

肝疾患に及ぼすストレスの影響

(研究課題番号: 548178)

昭和56年度科学研究費補助金 (一般研究B)

研究成果報告書

昭和57年3月

研究代表者 関 谷 千 尋

(旭川医科大学第三内科)

# は し が き

肝疾患患者において、肝の組織学的変化が軽微であるにもかかわらず、血清トランスアミナーゼ値の異常が長く持続するものがある。このような患者のなかには、さまざまな不安や緊張、焦りなどの精神的ストレスを強く有しているものが多い。また、サルやラットを用いた拘束水浸によるストレス潰瘍作成実験では、胃粘膜の変化だけでなく血清トランスアミナーゼ値の上昇も認められる。このとき、あらかじめラットに軽い肝障害を起こしておいてから行くと、それらのラットはほぼ確実に死んでしまう。それらラットの肝組織像をみると劇症肝炎のときの組織像とそっくりで、中心静脈域の破壊が著しい。このような事実から、ストレスが肝に対し少なからぬ影響を及ぼすものと考えられた。しかし、臨床例における検討からすると、いかに大きなストレスでも正常肝を有する人では肝機能検査値に異常をきたすことはまずみられない。

そこで、われわれは正常肝ラットだけでなく肝障害作成ラットにも各種ストレスを加え、その影響について検討した。検討は肝機能検査値や肝組織光顕像および電顕像、肝血流量、血清カテコラミン値などの面より行った。以下その結果につき報告する。

## 研究組織

研究代表者: 関谷千尋  
(旭川医科大学第三内科 講師)  
研究分担者: 並木正義  
(旭川医科大学第三内科 教授)

## 研究経費

昭和55年度 7000千円  
昭和56年度 1000千円

## 研究発表

- (1) 梶 巖, 関谷千尋, 並木正義: 肝疾患の心身医学的研究——実験的研究も含めて——心身医学, 21:302, 1981
- (2) C. Sekiya, I. Kaji, and M. Namiki: Influence of stress on the liver——Clinical and experimental studies.  
第6回国際心身医学会, モントリオール, カナダ, 1981

## 研究成果

### I 具体的な研究課題

はしがきに述べた研究の目的から、具体的には以下に示す点を明らかにしようと試みた。

- 1, 各種ストレスの肝機能検査値および肝光顕像に及ぼす影響について調べる。肝障害を作成したラットについても検討する。
- 2, 正常肝ラットにストレスを与え、その電顕像について検討を加える。
- 3, 交叉熱電対方式もしくは水素がスクリアランス法によってストレス時の肝血流量について検討を加える。
- 4, 肝組織内のO<sub>2</sub>濃度の変化をPO<sub>2</sub>測定装置(OXIGRAPH MONITOR)により検討する。
- 5, ストレス時のカテコラミン動態について、高速液体クロマトグラフィーを用いて検討する。

### II 実験方法

- 1, 300g前後のSprague-Dowley系雄ラットに変性量程度のd-ガラクトサミン200mg/kgを腹腔内に注射し、軽い肝障害を起こさせたあと、騒音、寒冷、疼痛、イライラ刺激などのストレスを1週間連続して加えた。ラットの場合、200mg/kgのガラクトサミン注射では数日で肝障害が回復するため基本的には、ストレス前とストレス4日目の2回注射して実験に供した。もちろん、ストレス前に1回注射しただけの群や、無処置群についても検討した。

ストレスとしては、92db、9200ヘルツの高音をきかせる騒音刺激、4°Cのクールドールーム内で1匹ずつ隔離して飼育する寒冷刺激、ラットの尾を針金で縛る疼痛刺激、ラットを剃毛してグラスウール内で飼育するイライラ刺激などを用いたが、より精神的ストレスに近い騒音刺激を主に用いた。

- 2, 血清はエーテル麻醉下(カラコラミンの実験は除く)に心穿刺して採取し、直ちに肝組織を取り出し、その一部を光顕と電顕に供した。
- 3, 血清については、総蛋白、アルブミン、A/G比、TTT、ZTT、総ビリルビン、総コレステロール、Ch-E、ALP、GOT、m-GOT、GPT、LAPなどについて検討した。
- 4, 肝組織の一部はブアン固定後パラフィン包埋しAZAN染色とH-E染色にて検討した。
- 5, また、肝組織の一部は電顕に回した。電顕は前固定を2%パラフォルムアルデヒド、2.5%グルタルアルデヒド、0.5Mカコジレイト液で、また後固定をオスミウム酸で行ったあと、Epon 812他で包埋した。

6. 肝血流に関しては、交叉熱電対方式のUM-2000 と水素ガスクリアランス方式のPHG-201, D<sub>2</sub>R型IMを用いた。交叉熱電対方式の電極は少なくとも実験の4日前にラットの肝用に埋め込んでおき、肝組織の傷が修復したと思われる頃から実験に用いた。また、水素ガスクリアランス方式では体動が問題になるため、ラットを金網で固定して実験を行った。

7. 肝組織内酸素濃度はユニークメディカル社のPOG-300 を用いて検討した。

8. カテコラミンの測定は島津の高速液体クロマトグラフィーで分析し、測定そのものはトリヒドロオキシインドール反応によった。なお、カテコラミン測定に用いる血漿採取はネンブタール麻酔下で行った。

### Ⅲ 結 果

#### 1. ストレスの食餌・水分摂取への影響

精神的なストレスに近いと思われる騒音刺激を用い、ストレスによる食餌と水分の摂取具合をみたのがFigure 1である。それほど差はみられないが、ガラクトサミンを注射してストレスを負荷すると、2日間ほどは食餌や水分の摂取量が減る。したがって、ガラクトサミンを2回注射してストレスを負荷した群では、食餌と水分の摂取に大きな影響が認められた。実際の臨床例でもストレスによりこのような食欲の低下がみられるので、この騒音ストレスはかなり精神的なストレスになっているものと思われる。

#### 2. ストレスの体重への影響

ガラクトサミン無処置・非ストレス群が1週間で15gの体重増加がみられたにもかかわらず、騒音ストレス1週間で25gの減少がみられた。ガラクトサミン注射群でも非ストレス群が-3g/週であるのに対し、ストレス群が-40g/週である。このように、ストレスは体重を著明に減少させる。この体重減少は食餌摂取量の減少のみでは説明できない。おそらく生体内の代謝の異常もからんでいるのであろう。

#### 3. ストレスの肝重量への影響

ストレスを負荷したラットでは体重のみならず肝そのものの重量も減少している。Figure 2はラットの肝重量の体重あたりの比(%)でみてみたものであるが、ガラクトサミン無処置・非ストレス群が3.4%(平均値)であるのに対し、ストレス群は、2.6%しかない。この傾向はガラクトサミン処置をしてもほぼ同じである。

#### 4. ストレスによる血清への影響

##### a) 総蛋白, アルブミン値, A/G比

ガラクトサミン処置の有無にかかわらず、ストレスを与えると総蛋白は上昇する、



Figure 3。これは以前からいわれているように、血液が濃縮するためかも知れない。しかし、アルブミン値はFigure 4に示すようにほとんど各群に差がみられない。そのため、A/G比はストレス群で低い値を示す。

b) Ch-E値

Figure 5に示すようにストレス群で低い傾向を示す。

c) 総ビリルビン値

ガラクトサミン無処置・非ストレス群では平均が0.24 mg/dlであるが、ストレス群になると0.44mg/dlとなる。また、ガラクトサミンを注射すると非ストレス群が、0.34mg/dlとなる。このように、ストレスにより総ビリルビン値は上昇していたが、そのビリルビンは直接型も間接型も上昇していた。

d) GOT, GPT, m-GOT

Figure 6に示すようにガラクトサミン無処置群では、騒音や寒冷ストレスでトランスアミナーゼ値の上昇がわずかにみられるくらいであるが、ガラクトサミンにより軽い肝障害をあらかじめ作成しておいてストレスを負荷すると、Figure 7に示すようにGOT, GPT値は著明に上昇する。m-GOT値も同様に、ガラクトサミン無処置・非ストレス群69.0, 同ストレス群61.5, ガラクトサミン処置・非ストレス群75.0であるのに対し、ガラクトサミン処置・ストレス群は156.2と著明に上昇し、肝細胞の強い障害を思わせた。

e) ALP, LAP,  $\gamma$ -GTP

胆管系酵素はストレスによる影響がさほどないようで、各群に特別な差はみられなかった。

f) 総コレステロール, TG

Figure 8をみて分かるように総コレステロールはガラクトサミン処置・ストレス群のみ著明な低下を示す。一方、TGはFigure 9をみて分かるように、ストレスにより著明に上昇する。

g) TTT, ZTT

TTTは血清脂質の影響なのか、ガラクトサミン処置・ストレス群でやや高値を示したが、ZTTは各群に差異がみられなかった。

5. 肝組織の光顕による検討

ガラクトサミン処置・非ストレス群の肝組織像はFigure 10をみて分かるように、ほとんど変化がみられなかった。しかし、ストレスを加えた群では、GOT, GPT, m-GOT値の上昇を反映するように強い変化がみられた。Figure 11がその肝組織所見であるが、みて分かるように、中心静脈域に強い肝細胞の変性・壊死が認めら

れる。

Figure 12はガラクトサミン無処置・ストレス指であるが、よくみると中心静脈域において、肝細胞の膨化、核の大小不同、好酸体の出現などが認められた。血清GOT、GPT値などはわずかな上昇傾向を示したのみであったが、騒音ストレスの5匹ともこのような組織所見がみられることから、ストレスは血清検査には反映しない程度ではあるが、肝に対する強い影響を与えるものと思われた。

## 6、電顕所見の検討

ガラクトサミン処置をしないでストレスを加えたラット肝の電顕をみると、中心静脈域の細胞にはFigure 13に示すように、ミトコンドリアの膨化や滑面小胞体の増加、核の変形などの所見がみられた。寒冷ストレスではグリコーゲン顆粒の減少が著明であった。

## 7、ストレスによる肝血流への影響

水素ガスクリアランス方式で血流を計る際、覚醒させてストレスを与えるには体動が問題になるため拘束しなければならない。しかし、拘束だけでも強いストレスになるので、騒音ストレスを加えてもわずかな低下を示したにすぎなかった。しかし、エーテル麻酔下での肝血流と比較すると著明な低下であった(Figure 14)。

次に、体動が問題にならない交叉熱電対方式を用いて、肝血流に及ぼすストレスの影響を検討した。Figure 15がその結果であるが、ストレスによって、肝血流は大きな影響を受けていることがうかがわれる。

しかも、その低下の程度は動揺性で必ずしも一様ではない。血流減少の大きな波が何回かにわたって波状的に生じているのが分かる。

## 8、肝組織内酸素濃度

電極を含めいくつか検討してみたが、この機種でストレスにより生ずる程度の肝組織内O<sub>2</sub>濃度の差異を検討することはできなかった。

## 9、ストレスの血中カテコラミンの影響

高速液体クロマトグラフィーにより標準液で検討すると、Figure 16に示すように、10~20pg/ml程度まで、きれいな直線が得られた。また、血漿の前処置について同一血漿で検討しても、再現性は良好だった。コントロール血漿はいくつかの問題を有するがhandling後ネブタール麻酔下で採取した<sup>1,2</sup>。

Table 1が、騒音ストレス負荷後40分後まで観察した結果である。ストレス開始直後ではアドレナリン値が著しく上昇している。しかし、その値も急速に下がり、以後軽度上昇のまま持続することが分かった。ただ、肝血流で波状的に低下を示したのと同じように、アドレナリン値は、ときどき上昇するようであった。一方、ノルアドレナ

リンをみると、アドレナリンと異なり、むしろ低い値を示していた。

#### IV ま と め

肝疾患患者は一家の大黒柱となる青壮年層の男性に多いし、比較的長期にわたって療養しなければならない場合がしばしばである。それだけに、どうしても種々の不安や焦りなどを強く抱いてしまう。症例によっては、そのことがまた病状を悪化させる。そのような患者に心身医学的アプローチをすると、肝機能検査値が急速に改善する場合が多い。<sup>3,4</sup>このようなことから精神的なストレスが肝機能に少なからぬ影響を与えているものと思われていた。しかし、残念ながら精神的ストレスが肝に対しどのような役割を果たしているのかについては研究が少ない。むしろ、慢性肝疾患患者ではどのような精神症状や心理状態になるかという面での研究が少しみられる程度であった。<sup>5,6</sup>ただ、肝血流に関してはいくつかの報告がある。<sup>7,8</sup>例えば、銅直らはストレスによる肝血流量の減少をimpedance plethysmographを用いて検討している。

今回、われわれが進めてきたラットを用いた一連の研究から考えると、精神的ストレスでも肝に与える影響はかなりのもので、肝組織学的変化をも生ずる程度であった。まして、軽くても肝障害があると、その変化は著明で、種々の肝機能検査値に異常をきたすだけでなく、中心静脈域を中心に強い肝細胞壊死をもたらすことが分かった。これらの事実は、肝に及ぼすストレスの影響の病態として、肝血流量の減少を考えさせる。小動物に精神的ストレスを与えること、肝血流量を測定することは容易ではなかったが、今回われわれが行った方法でこの点について検討できることが分かった。

そして、われわれの行った騒音刺激でもアドレナリンが著しく上昇していた。この事実は他の多くの報告と一致するし、ラットの体重減少<sup>10</sup>や肝重量の減少<sup>11</sup>、血清TGの上昇、肝細胞内グリコーゲン顆粒の減少<sup>12</sup>などを説明しやすい。ただ、波動的に減少する肝血流量の変動を、単にカテコラミンだけで解釈し得るか否かについては、今回の研究でも不十分であり、もう少し大きい動物で、両者を同時に測定しながら検討する必要がある。また、肝内に入り込んでいる神経による直接の影響についても検討しなければならないものと思われた。

文 献

- 1) Depocas F and Behrens W. A.: Effects of handling, decapitation, anesthesia, and surgery on plasma noradrenaline levels in the white rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 55: 212, 1977.
- 2) Bühler H. U., DaPrada M., Haefely W. and Picotti G. B.: Plasma adrenaline, noradrenaline and dopamine in man and different animal species. *J. Physiol.*, 276: 311, 1978.
- 3) 関谷 千尋, 他: 肝障害とストレス—実験的および臨床的研究. *日消誌*, 76: 480, 1979.
- 4) 梶 巖, 関谷千尋, 並木正義: 肝疾患の心身医学的研究—実験的研究を含めて—*心身医学*, 21: 302, 1981
- 5) 和田 武雄, 他: 内科学領域における慢性化病態の臨床心理学的ならびに病態生理学的考察. *精身医*, 6: 306, 1966.
- 6) 前田 聡, 中村一夫: 肝炎および腎炎における精神身体医学的検討. *精身医*, 11: 65, 1971
- 7) 高橋 功: 交叉熱電対法による肝循環動態の薬理学的研究. *日薬理誌*, 60: 308, 1964.
- 8) 伯野 中彦: 植え込み交叉熱電対法による肝組織血流の測定. *日薬理誌*, 63: 327, 1967.
- 9) 銅直 春雄: 慢性肝炎の心身医学的研究(第1報)・*精神医*, 9: 24, 1969.
- 10) 喜多富太郎, 他: 環境温度リズムの変更によるストレス(SART ストレス)とマウス・ラットの生体機能変化. *日薬理誌*, 71: 195, 1975.
- 11) 銭場 武彦: 胃・腸管運動の基礎と臨床. 真興交易医書出版部. 東京. 1979.
- 12) 伴 忠康: 肝の神経支配. *最新医学*, 20: 246, 1975.

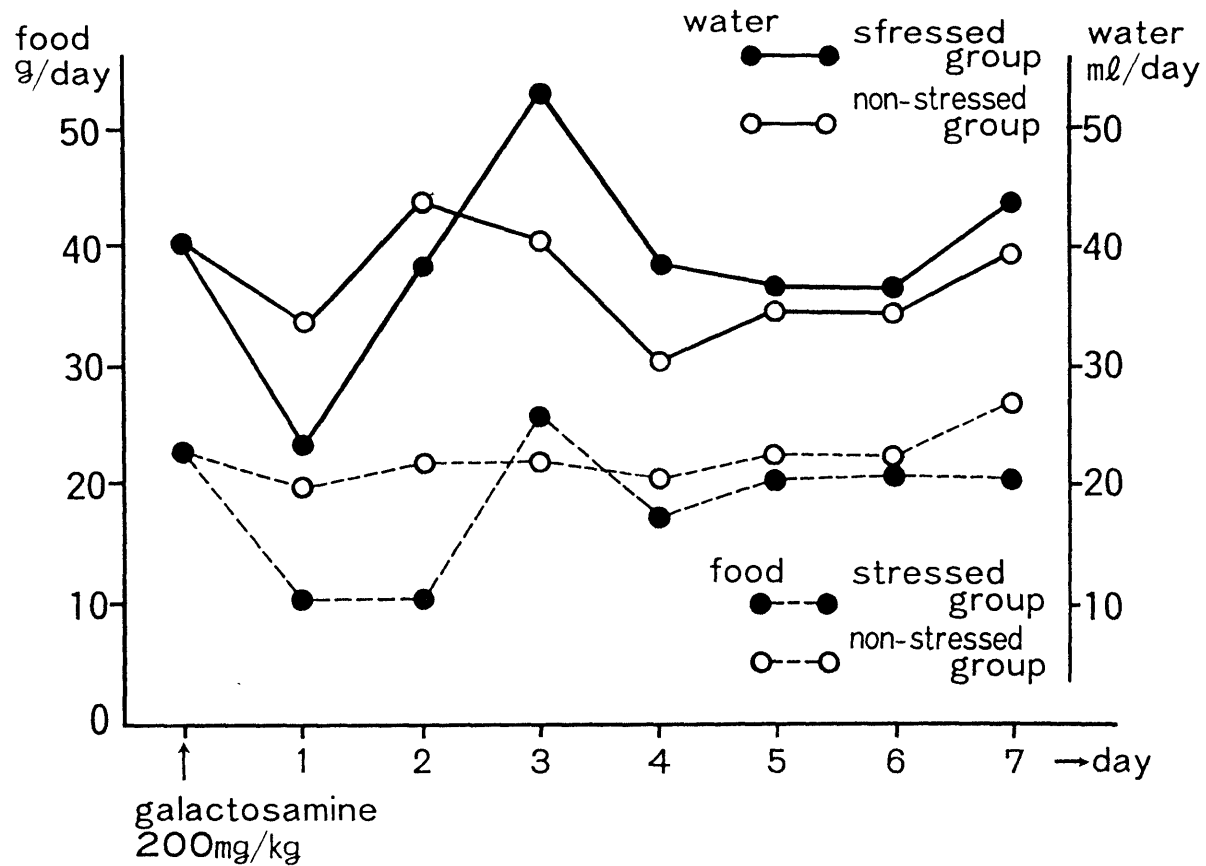


Figure 1 EFFECTS OF SOUND STRESS ON DAILY INTAKE OF FOOD AND WATER

liver weight/body weight

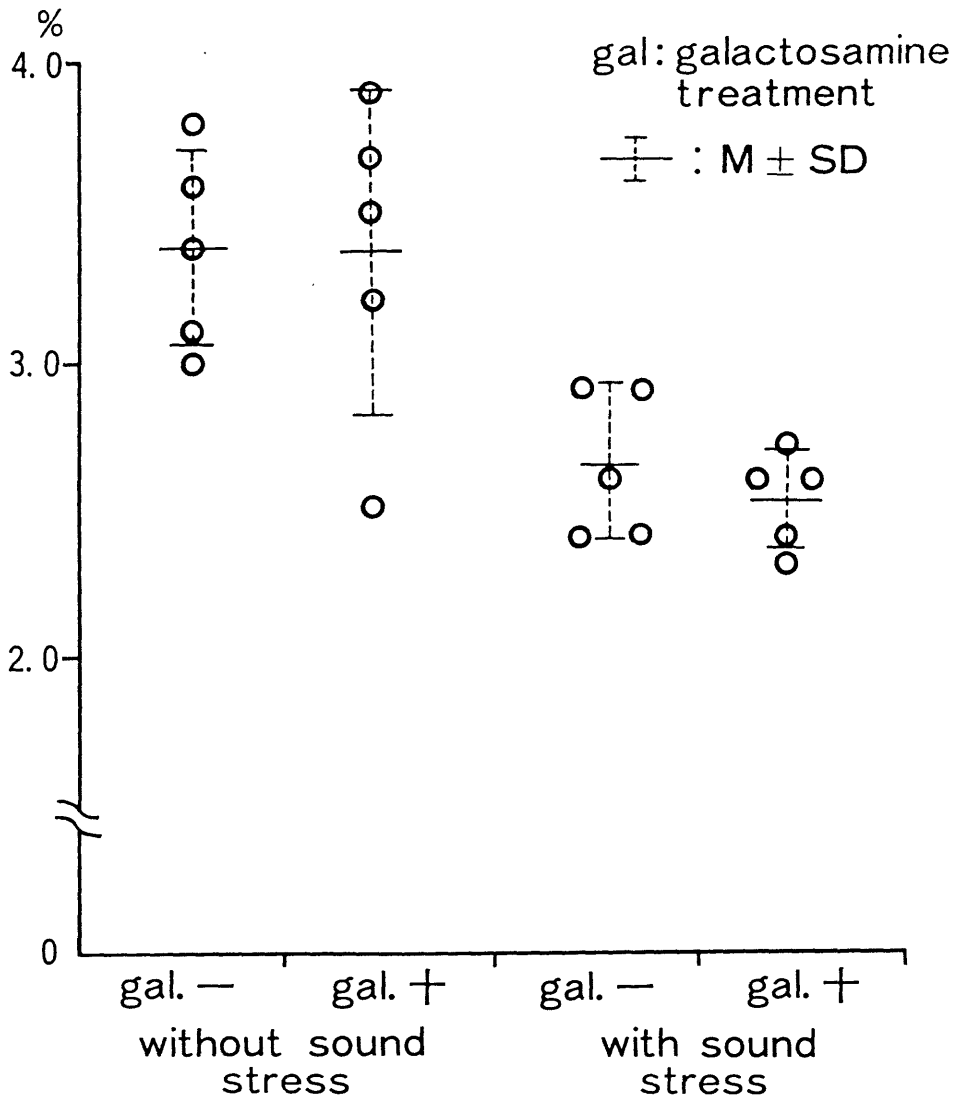


Figure 2 EFFECTS OF SOUND STRESS ON WEIGHT OF RAT LIVER



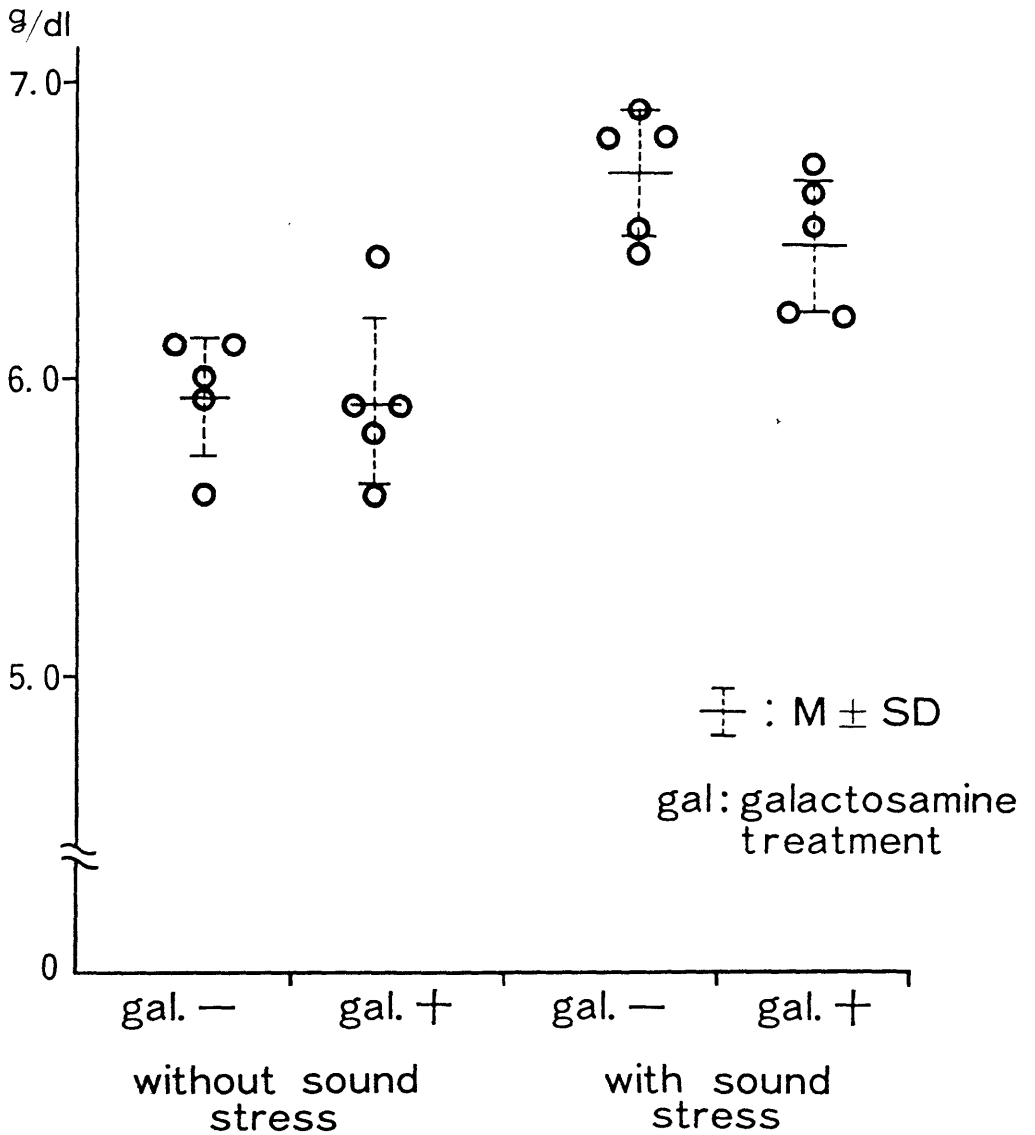


Figure3 SERUM PROTEIN OF RATS WITH OR WITHOUT SOUND STRESS

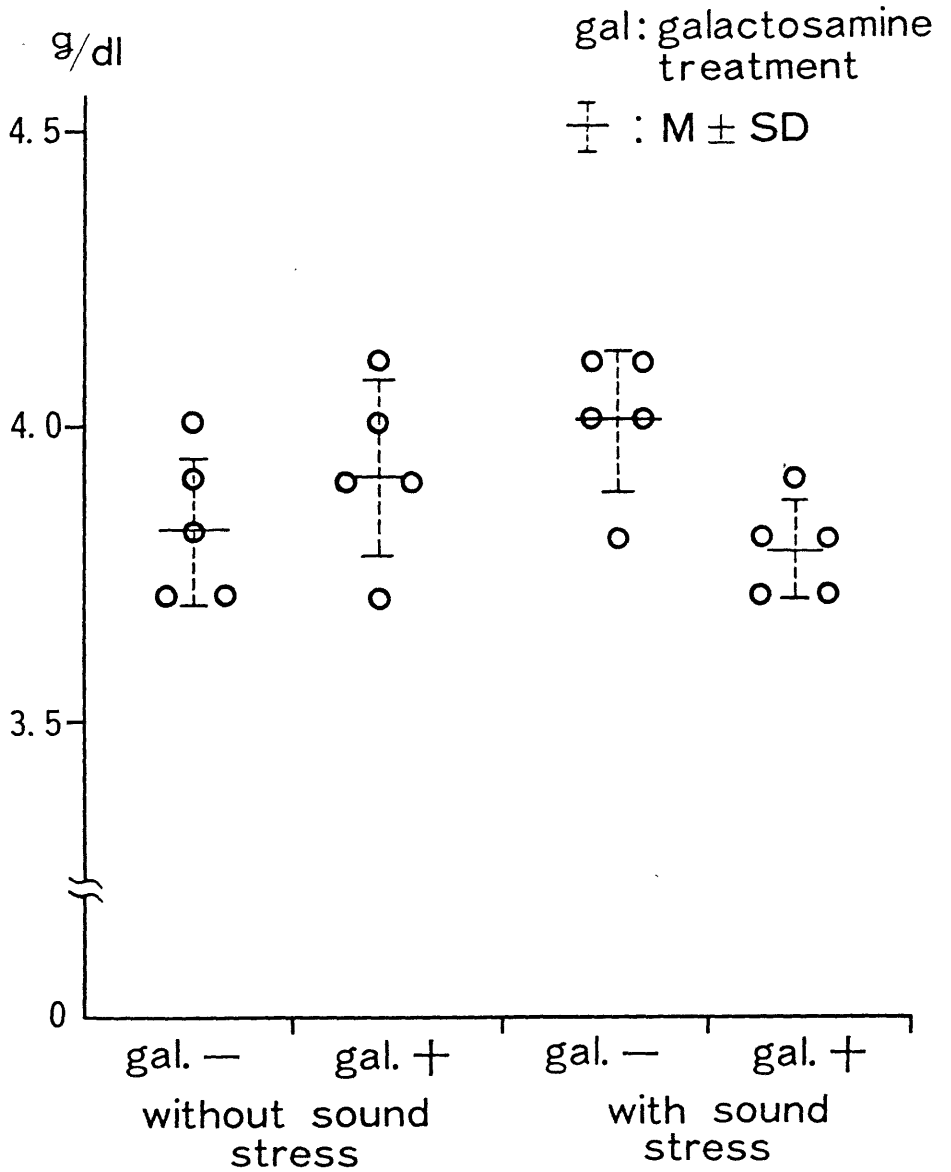


Figure4 EFFECTS OF SOUND STRESS ON SERUM ALBUMIN

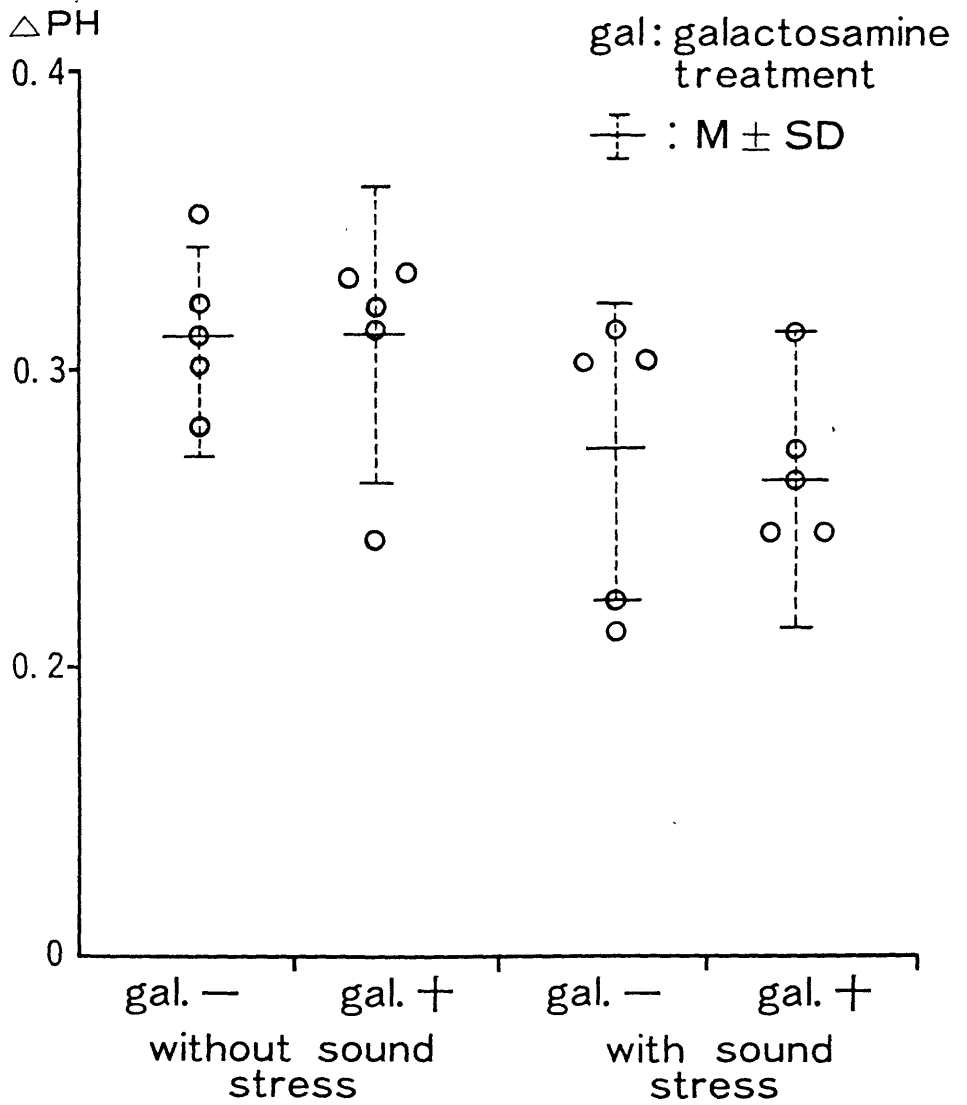


Figure 5 EFFECTS OF SOUND STRESS ON SERUM CHOLINESTERASE

Figure 6

CHANGES OF SERUM GOT AND GPT VALUES AFTER STRESS STIMULI IN THE GROUP WITHOUT GALACTOSAMINE TREATMENT

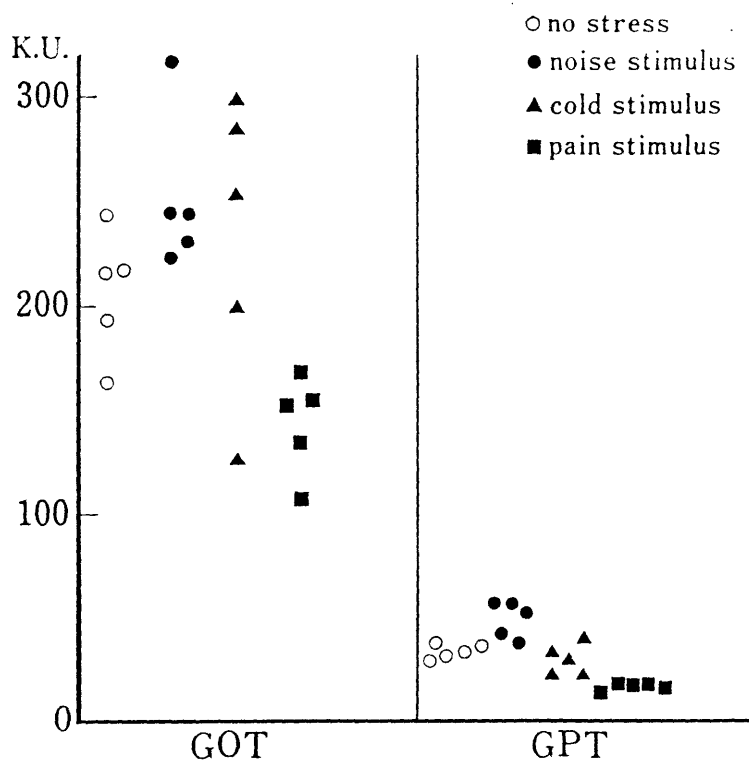
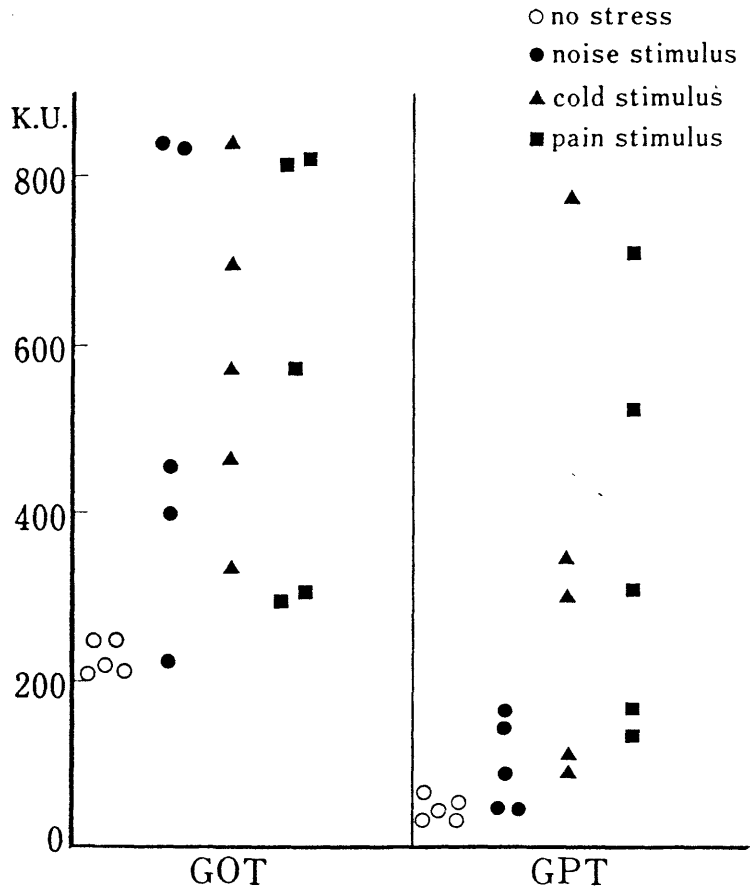


Figure 7

CHANGES OF SERUM GOT AND GPT VALUES AFTER STRESS STIMULI IN THE GROUP WITH GALACTOSAMINE TREATMENT



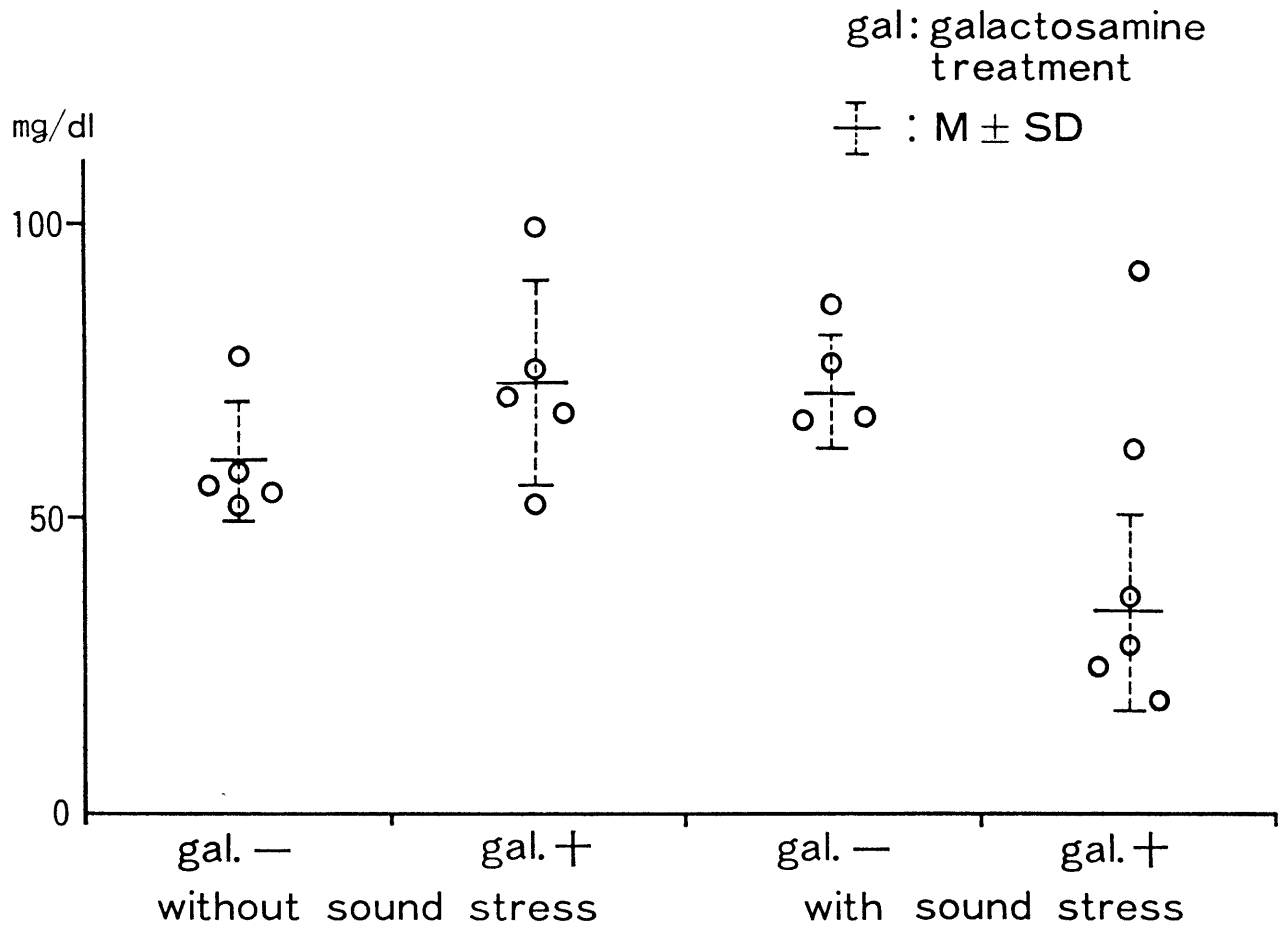


Figure 8 EFFECTS OF SOUND STRESS ON SERUM CHOLESTEROL



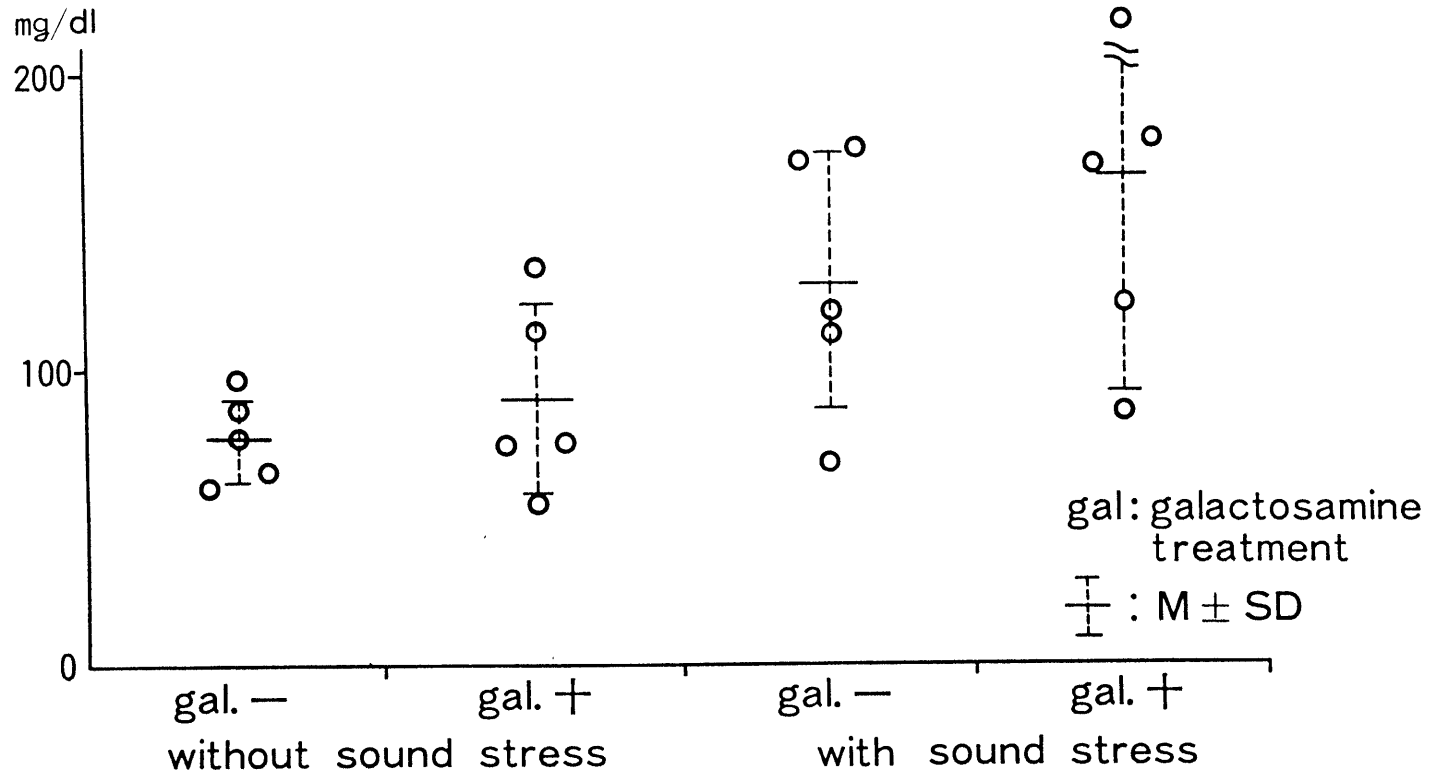


Figure 9 EFFECTS OF SOUND STRESS ON SERUM TRIGL YCERIDE (TG)

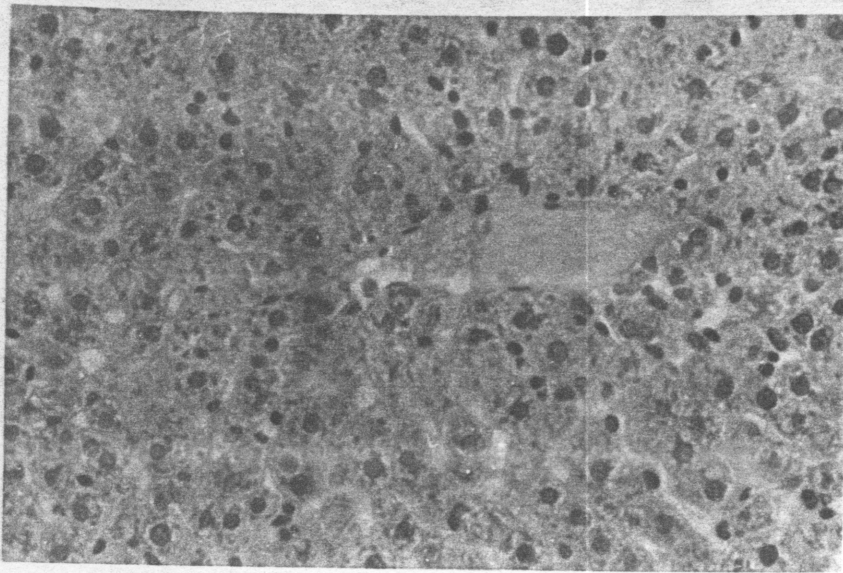


Figure 10. HISTOLOGIC FINDINGS OF RAT LIVER TREATED BY GALACTOSAMINE

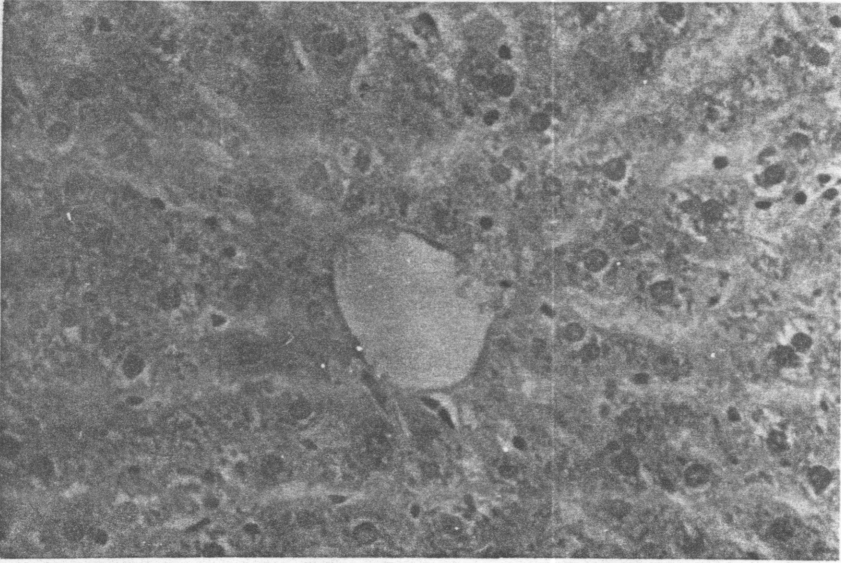


Figure 11. HISTOLOGIC FINDINGS OF THE LIVER OF RAT WITH GALACTOSAMINE TREATMENT AND SOUND STRESS

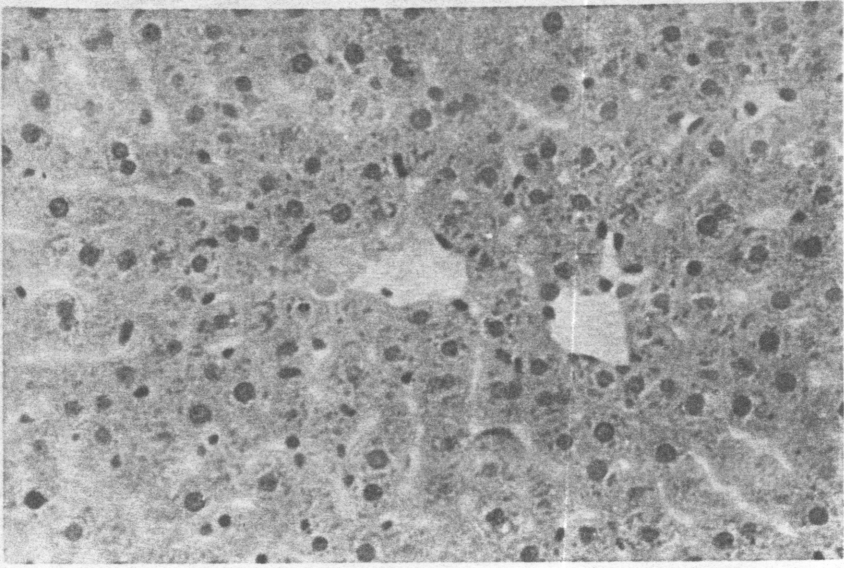


Figure 12 HISTOLOGIC FINDINGS OF  
RAT LIVER UNDER SOUND STRESS

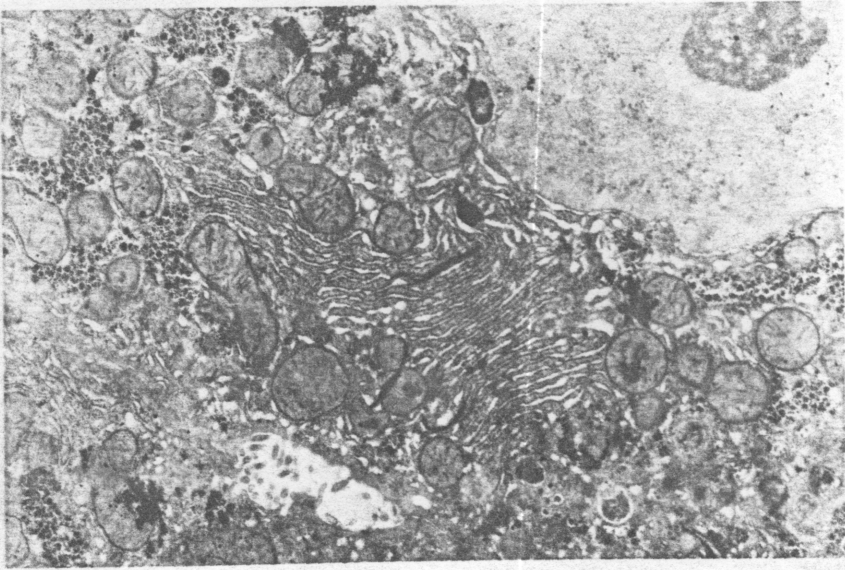


Figure 13 ELECTRON MICROSCOP-  
IC FINDINGS OF RAT LIVER  
UNDER SOUND STRESS

Figure 14

水素ガスクリアランス法によるストレスの肝血流への影響

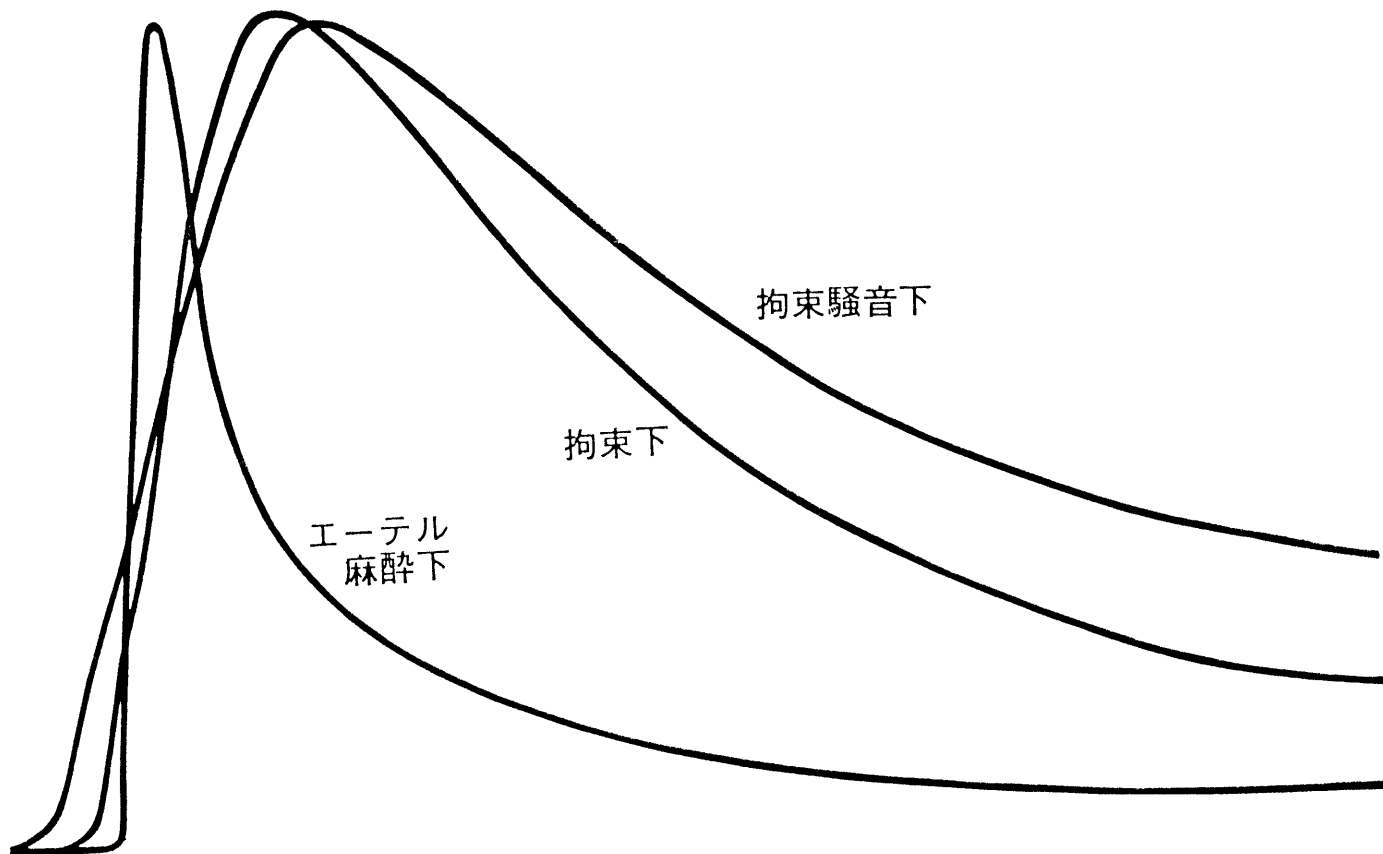
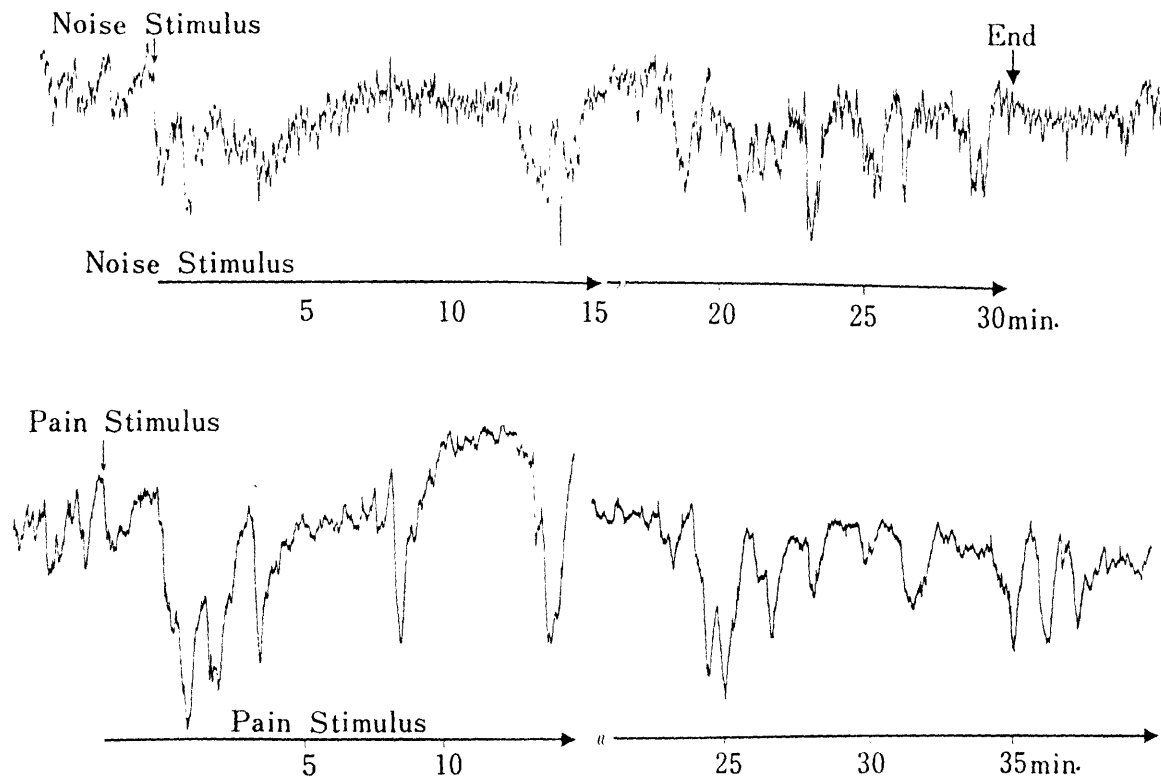


Figure 15

## CHANGES OF HEPATIC BLOOD FLOW BY NOISE AND PAIN STIMULI



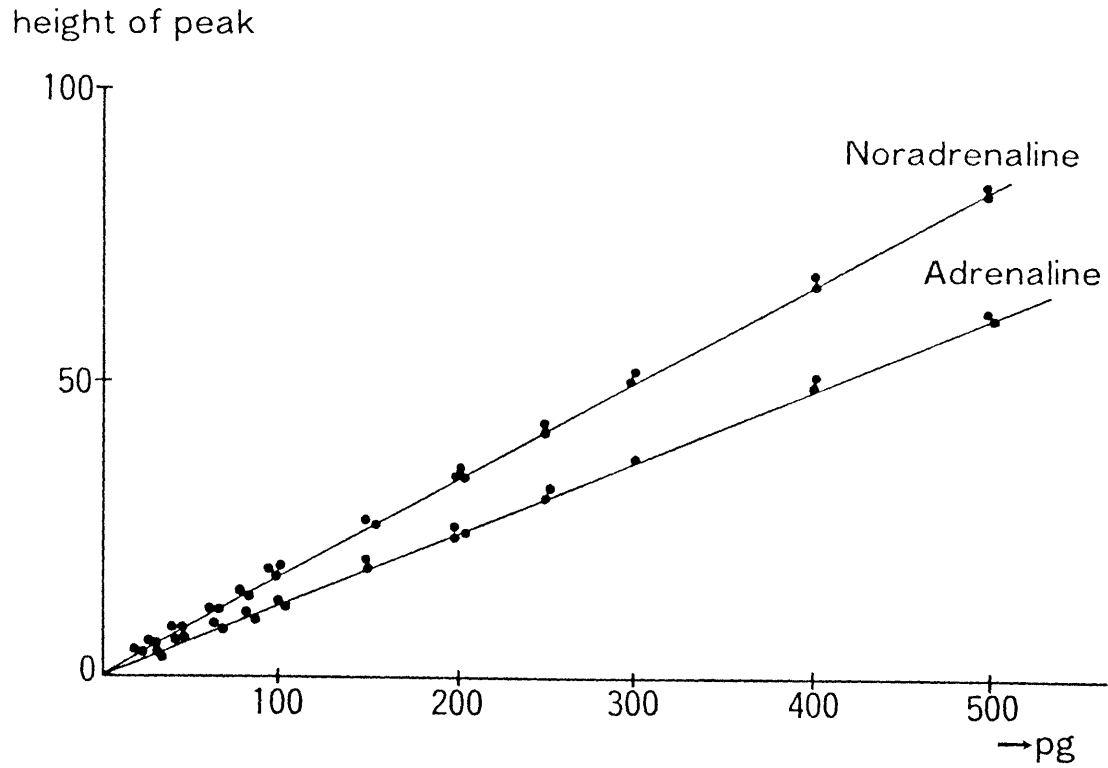


Figure 16  
RELATIONSHIP BETWEEN HEIHT OF PEAK  
AND CONCENTRATION OF ADRENALINE OR  
NORADRENALINE BY HIGH LIQUID CHROMATOGRAPHY



Table 1.  
 CHANGES OF SERUM NORADRENALINE  
 AND ADRENALINE BY SOUND STRESS

	Noradrenaline	Adrenaline
handling	474.2	1396.8
3min.after	400.0	11120.0
stres		
5	449.1	4317.5
7	322.8	2031.8
10	252.6	1930.2
10	294.7	2234.9
15	553.0	2464.0
15	310.4	1415.4
20	561.2	2112.8
20	388.2	2080.0
30	552.9	4280.0
35	323.5	1875.0
40	788.0	5128.2
3hrs	322.8	1930.2

(pg/ml)