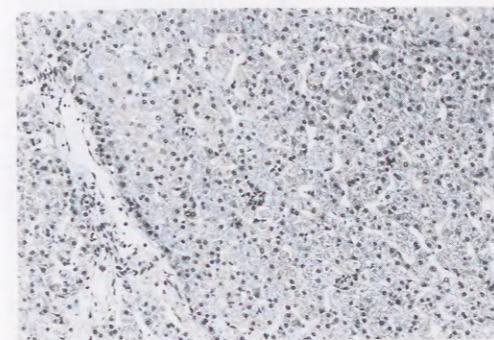
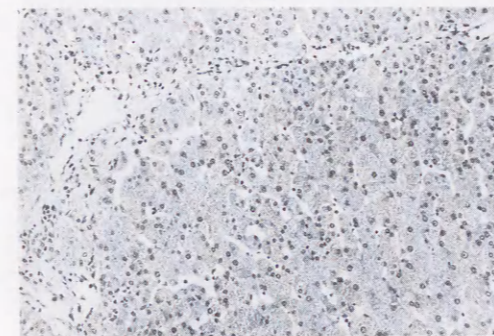


Photo. 2. Electron microscopic appearance of pig liver soon after laparotomy. $\times 2200$ and $\times 24500$ (insert of right lower position)

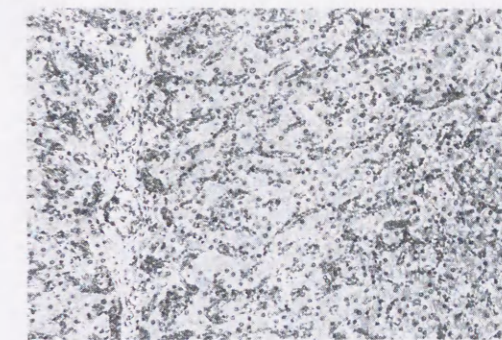


(a)

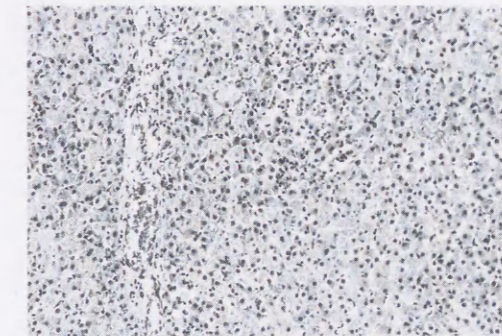


(b)

Photo. 3. Light microscopic appearance of pig liver with ischemia for 60 min. Immediately after warm ischemia (a) and cold ischemia using LR solution (b). (a) and (b) H. E. staining, $\times 180$



(a)



(b)

Photo. 4. Light microscopic appearance of pig liver immediately after ischemia for 60 min, followed by reperfusion for 120 min. Warm ischemia (a) and cold ischemia using LR solution (b). (a) and (b) H. E. staining, $\times 180$

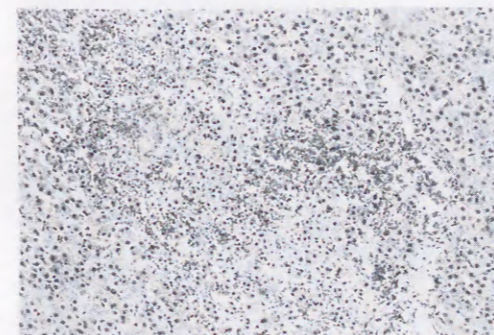


Photo. 5. Light microscopic appearance of pig liver with warm ischemia for 120 min, followed by reperfusion for 120 min. Note massive recent hemorrhage with zonal liver cell necrosis. H. E. staining, $\times 180$

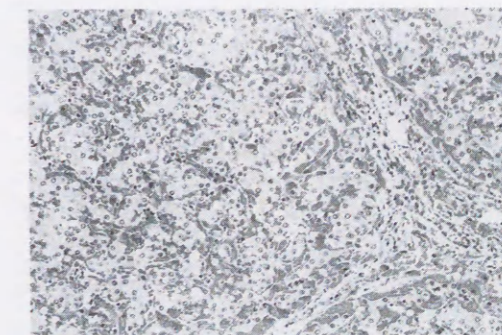


Photo. 6. Light microscopic appearance of pig liver immediately after warm ischemia for 180 min. Note massive recent hemorrhage. H. E. staining, $\times 180$

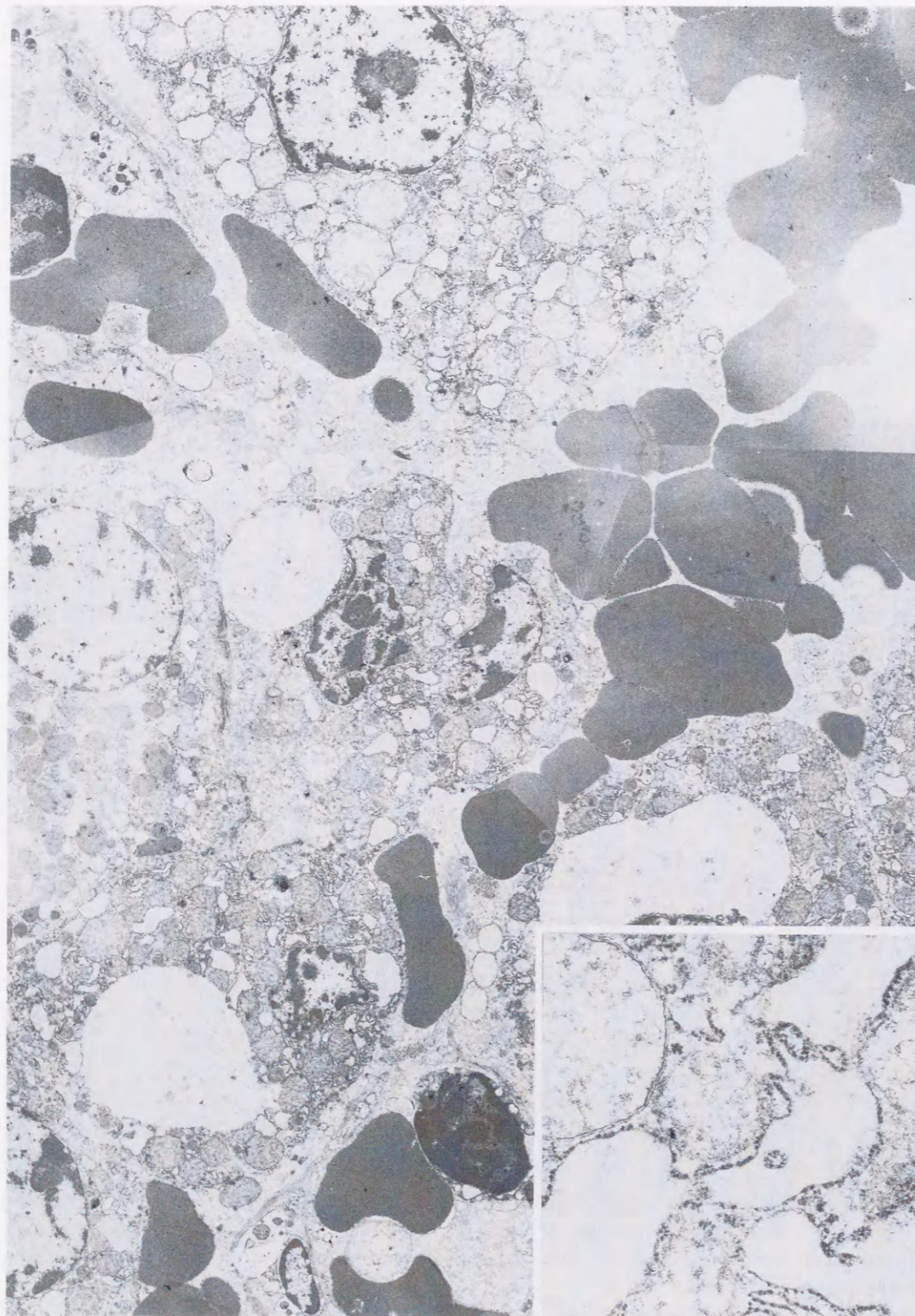


Photo. 7. Electron microscopic appearance of pig liver immediately after warm ischemia for 180 min. Note degenerative change of mitochondria and marked congestion. $\times 2200$ and $\times 24500$ (insert of right lower portion)

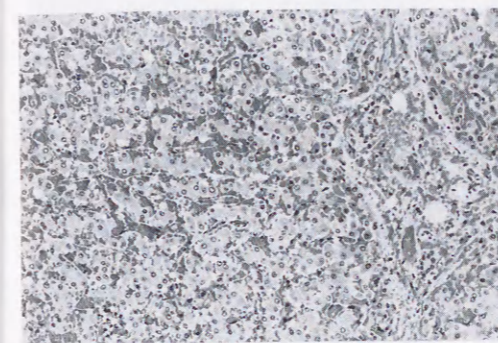


Photo. 8. Light microscopic appearance of pig liver immediately after warm ischemia for 180 min, followed by reperfusion for 60 min. Note massive recent hemorrhage. H. E. staining, $\times 180$

性に関しては両群間に明らかな相違はなかった。

(2) 120分阻血群

温阻血群, LR 灌流群, UW 灌流群を比較した。グリゾン鞘では阻血終了時, 再灌流後とも3群間に明らかな差はなく, 軽度浮腫を伴い, 少数の多核白血球が浸潤していた。肝小葉内では再灌流後の組織所見に際立った差異が見いだされた。すなわち, 温阻血群では検索した全てで出血を伴っており, 特に2例では広範囲に出血していた (Photo. 5)。肝細胞は膨化し, 小空胞状変性や単細胞壊死が比較的多く見いだされた。また1例では小葉中心性の肝細胞斑状壊死があった。類洞内には多核白血球が瀰漫性に浸潤していた。他方, LR 灌流群, UW 灌流群では肝細胞の単細胞壊死が散見され, 少数の多核白血球が浸潤していたが, うっ血, 出血は軽微であった。

(3) 180分阻血群

温阻血群では阻血終了時においても肝小葉内に出血が広範であり, 肝細胞の結合性の低下, 肝細胞の腫大が目だった (Photo. 6)。電顕的には肝細胞膜の崩壊したところが見いだされた。細胞内小器官では粗面小胞体の変性が強く, ミトコンドリアは拡張し, クリスタの不明瞭となったものが多かった。グリコーゲン顆粒は明らかに減少していた (Photo. 7)。再灌流後には前述の変化に加え, 肝細胞の単細胞壊死が散見され, 浮腫状に拡大した類洞内には多核白血球浸潤が増加した (Photo. 8)。電顕的には肝細胞の崩壊がさらに進み, 細胞内小器官が不明瞭となった細胞が見いだされた (Photo. 9)。

LR 灌流群及び UW 灌流群では阻血終了時, うっ血や出血が見いだされたが, 温阻血群に比べて軽度で

あった。電顕的にはグリコーゲン顆粒が減少していたが, ミトコンドリアの変性, 粗面小胞体の拡張は軽度であった。再灌流後にはかかる変化がより明らかとなり, 加えて, 主として小葉中心性の小空胞状変性が肝細胞に見いだされた。単細胞壊死も散見され, 類洞内には多核白血球が比較的瀰漫性に浸潤していた。電顕的にはクリスタの不明瞭化を伴うミトコンドリアの変性, 粗面小胞体の拡張が見いだされたが, 阻血終了時と差はなかった (Photo. 10)。

考 察

様々な検査機器の開発, 検査技術の進歩により, 早期に発見される肝腫瘍は, 現在ほぼ確立された肝切除によりその予後は大きく改善された。しかしながら, 一方では依然として非常に進行した状態で発見される腫瘍も多数存在する。特に肝細胞癌では, その大きさが増すに従い, 門脈・肝静脈への浸潤例も多くなり, 門脈腫瘍栓, 肝静脈腫瘍栓を形成している症例も少なくない。これら症例の肝切除に際して, 癌浸潤部, 腫瘍栓を遺残する事は, 局所再発や肝内多発転移・肺転移を含めた腫瘍の全身への転移の原因となりその予後はきわめて不良である。特に肝静脈腫瘍栓が下大静脈へ進展した症例などでは, その切除に際して肝静脈, あるいは肝静脈と下大静脈を短時間, 一時的に遮断するなどの方法が用いられてきたが, これらの方法は全身の血行動態に強い影響を与えるため, 十分な時間をかけて確実に切除するという事は無理な場合が多く, 切除が不十分であったり, 腫瘍栓を遺残させることもしばしばみられた。また, このような症例の中には肝機能も良好で, 根治切除により長期予後が期待できる症例も多数存在しており, 安全な切除方法の開発が待たれていた。進行した症例において, 安全に, 十分な病巣の切除を行う方法として考案されたのが冷却灌流を併用した肝血行遮断法である。今回の実験に用いた方法により肝循環を全身循環から完全に分離でき, 肝からの出血をコントロールしながらの肝切除が可能となる。

肝流入血行の遮断に際しては, 門脈及び肝下部下大静脈への血液のうっ滞が問題となる。門脈うっ滞の影響を軽減するために Jolly らは脾静脈-腸骨静脈バイパスを用い肝門部の長時間血流遮断を行い, 門脈うっ滞なしでの肝虚血の限界を45~50分と報告している⁸⁾。しかしながらこの方法は肝静脈系からの出血には無力であった。1966年, Heaney らは大動脈, 門脈, 肝上下部下大静脈遮断をバイパスなしに行い30分間の全肝阻血に成功している⁹⁾。この方法では肝からの出血は

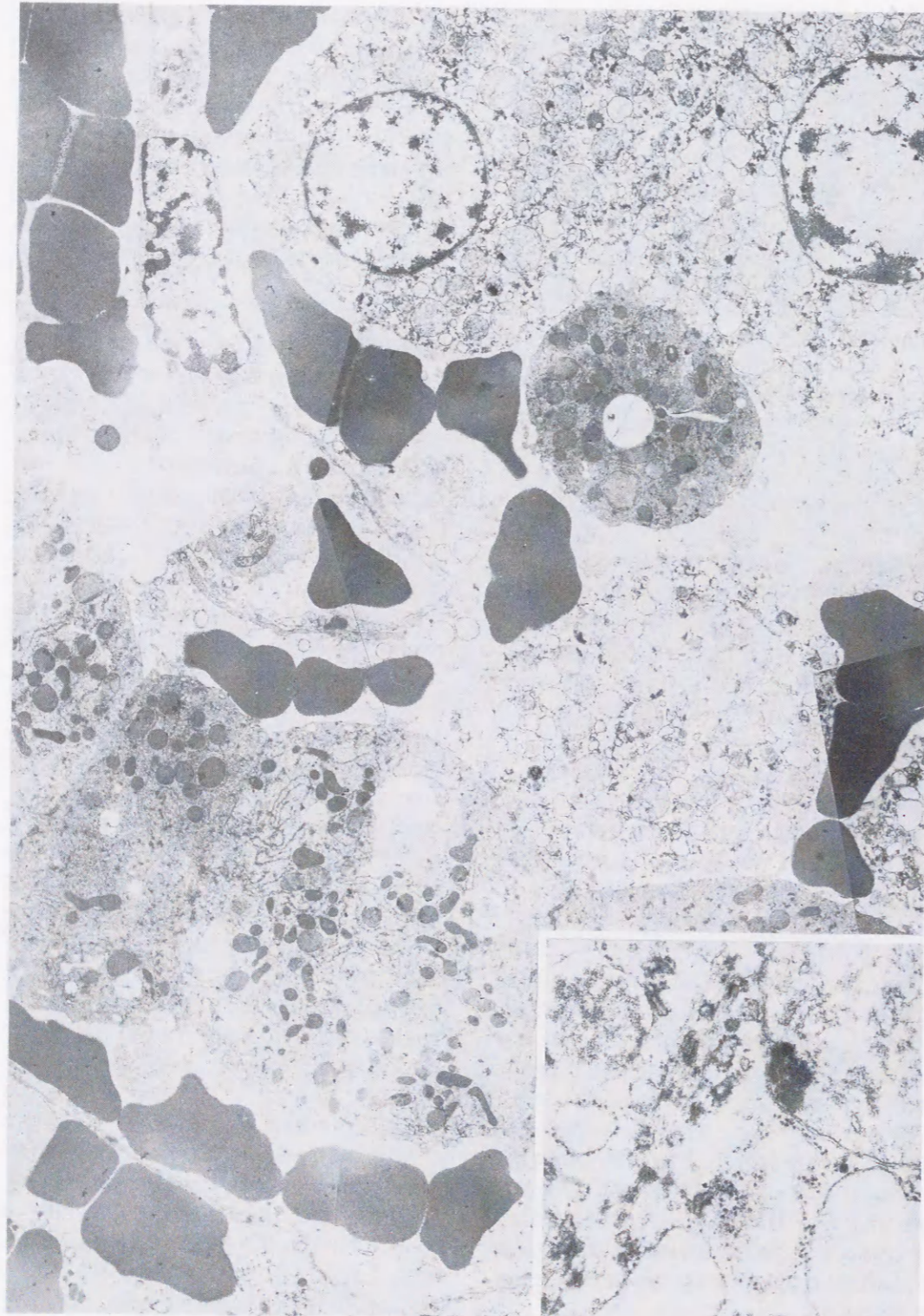


Photo. 9. Electron microscopic appearance of pig liver immediately after warm ischemia for 180 min, followed by reperfusion for 60 min.
 ×2200 and ×24500 (insert of right lower portion)

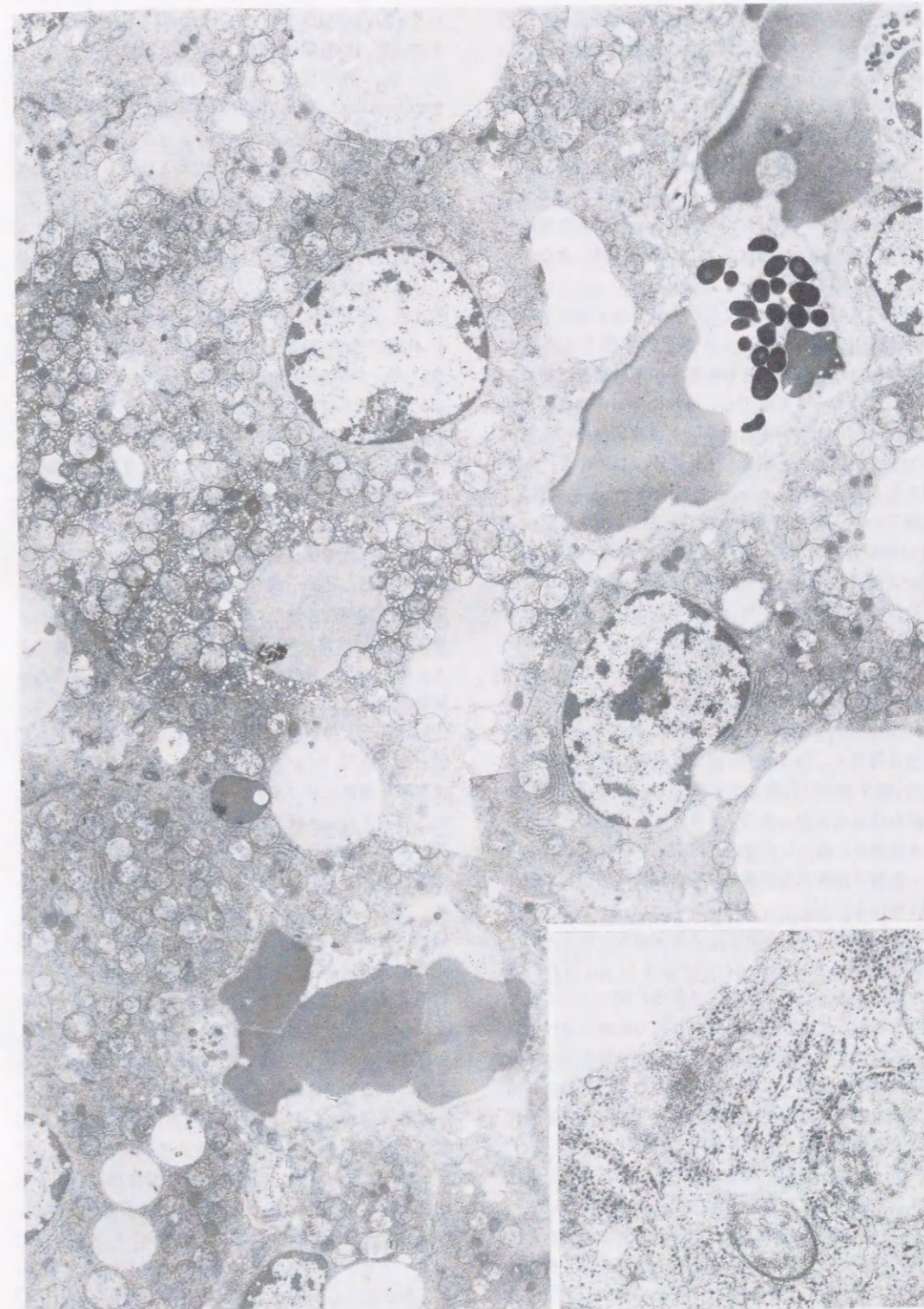


Photo. 10. Electron microscopic appearance of pig liver immediately after cold ischemia using UW solution for 180 min.
 Note the presence of vacuolar formation in the cytoplasm.
 ×2200 and ×24500 (insert of right lower portion)

完全にコントロールされるが、全身循環動態への悪影響はさげられない。全身循環への影響を最小限に食い止め、また肝の保存状態も良好に保ち、出血もコントロールできる方法として全肝血流遮断、肝冷却、門脈全身循環バイパスを行ったのは Fortner らが最初である。犬を用いた動物実験において、肝阻血に対する肝冷却灌流の有用性が示された¹⁾が、臨床例に関しては下大静脈系のバイパスが充分でなく、手術死亡が10.3%にみられ、成績は必ずしも良好とはいえなかった²⁾。

一方、1時間あるいは2時間の肝阻血に併用する冷却灌流の有用性に関しては否定的な報告もある。Huguet らは冷却灌流を行わなくても肝血流遮断のみで肝温度は1~3℃低下し、それに伴い代謝は約30%低下するため1時間程度の全肝血流遮断は冷却灌流無しでも可能であると報告しているが、14例中3例に手術死亡がみられている⁵⁾。また、Nordlinger らによる、門脈系のうっ帯を回避すれば120分までの全肝阻血は冷却灌流無しで可能であるという報告もある¹⁹⁾が、その安全性に関しては充分明らかとはいえない。

Fortner らの報告の後、冷却灌流法はあまり注目されなかったが、1990年、Pichlmayr らは、静脈-静脈バイパスによる門脈、下大静脈系の減圧と肝灌流液にHTK液(Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate solution)を使用した9例の ex situ, 3例の in situ 冷却灌流を報告し、in situ 症例では全例が経過良好で最長で168分までの肝阻血が可能であった事から再び注目されることとなった²¹⁾。世界的に肝移植が行われるようになり、新しい保存液の開発、手術手技の確立といった時代的背景も重要で、冷却灌流法の進歩に寄与する事になった。

常温下での肝血流遮断による肝阻血は、およそ60~90分が限界と考えられる^{5, 8, 15, 16)}。しかし、肝冷却灌流併用による肝血流遮断の安全限界に関してはこれまで充分明らかにされておらず、この方法の安全性と限界を明確にすることを目的として今回実験を行った。

実験結果でも示したように、肝流入血流遮断、肝冷却灌流により、直腸温に影響を与えず、体内で肝温度を20℃前後まで低下させることが可能であった。

門脈・肝動脈遮断に加え肝上部肝下部下大静脈も遮断する全肝の血流遮断を行う上でまず重要なのは、門脈及び肝下部下大静脈のうっ帯を回避する事である。今回の実験では、Bio-pump® を用いる事によりこれを回避した。うっ帯の回避には大きくはポンプを用いない passive shunt と、ポンプを用いる active shunt の2通りがあり、ポンプにはローラーポンプと今回用

いた Bio-pump® のような遠心ポンプの2種類があり、これらの有用性に関しては様々な意見が述べられている。中尾らはヘパリン化カテーテルによる passive shunt により無肝期の安定した血行動態が得られると報告している¹⁸⁾、ポンプを用いた強制灌流の方が循環動態の安定性には有利という報告が一般的である^{25, 29)}。また、血液成分¹³⁾、溶血¹¹⁾、凝固能^{17, 27)}の点からはローラーポンプよりも遠心ポンプの方が有利と考えられる。また、臨床的にも Bio-pump® の使用により肝移植のレシピエントの無肝期の全身循環の安定化、出血量減少、腎機能の改善効果、及び術後30日以内の生存率向上などの有用性が示されており^{3, 24, 28)}、無肝期のうっ帯回避には遠心ポンプによるバイパスが不可欠と考えられる。

こうして門脈・肝下部下大静脈のうっ帯を回避した状態で肝流入血流遮断を行う際に、全身血行動態が大きく変動するのは、肝阻血導入時と、再灌流時である。これを円滑に行うために、我々は、阻血導入時には、①肝下部下大静脈-頸静脈間のバイパス、②肝動脈・門脈の遮断、門脈-頸静脈間のバイパス、③肝上部・肝下部下大静脈の遮断の順に操作を行った。さらに、冷却灌流後早期に肝上部下大静脈の遮断を解除すると、肝内で冷却された血液が直接心臓に入り、思わぬ肺動脈上昇を招くことになる。そこで再灌流時には、①肝下部下大静脈解放、②肝動脈・門脈血流再開、門脈-頸静脈間バイパスの停止の後、しばらく肝下部下大静脈-頸静脈間バイパスを留置したままで循環を行い、肝内で冷却された血液が直接心臓内にはいる事を避け、その後③肝上部下大静脈解放、体外循環からの離脱を行った。この点が我々が新たに工夫した点である。この方法により、平均肺動脈圧では全群で実験経過中に著変なく、また血圧・心拍出量で温阻血群と冷却灌流群の間に阻血中の差は認められなかった。また再灌流後も、120分阻血までは各群間に有意差を認めなかった。しかしながら、180分阻血では、再灌流後、温阻血群と LR 灌流群で著明な血圧低下が認められ、これには心拍出量の低下を伴った。

これと同様に、120分までの阻血では、肝動脈血流量・門脈血流量で各群間に差を認めなかったが、180分阻血では再灌流後、温阻血群と冷却灌流群の間に差が認められた。Post らによれば、豚の肝移植実験で、移植直後から肝静脈中のプロスタグランジン E₂、6-ケトプロスタグランジン F_{1α}、トロンボキサン B₂ の上昇が認められ、続いて大動脈中にこれらの上昇が認められるとの報告がある²²⁾。肝から流出したと考えられるこのような因子が全身血中で著明に増加する事

は、全身血行動態に少なからず影響を与えると考えられ、180分の温阻血群、LR 灌流群で著明な血圧低下が認められた事にはこれらの関与も考えられる。

肝の viability の指標としては肝組織のアデニンヌクレオチド¹⁴⁾ や、動脈血中ケトン体比などがあるが、今回は肝組織そのもののエネルギー状態を正確に把握する事を目的としたため、肝組織アデニンヌクレオチドを用いて評価した。

120分までの肝阻血では LR 灌流群において再灌流後 ATP の良好な回復が認められたこと、また温阻血群において60分の肝阻血では ATP の良好な回復が認められたが、120分の肝阻血ではその回復が不良であったことから、120分までの肝阻血において肝冷却灌流法の有用性が示された。冷却灌流法においては、阻血中の AMP が高く保たれており、肝組織における AMP の分解を抑制することで、血流再開とともに肝組織の ATP の回復を速やかに促すものと考えられる。一方、180分の阻血において温阻血では ATP の回復はもはや起こらず、LR 灌流群でもその回復は前値の約50%までにとどまり、180分以上の肝阻血は物理的冷却のみでは不可能であり、何らかの肝保護が必要であると考えられる。今回その方法の1つとして灌流液に UW 液を用いたが、これでは180分の肝血流遮断でも120分のそれと同様に前値の75%以上の ATP の回復が認められた。

また、冷却灌流法において再灌流後120分の S-GOT, LDH の上昇が抑制されており、血清学的には本法が肝細胞破壊を抑制していることが示された。形態学的にも120分の阻血において、温阻血群では再灌流後、肝小葉内出血や肝細胞壊死が著明であったのに対し、冷却灌流群ではこれらの変化が軽微であり、阻血中の所見と比較して大きな変化のなかったこと、また180分の温阻血では、阻血中から肝小葉内への著明な出血、肝細胞の破壊が見いだされたのに対し、冷却灌流ではこれらの変化が軽度であったことも冷却灌流法の有用性を示す証拠であると考えられる。

UW 液の有用性に関しては、UW 液、およびユーロコリンズ (EC) 液を用いた長期冷却肝保存の実験において、UW 群で内在性抗酸化物質である還元型グルタチオン、 α -トコフェロール、還元型コエンザイム Q₉ の消費が EC 群と比較して有意に抑制され、UW 液を用いる事によりフリーラジカル障害を軽減することができるという報告²⁰⁾がある。また、CoQ₁₀、 α -トコフェロールの投与が、再灌流時に発生するフリーラジカルによる細胞膜の脂質過酸化を抑制することにより、温阻血障害を軽減し、温阻血時間の延長を

可能にするという報告^{15, 16)}など、様々な肝保護に関する薬剤効果の報告とあわせれば、これらを併用することによりさらに安全な肝血流遮断が可能になると考えられる。

以上著者は、灌流による肝の物理的冷却が、120分までの肝阻血において有用で安全な方法である事を全身血行動態、肝エネルギー代謝、血清学的、病理組織学的な立場から明らかにした。実際に臨床例において本法を用いることで、これまで安全な切除が困難であった下大静脈に切除範囲が及ぶような進行腫瘍も、無血野で切除することが可能となるだけでなく、生体肝移植におけるドナー手術にも応用でき、これら疾患の子後を改善する1つの方法としてその将来が期待される。

本論文の要旨の一部は、第43回日本消化器外科学会総会(東京、1994年2月)、第94回日本外科学会総会(東京、1994年3月)、第30回日本肝臓学会総会(旭川、1994年7月)において報告した。

なお本研究は、文部省科学研究、一般研究(B)(課題番号04454318)、一般研究(C)(課題番号06671280)の援助により行った。

謝 辞

稿を終えるにあたり終始懇切なる御指導、御校閲を賜った恩師・土肥雪彦教授に深甚なる謝意を表します。さらに終始直接御指導、御助言をいただいた広島大学医学部外科学第2教室・浅原利正講師、生化学的な御指導をいただいた広島大学医学部生化学第1教室・川崎 尚教授、山田一夫助教授、病理学的御指導をいただいた鳥取大学医学部病理学第1教室・井藤久雄教授に深く感謝するとともに、終始御協力をいただいた広島大学医学部外科学第2教室・片山幸治先生、岡本有三先生ほか、研究室諸兄に厚くお礼申し上げます。

参 考 文 献

1. Fortner, J. G., Shiu, M. H., Howland, W. S., Gaston, J. P., Kunlin, A., Kawano, N., Hattori, T. and Beattie, E. J. Jr. 1971. A new concept for hepatic lobectomy. Experimental studies and clinical application. Arch. Surg. 102: 312-315.
2. Fortner, J. G., Shiu, M. H., Kinne, D. W., Kim, D. K., Castro, E. B., Watson, R. C., Howland, E. J. and Beattie, E. J. Jr. 1974. Major hepatic resection using vascular isolation and hypothermic perfusion. Ann. Surg. 180: 644-652.

3. Griffith, B. P., Shaw, B. W. Jr., Hardesty, R. L., Iwatsuki, S., Bahnson, H. T. and Starzl, T. E. 1985. Veno-venous bypass without systemic anticoagulation for transplantation of the human liver. *Surg. Gynecol. Obstet.* 160: 270-272.
4. Heaney, J. P., Stanton, W. K., Halbert, D. S., Seidel, J. and Vice, T. 1966. An improved technic for vascular isolation of the liver: Experimental study and case reports. *Ann. Surg.* 163: 237-241.
5. Huguet, C., Nordlinger, B., Galopin, J. J., Bloch, P. and Gallot, D. 1978. Normothermic hepatic vascular exclusion for extensive hepatectomy. *Surg. Gynecol. Obstet.* 147: 689-693.
6. 板本敏行 1992. In situ 肝冷却灌流に関する実験的研究. *広大医誌* 40: 71-87.
7. 井藤久雄, 伊藤公訓, 安井 弥, 田原榮一, 福田康彦, 土肥雪彦 1991. 移植腎病理組織診断における microwave 固定法の応用. *移植* 26: 246-252.
8. Jolly, P. C. and Foster, J. H. 1963. Hepatic inflow stasis. *Surgery* 54: 45-55.
9. Kamiike, W., Watanabe, F., Hashimoto, T., Tagawa, K., Ikeda, Y., Nakao, K. and Kawashima, Y. 1982. Changes in cellular levels of ATP and its catabolites in ischemic rat liver. *J. Biochem.* 91: 1349-1356.
10. Kamiike, W., Burdelski, M., Steinhoff, G., Ringe, B., Lauchart, W. and Pichlmayr, R. 1988. Adenine nucleotide metabolism and its relation to organ viability in human liver transplantation. *Transplantation* 45: 138-143.
11. 金子秀実, 須磨幸蔵, 竹内靖夫, 井上健治, 城間賢二, 小山雄次, 成味 純, 高浜龍彦, 西山清敬, 郡 良文, 寺田 康, 横室仁志, 鳥井晋造, 今西薫, 伴 哲雄, 辻 隆之, 戸川達男 1986. 溶血に関する遠心ポンプとローラーポンプの比較検討. *人工臓器* 15: 541-544.
12. 片山幸治 1994. 障害肝の肝虚血障害に対する体内肝冷却灌流法の有用性に関する実験的検討. *広大医誌* 42: 53-74.
13. 古謝景春, 国吉幸男, 池村富士夫, 伊波 潔, 草場 昭, 島袋正勝, 神里 隆, 豊田義一 1986. 遠心ポンプ (Bio-pump) の血液成分に及ぼす影響 (Roller pump との比較検討). *人工臓器* 15: 545-548.
14. Marubayashi, S., Takenaka, M., Dohi, K., Ezaki, H. and Kawasaki, T. 1980. Adenine nucleotide metabolism during hepatic ischemia and subsequent blood reflow periods and its relation to organ viability. *Transplantation* 30: 294-296.
15. Marubayashi, S., Dohi, K., Ezaki, H., Hayashi, K. and Kawasaki, T. 1982. Preservation of ischemic rat liver mitochondrial functions and liver viability with CoQ₁₀. *Surgery* 91: 631-637.
16. Marubayashi, S., Dohi, K., Ochi, K. and Kawasaki, T. 1986. Role of free radicals in ischemic rat liver cell injury: Prevention of damage by α -tocopherol administration. *Surgery* 99: 184-191.
17. 松波英寿, 鬼束惇義, 福富 督, 矢野好弘, 尾関豊, 日野見紹, 広瀬光男 1987. 肝移植無肝期における静脈-静脈 bypass の凝固能に対する影響の実験的研究. *日消外会誌* 20: 1871-1876.
18. 中尾昭公, 加納忠行, 市原 透, 青木英明, 国場良和, 大倉国利, 高木 弘, 森 有一 1986. アンスロン®カテーテルを用いた門脈, 下大静脈バイパスによる同所性肝移植術. *人工臓器* 15: 162-165.
19. Nordlinger, B., Douvin, D., Javaudin, L., Bloch, P., Aranda, A., Bosch, M. and Huguet, C. 1980. An experimental study of survival after two hours of normothermic hepatic ischemia. *Surg. Gynecol. Obstet.* 150: 859-864.
20. 奥 純一 1992. 長期冷却単純浸漬肝保存における University of Wisconsin 液の細胞保護機構. *広大医誌* 40: 143-159.
21. Pichlmayr, R., Grosse, H., Hauss, J., Gubernatis, G., Lamesch, P. and Bretschneider, H. J. 1990. Technique and preliminary results of extracorporeal liver surgery (bench procedure) and of surgery on the in situ perfused liver. *Br. J. Surgery.* 77: 21-26.
22. Post, S., Goerig, M., Otto, G., Manner, M., Senninger, N., Kommerell, B. and Herfarth, C. 1990. Prostanoid release in experimental liver transplantation. *Transplantation* 49: 490-494.
23. Pringle, J. H. 1908. Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. *Ann. Surg.* 48: 541-549.
24. Shaw, B. W. Jr., Martin, D. J., Marquez, J. M., Kang, Y. G., Bugbee, A. C. Jr., Iwatsuki, S., Griffith, B. P., Hardesty, R. L., Bahnson, H. T. and Starzl, T. E. 1984. Venous bypass in clinical liver transplantation. *Ann. Surg.* 200: 524-534.
25. 菅原健太郎, 薄場 彰, 阿部 幹, 本田正久, 寺島信也, 三浦純一, 遠藤幸男, 武藤 淳, 菅野隆三, 竹重俊幸, 井上 仁, 元木良一 1986. 肝移

- 植無肝期の V-V bypass に関する研究-特にポンプを用いた強制灌流の必要性-. *人工臓器* 15: 158-161.
26. Sugino, K., Yamade, K. and Kawasaki, T. 1986. Analysis of adenine nucleotides by high-performance liquid chromatography. *J. chromatogr.* 361: 427-431.
27. 高浜龍彦, 須磨幸蔵, 竹内靖夫, 井上健治, 城間賢二, 小山雄次, 金子秀実, 郡 良文, 寺田 康, 浅野献一 1986. 長時間無ヘパリン化左心バイパス法の研究-遠心ポンプとローラーポンプの比較

を中心として. *人工臓器* 15: 536-540.

28. 藤堂 省, 岩月舜三郎 1984. 肝臓移植の手法. *消化器外科* 7: 1914-1922.
29. 薄場 彰, 米良健太郎, 阿部 幹, 田崎哲典, 武藤 淳, 本田正久, 武重俊幸, 木暮道彦, 菅野隆三, 尾形真光, 小泉祐功, 亀田俊夫, 三浦和久, 寺島信也, 三浦純一, 金沢幸夫, 遠藤幸男, 寺西寧, 今野 修, 井上 仁, 元木良一 1988. 肝移植無肝期の V-V bypass に関する実験的研究. *移植* 23: 383-389.

Beneficial Effect of in-situ Cold Perfusion for Long Time Total Vascular Exclusion of the Liver

Hideki NAKAHARA

Second Department of Surgery, Hiroshima University School of Medicine,
1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734, Japan
(Director: Prof. Kiyohiko DOHI)

To minimize the damage during total hepatic vascular exclusion (HVE) and after reperfusion, in-situ cold perfusion via portal vein and hepatic artery was carried out in pigs. As perfusates, 4°C lactated Ringer's (LR) solution and University of Wisconsin (UW) solution were used.

Hemodynamics during HVE up to 120 minutes and after reperfusion were well maintained with Bio-pump®. However, in both the 180-minute warm ischemia group and the 180-minute cold ischemia group using LR solution, arterial pressure decreases were noted after reperfusion.

In the 60-minute ischemia groups, adenosine triphosphate (ATP) in the hepatic tissue recovered immediately after reperfusion both in the warm ischemia group and in the cold perfusion group using LR solution.

In the 120-minute ischemia groups, ATP in the hepatic tissue increased immediately after reperfusion both in the cold perfusion groups using LR solution and UW solution. However, ATP after reperfusion in the warm ischemia group was significantly low as compared with the cold perfusion groups.

ATP in the 180-minute warm ischemia group did not increase after reperfusion. ATP in the 180-minute cold perfusion group using LR solution increased slightly after reperfusion but was significantly lower than the level in the cold perfusion group using UW solution.

In the cold perfusion groups, adenosine monophosphate (AMP) levels during HVE were maintained higher than those in the warm ischemia groups, implying that AMP in these groups was readily recovered to ATP on reperfusion.

The above results suggest that the in-situ cold perfusion technique is useful for reducing ischemia-reperfusion injury in cases of 60 to 120 minutes of HVE, and particularly in cases needing more than 120 minutes of HVE, it seems necessary to take an appropriate measure, for example using UW solution, in order to prevent hepatic injury.