

肝微小循環と肝代謝

順天堂大学 消化器内科 佐藤 信紘

はじめに

組織血流動態の異常は、脳や心臓ではそれが直ちに生命に結び付くという点で極めて重要で社会的関心が深い。消化器系の血流動態の異常に關しても、近年微小循環領域の研究の発展に伴い、ストレス潰瘍やアルコールなどによる胃病変が胃粘膜の微小循環障害を主因とすることが明らかになり、またアルコール性肝障害や虚血性大腸炎が肝臓や大腸粘膜の微小循環障害と密接に關係することも報告されつつある。血流は細胞との物質交換、細胞への酸素供給に関わり生体にとって重要な役割を果たしているが、微小循環は、細胞と直接かかわりを有している、最も末梢の循環系である。その変化は生体の機能維持にとって大きな影響を有していると考えられているが、微小循環の観察は困難を伴うことが多く、ヒトにおいては微小循環動態の解析が可能な部位は、網膜や眼球結膜や皮膚などに限られており、肝や脳等に關しては主にラットなどの小動物においてのみ観察可能である。以下では、微小循環の調節と生体反応時におけるその変化、次に肝微小循環系の特徴に關して概説し、その変化の肝および生体への影響に關して、アルコール性肝障害の発症機序に的を絞って述べる。

1) 微小循環の調節およびその生体反応時の変化

循環の調節は、心臓での血液駆出の調節と微小循環系の調節により主に行われている。微小循環は、それ自体末梢の循環を制御する働きを有しており、微小血管はその径を微小に変化させることで微小循環レベルでの圧、血流を調整し、恒常性を維持している。これは、細動脈、前毛細血管括約筋、細静脈に見られる平滑筋によって行われる。その調節は主に神經系とホルモンにより行われているが、神經支配で最もよく知られているのは、アドレナリン作動性の交感神経である。またヒスタミン作動性交感神経や副交感神経なども関与していることが明らかになっている。それらの受容体としては血管収縮性に働く α 受容体、血管拡張性に働く β 受容体などがある。

微小循環と生体反応と言う場合、微小循環の変化が生

体に及ぼす影響という面と、その逆の、生体反応時における微小循環の変化という2つの面を考える必要がある。生体反応時における微小循環の変化は、神經性、あるいはホルモンなどを介した反応として行われる。例えばショック時には以下のような微小循環の変化が生じる。動脈血圧が低下すると、アドレナリン作動性の交感神経性血管収縮が起き、血圧を上昇させようという反応が生じる。ホルモンに関しては、ショック時には血中カテコールアミン濃度は正常の50~100倍に増加し、末梢血管収縮を引き起す。この際各臓器の α 、 β 受容体の分布の差により反応が異なってくる。例えば α 受容体の多い皮膚や腎皮質等では血流は低下するが、 α 受容体の少ない冠動脈、脳等では血流は維持される¹⁾。肝臓ではカテコラミン作動性交感神経終末が類洞壁血管に証明されているがその分布は均一ではなく、血管収縮が不均一に生じていることが明らかになっている。その他、精神活動時には、交感神経の活動が活発になり、またアドレナリンなどのホルモンが分泌されて皮膚末梢血管の抵抗が上昇し血流が低下し、脳血流が増す²⁾。また運動時などには、二酸化炭素や水素イオン等の局所での代謝産物が血管拡張をひきおこし、局所での血流が増す。これらすべての反応は、生体の活動を効率的におこなったり、生体を保護するのに合目的に働いている。

最近、血管内皮細胞が種々な刺激に応じて血管を拡張したり（EDRF）、血管を収縮させる因子（EDCF）を放出することが話題になっており、前者としてNO、後者としてendothelinが同定されている。さらにアンギオテンシンⅡや血管拡張性のプロスタサイクリンなどのプロスタノイドを産出することも明らかにされている。これらは局所の血流調節に強くかかわるものと考えられており、微小循環障害との関連も深いと考えられる。将来的重要な問題である。

微小循環の障害は実質細胞障害にひき続き生じると考えられているが、逆に微小循環障害が実質障害を引き起すという場合も存在する。以下では、肝臓での微小循環系の特徴およびその障害がいかに肝障害の発症に関連

するかについての我々の検討を述べる。

2) 肝臓の微小循環系について

肝循環は肝細胞機能に必要な酸素や種々の代謝物、ホルモンの移送を担っており、その恒常性維持は肝機能にとりきわめて重要であり、その破綻は肝の機能低下だけでなく障害発生にも重要な関連を有している。直接肝細胞と接している肝微小循環系は他の臓器には見られない構造を持っており、肝実質細胞や類洞壁細胞の機能と密接な関連を有し、その解析は肝臓の生理及び病態の解明上きわめて重要なことである。

肝血流は、肝動脈、門脈の2重支配を受けるという特徴を有していることは周知のことであるが、門脈と肝動脈の2経路の血流量の比率は、通常は3から4対1と門脈優位であるが、門脈血流量が減少すると肝動脈血流量が増加するといった相補的な関係にある。門脈は肝内で樹枝状に分枝を重ね、第12次分枝が終末門脈枝であり小葉内類洞に注ぎ込む。類洞の入口及び出口には inlet-sphincter 及び outlet sphincter が存在し、類洞の血流を調節しているという考えがある³⁾が、未だ確立されたものではない。類洞壁細胞である内皮細胞、Kupffer細胞やIto細胞が類洞内血流の調節に関与している可能性を示す報告^{4), 5)}もあるが詳細は不明である。肝微小循環の基礎となる肝小葉構造については、Rappaport⁶⁾の提唱した“acinus”的概念が良く知られている(図1)。

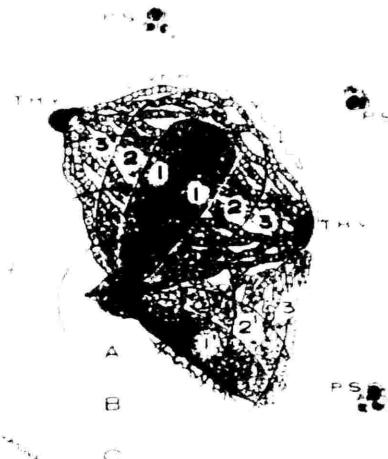


図1 Rappaport の提唱する肝小葉構造

門脈域(PS)から中心静脈(THD)へzone 1, 2, 3と分けられている。A, B, C はpsを中心とする同心円を示す。

肝小葉は血液の流れる方向に沿って門脈域から中心静脈域に向かいZone 1, 2, 3とに分けられる。これは単に形態学上の区分より考えられた古典的肝小葉とは一線を画するもので、肝小葉単位の中に循環動態を基盤とした動的な概念を持ち込んだものである。この概念に従えば、慢性肝炎から肝硬変への小葉改築過程や肝小葉内の肝細胞内酵素分布などが比較的良く説明されることから、acinusの概念は広く支持されるようになった。

一方、肝動脈は門脈と平行して分枝し、胆管周囲に毛細血管網 (peribiliary capillary plexus) を形成したのち、類洞あるいは終末門脈枝に注ぎ込む。肝動脈の末梢がどのように類洞に接続するかについては肝動脈の微小循環への影響の解析上注目すべき点であるが、一定の見解は得られていない。ラットでは直接類洞に開口する肝動脈は極めて少なく、A-P(arterio-portal)shuntがしばしば見られるのに比し、ヒトでは、しばしば直接類洞に開口する肝動脈が存在し、A-P shunt は見られないというように種差が見られる⁷⁾。肝動脈壁には自律神経が密に分布しており、分岐部には膨大部が存在しその収縮拡張により肝動脈の血流調節が行われているという考え方もある。しかし、肝動脈の肝血流への調節的な役割は少なく、全肝血流の約7割を占める門脈血流の変動に対しても総肝血流を維持するような補助的な作用を行うものと考えられている。

3) 肝循環の調節機序

肝血流量を決定する因子は大きく分けて、肝動脈血管抵抗、腸管の血管抵抗、肝内門脈血管抵抗の3つであるが、ホルモン、神経性因子や種々な血管作動性物質、サイトカインなどにより複雑な影響を受ける。肝血流と肝機能とは密接に関連しており、食物摂取時には胃腸管から消化吸収された栄養素の代謝や血糖調節などのために肝代謝の亢進が見られるが、この時に胃腸管血流の増加による肝血流の増加が見られる。

肝微小循環の調節に関しては、人の肝内神経支配はアドレナリン作動性であるという報告が多かったが、コリン作動性神経支配も明らかにされている。一般に、アドレナリン作動性受容体の刺激では、肝血管抵抗が上昇し肝血流量が減少し、コリン作動性受容体の刺激では、肝血管抵抗が低下し肝血流量が増加すると言われている。カテコールアミンを含む神経線維およびCGRPを含む神経枝が肝類洞血管に分布していることを、著者らは明らかにしたが、これらが類洞血流の調節に与ると考えられるが詳細は不明である。Substance-PやVIP, glucagon を含む神経枝は、肝臓の細動脈に分布してい

るが類洞には認められないことも筆者らは明らかにした。通常は門脈血流量は肝動脈血流量の3~4倍であるが、門脈血流量が減少すると肝内にATPの代謝産物であるアデノシンが蓄積され、それが末梢肝動脈枝を拡張させ肝動脈血流量を増加させる^⑨。急性ないし慢性のアルコール投与が肝類洞血流におよぼす影響についての検討は、以下に述べる点を除いては明らかでない。

4) 生体顕微鏡システムを用いた肝の微小循環系の解析

肝微小循環の解析は、生体顕微鏡を用いてラットの肝辺縁において行われている^⑩。ラットを左季肋下小切開し肝を露出させ、特製ステージ上に留置する。保温のため肝表面を37°C salineで灌流することが重要である。透過光を用い、水浸の対物レンズ(x23, x55)を使用した顕微鏡(Leitz Orthlux Microscopy)を用いて肝表面小葉内微小循環を200~400倍で観察し、同時に高速ビデオ装置(NAC MHS-200)にて録画する^⑪。肝小葉はモニター上で2000倍以上に拡大され、肝実質細胞、赤血球、白血球、血小板の類洞内での挙動、類洞内皮細胞などの類洞壁細胞、及び毛細胆管への蛍光物質の排出も明瞭に観察、解析可能である。また、録画された画像上で、相互相関法^⑫を用いて類洞内血流速を求めたり、血管運動や血管痙攣の他に血管の径や分岐角度など、表1に掲げる種々な微小循環に関するパラメータの計測が可能である。

表1 微小循環にかかるパラメータ

血流量	blood flow volume
血流速	blood flow velocity
血管径	diameter, caliber
血管運動	vasomotion
血管痙攣	vasospasm
血管内圧	pressure
血管壁透過性	permeability
血管破綻、出血	hemorrhage
赤血球流	sludge, rouleau, deformity
白血球流	rolling, sticking, embolism
血小板流	aggregation
局所性血清停滞、虚血	hemostasis, ischemia
細動静脈吻合	A - V shunt
血漿成分の	physico - chemical properties
物理・化学的性状	of plasma & cells (PO ₂ , PCO ₂ , pH, Hb - SO ₂ など)

この他、生化学的なパラメータとして、光ファイバを用いて顕微鏡と高速高感度分光光度計を直接つないで類洞血管局所の hemoglobin の分光分析を行うことにより、血管内の酸素レベルの推定までが可能となっている。肝辺縁のみでなく肝表面上の微小循環や障害肝の微小循環を解析するには、蛍光標識赤血球を用いた生体蛍光顕微鏡が有用であり、この場合には、frame毎の蛍光標識血球移動距離より類洞内血球速度を求めることが可能である。このようにして生体顕微鏡にて観察すると、特徴ある肝微小循環が明らかになる。門脈域(肝小葉の中で門脈末梢枝に近い部位、acinusのzone 1に相当する)で3次元的に展開した個々の類洞血流は、集束しながら中心静脈域(肝小葉の中で末梢静脈枝に近い部位、acinusのzone 3に相当する)に向かい、末梢肝静脈枝に流入しており、それらの類洞間をあたかもはしご段のようにほぼ直角あるいは斜めに結ぶ類洞(Intersinusoidal sinusoid)が存在する。類洞壁内面は1層の内皮細胞で覆われており、多数のfenestraeがあつて、物質の透過に好都合となっている。また、Kupffer細胞、伊東細胞(fat storing cell、あるいはlipocyteともいう)、Pit細胞などの類洞壁細胞が存在する。我々の測定では、類洞径は門脈域で5.1±1.7 μm、中心静脈域で7.1±1.7 μmであり、また類洞血流速は門脈域で188±83.4 μm/sec、中心静脈域で300±124.30 μm/secである^⑪。また、各小葉間で著しい差異はなく、いずれの小葉にも常に血液の流れが見られ、restingの状態の小葉はない。門脈域、zone 1では、血管は概して細くまた血球流速は遅く、これに対し、中心静脈域、zone 3では、血管は太くなり血球流速も速くなる。後者では血管の径と血球流速には正の相関関係が認められ、この領域は静脈性の性質を有する血液によって栄養されていることを示している。また、血流速には個々の類洞間で差異が認められるが、各部位では比較的一定の値を示す。しかし、各部位での径や血球の流速度には明確な揺らぎが存在することも筆者らは明らかにしている^⑫。

5) アルコールと肝微小循環

a) アルコール摂取に伴う肝微小循環障害

肝微小循環の変化が肝に及ぼす影響を、筆者らはアルコール性肝障害の発生機序との関連で検討してきた。飲酒中のアルコール(エタノール)は上述のごとく、肝臓での酸化に際してアルコール脱水素酵素(ADH)系であれ非ADH系であれ酸素を必要とし、肝酸素消費を増大させ、“hyper metabolic state”を作り出し、その

結果生じる肝の酸素欠乏ヒポキシア(hypoxia)がアルコール性肝障害発症の原因の1つと考えられている¹³⁾。筆者らはそのようなエタノールの酸素消費増大作用の他に、肝微小循環障害により肝小葉にfocalにヒポキシアが生じるのではないかと考えたのである。これまでの報告では、飲酒後に種々の方法で測定した肝血液量あるいは肝血流量は増加するという成績がほとんどであった。また、肝静脈血中の酸素濃度も増加するという報告が多く、hypox-iaを示す証拠は得られていないかった。しかし、肝細胞障害は局所的にfocalに生じるので、肝全体の血流量の測定や生化学的dataのみでは局所の障害の原因を探る事が難しい。筆者らは、上述のシステムにより、アルコールの肝微小循環及び肝局所酸素化に及ぼす影響を調べ、アルコール性肝障害発症における肝微小循環障害の役割について調べてみた。エタノール(30%V/V)1g/kgを胃管によりラットに急性投与15分後の類洞血流速(EFV)、ISO₂の変化を調べたところ、EFVは全体としては有意に増加したが、興味あることに、個々の類洞に関しては大きく増加するものもあれば逆にわずかに低下するものも見られ、エタノールに対する反応性に各類洞血管間での差異が認められたのである。この際、類洞径の平均値には大きな変化は見られなかった。ISO₂はエタノール投与により門脈域では有意に増加し(前33.9±4.6%、15分後40.0±5.4%、P<0.05)、全ての測定部位において上昇が見られたが、中心静脈域では有意差が認められず(前28.7±6.3%、15分後33.7±6.1%)、その変化は各測定部位により著しく異なっており、ISO₂の減少する部位が存在した。局所の酸素化は酸素の需要と供給により規定されるが、エタノール投与後、供給を担う血流に肝小葉内でのheterogeneityが存在し、そのため血流の少ない局所で酸素化の低下する部位が出現したのではないかと考えられた。

b) 大量飲酒の肝循環系への影響

筆者らはその後、多量の飲酒後にみられる血中の高濃度のエタノールが特に肝細胞障害を引き起こすのではないかと考え、高濃度のエタノールの肝毒性について検討してみた。その結果、Lieberらとの共同研究¹⁴⁾でパブーンを用い、末梢血中40~70mMになるようにエタノールを負荷した実験で、高濃度のエタノールは肝酸素消費を増加させるどころかこれを著しく減少させることを明らかにした。これは、アルコール代謝に伴い局所性に増えるアセトアルデヒドによるとも考えられたが、微小循環障害による酸素供給不全ではないかと考えて、高濃度エタノールの肝微小循環動態に及ぼす影響をラットを用いて検討した。胃管を用いてエタノール(30%v/v)

4 g/kgを投与15分後のEFV、ISO₂の変化を調べたところ、興味あることに、EFVは全体として有意な変化を示さない。また類洞径の平均値も有意な変化を示さなかつた。このことにより、in vivo顕微鏡システムを用いた検討ではエタノール4 g/kgという大量投与時には肝表層の類洞血流量は増加しないことが明らかになった。そしてISO₂は門脈域では有意に上昇した(前38.3±3.9%、15分後43.6±5.6%、P<0.05)が、中心静脈域では逆に有意に低下することが判明した(前33.7±4.9%、15分後28.0±5.7%、P<0.05)。しかも正常時には見られない値にまで低下する部位も出現し、hypoxiaの出現が示唆されたのである。すなわち、これらの部位では酸素消費の増大に対し、微小循環障害のため酸素供給が不足し酸素需給の不均衡が生じたと考えられるのである。さらに興味深い点は、詳細に観察するとエタノール4 g/kg投与時には類洞の一部では血球成分の流れが減少して血漿流が中心となる血球-血漿分離現象が出現することであった。この様に大量エタノール投与時には肝微小循環障害により局所性に酸素供給の低下する部位が生じ肝局所酸素化の低下が出現することが明らかになった。ラットにエタノール4g/kg急性投与15分後の末梢静脈血中エタノール濃度は約60mMであったが、1日平均5合以上飲酒する大酒家では末梢静脈血中エタノール濃度は100mMにも及ぶことが知られており、以上述べたことはヒトにおいても起こり得ると考えられ、アルコール性肝障害の発生機序を考える上できわめて重要な事象と思われる。

6) エタノールによる肝微小循環障害の機序

エタノール摂取時に認められるこのような肝の微小循環障害の発生機序の解明は、アルコール性肝障害の発症・進展を予防するために重要と考えられるが、その機序は現在なお明確でない。エタノール摂取時には、カテコールアミンなどの肝微小循環系を障害しうる血管作動性物質の分泌が亢進することが明らかにされており、アルコール依存症で入院した患者の末梢血中のエピネフリン、ノルエピネフリンのレベルは著しく高い。したがって、高濃度エタノールによりこれらのカテコールアミンの分泌が亢進し、肝血管を収縮させる可能性が充分考えられる。また、エタノールは、血小板凝集を引き起こしたり、白血球の粘着能の亢進、血管透過性の亢進を惹起して血流を障害することも明らかにされている。エタノールは腸管内でのエンドトキシンの生成を促し、Kupffer細胞などの活性亢進ないしその後の低下を引き起こして類洞血管の収縮や透過性を亢進させたり、血

管を障害する因子を放出させたりすることも考えられる。一方、エタノールの代謝産物であるアセトアルデヒドは血管拡張性に作用することが知られており、エタノール／アセトアルデヒド比の変化が、肝のみならず脳などの臓器の血管の拡張・収縮に影響を与える可能性が高い。これらの種々な要素が絡み合って肝微小循環に影響をあたえるものと考えられる。

筆者らは、最近、ラット還流肝モデルを用いて、エタノールが濃度依存性に sinusoid レベルあるいは presinusoid の部位で肝血管を収縮させ肝微小循環障害を引き起こして、midzone および中心静脈域の hypoxemia とヒポキシアを発生させることを明らかにした。同時に、肝の酸素消費の低下、肝 ATP 量の減少や energy charge の低下、胆汁流量の減少などの肝の機能障害も出現することも明らかとなった。これは Ca^{2+} - Calmodulin 系が関与することも明らかになっており、血管平滑筋細胞や Ca^{2+} 依存性の actin' myosin 蛋白の収縮を介して、局所の血管の収縮をきたすのではないかと、筆者らは考えている。

7) 微小循環による肝障害の生化学的発生機序

肝の微小循環障害によりヒポキシアが発生すると、肝実質細胞および類洞壁細胞のミトコンドリアの ATP 合成が低下し、細胞内 ATP レベルの低下に伴って、細胞膜におけるイオンの能動輸送が阻害される。その結果、細胞膜のイオン透過性の亢進により K^+ の細胞外流出、 Na^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} の細胞内流入が発生し、 Na^+ 、 Cl^- の流入は細胞浮腫を惹起させる。一方、ミトコンドリア内 ATP レベルの低下によりミトコンドリアより Ca^{2+} が放出され、細胞外より流入する Ca^{2+} とあいまって細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度が上昇する。この細胞内遊離 Ca^{2+} の上昇は phospholi-pase A₁, A₂, C および Ca^{2+} - activated neutral prot-ease (Ca^{2+} - ANP) などの蛋白分解酵素を活性化する。活性化された PL-A₂ は生体膜のりん脂質を分解し、アラキドン酸を生じ生体膜を障害する。ミトコンドリア内膜が障害をうけると H^+ の透過性が亢進し、酸化的りん酸化能が低下する。また、細胞内 ATP レベルの低下により細胞骨格系サイトスケルトンの障害が生じ、 Ca^{2+} - ANP などの protease の活性化により tubulin などの細胞骨格蛋白の分解が生じ、細胞膜に bleb が生じる。この細胞質蛋白を含有した bleb の類洞血流への流出が血清 GOT 、 GPT の上昇の原因となる。また bleb の破裂が細胞膜の透過性を高め細胞壊死へつながるものと考えられており、その発生機序の詳細な解明が肝障害の予防、治療に今後きわめて

重要となる。

おわりに

アルコール性肝障害の発生・進展には多くの因子が関与すると考えられている。その中でも特徴的な中心静脈域での肝細胞壊死が focal(巣状) に発生するには、局所の肝細胞の酸素利用障害に伴う代謝異常が重要な役割を果たしていると考えられる。これには、門脈血中のエタノール濃度が比較的高濃度になったときに生じる肝微小循環の障害が密接に関与していることが、筆者らにより最近明らかにされた。これは、Ca - calmodulin 系が関与していることも明らかにしたが、今後、この微小循環障害の発生機序をより詳細に解明することが、アルコール性肝障害はもとより他の原因による肝臓障害の発生機序の解明・予防および治療法の開発に重要であると考えられる。

肝微小循環は類洞壁細胞、肝実質細胞の機能を支える上で極めて重要であり、その調節を介して、肝の機能が発現されることが多い。また、微小循環の障害は肝病変の局所性を説明するのに重要であり、微小循環の障害を通して病変が拡大することも考えられる。血管内皮細胞で産生、分泌される血管収縮、拡張にかかる物質を含め、今後、局所の細胞機能に影響を持つ物質の検索と機能発現の過程、細胞内情報伝達系の解析が重要となろう。発展が期待される分野である。

文 献

1. 広田彰夫、他：ショックと microcirculation 小児内科 19:1479 (1987)
2. Paul C J:Microvascular Regulation:Normal Function and Disturbance in Disease In: Microcirculation in Circulatory Disorders.(ed.) Manabe H, Zweifach B W, Messmer K. Springer - Verlag Publishing, Tokyo, 1988, pp63
3. McCuskey R S:A dynamic and static study of hepatic arterioles and hepatic sphincters. Am J Anat 119:455 (1966)
4. 織田正也、他：肝類洞内皮細胞の超微形態と機能 肝臓 25:1639 (1984)
5. 上野隆登、他：人肝内神経分布に関する電顕的考察 肝臓 28:586 (1987)
6. Rappaport A M, et al:Subdivision of hexagonal liver lobules into a structural and functional unit;role in hepatic physiology and pathology. Anat. Rec. 119:11 (1954)

7. K Yamamoto, et al:Three-dimensional observations of the hepatic arterial terminations in rat, hamster and human liver by scanning electron microscopy of microvascular casts. Hepatology 85:452 (1985)
8. W W Lautt, C V Greenway:Conceptual review of the hepatic vascular bed. Hepatology 7:952 (1987)
9. Sato N., Eguchi H., Inoue A., et al: Hepatic Microcirculation in zucker fatty rats. Adv. Exp. Med. Biol. 200, 477 - 483, (1986)
10. Wayland,H P C Johnson:Erythrocyte velocity measurement in microvessels by a two - slit photometric method. J. Appl. Physiol. 22:333 (1967)
11. 佐藤信紘：肝微小循環と物質代謝。肝臓フォーラム Vol.2, 1990 (辻井正編) 医事出版社 (1990)
12. Sato N., Matsumura T., Shichiri M., et al.: Hemoperfusion, rate of mitochondrial cytochrome c(+C₁) in liver in situ of anesthetized rat measured by reflectance spectrophotometry. Biochim. Biophys. Acta 634, 1 - 10, (1981)
13. Eguchi H, et al:In vivo estimation of oxygen saturation of hemoglobin in hepatic lobules in rats. Adv. Exp:Med. Biol 1, 222:591
14. Israel Y., Videla L. Bernstein J.:Liver hypermetabolic state after chronic ethanol consumption: hormonal interrelations and pathogenic implications. Federation Proc. 34, 2052 - 2059, (1975)
15. Lieber C. S., Baraona E., Sato N., et al: Impaired oxygen utilization: A new mechanism for the hepatotoxicity of ethanol in sub-human primate. J. Clin. Invest. 83, 1682 - 1690, (1989)