

Kazuo Ozawa 著

严律南 主译

氧化还原理论 与现代肝脏外科

中国协和
北京医科大学

联合出版社

氧化还原理论与现代 肝脏外科

Kazuo Ozawa 著

严律南 主译

严律南 李晓武 罗琳 译

吴言涛 审校

北京医科大学
中国协和医科大学联合出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

氧化还原理论与现代肝脏外科/严律南译. —北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995

ISBN 7-81034-574-5

I. 氧… II. 严… III. 氧化还原反应-关系-肝疾病-外科学 IV. R657.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (95) 第 15744 号

氧化还原理论与现代肝脏外科

Kazue Ozawa 著

严律南 主译

责任编辑: 蒋长亨

*

北京医科大学 联合出版社出版
中国协和医科大学

四方计算机照排中心排版

北京昌平精工印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

*

787×1092 毫米 1/32 印张 8.25 千字 183

1995 年 9 月第 1 版 1995 年 9 月北京第 1 次印刷

印数: 1—2000

ISBN 7-81034-574-5/R·572

定价: 12.00 元

译者的话

世界著名的肝脏外科专家小泽和惠博士系日本京都大学医学院第二外科的教授兼主任，是著名的 Redox 理论的创立者。他三十余年来一直从事肝脏线粒体的能量代谢研究，并不断将其研究成果应用于临床，对肝脏外科的发展及肝脏手术的改进作了巨大贡献。近年，其研究成果已推广到急症医学、心脏外科及内科等领域，显示了广泛的应用前景并引起了国际医学界愈来愈大的关注。

译者 1987~1988 年和 1993 年曾两次到京都大学，在小泽教授的亲自指导下进行了研修学习，除了进行日常医疗工作外，尚参加了他们正进行的各种实验及临床研究。因而有幸对小泽和惠教授创立的 Redox 理论的研究及其在肝脏外科的应用有较为全面及深入的理解。由于中国及日本均为肝癌高发区，且 80% 以上伴发肝硬化，因而术后肝功能衰竭的问题导致外科医生多倾向于尽可能缩小手术范围。小泽教授提出在 Redox 理论的指导下，进行肝癌的扩大手术以提高手术切除率及根治率。使我印象特别深的是，他每年平均要作大约 120 例各种肝叶切除术，而且其中许多病例是我们过去认为已失去手术机会的晚期肝癌。对这类病人他仍进行了范围广泛的手术，包括右三叶切除合并肝动脉、门静脉切除重建或下腔静脉切除重建等。而且这些病人术后过程平稳并获得了较长的生存期，这使我不得不非常信服他的 Redox 理论的正确性及实用性。因而回国后，我在国内首先建立了肝脏能量代谢的各种检测指标，并进行了一系列实验及临床研究，

至今已在国内外杂志上及会议上发表了十余篇论文，向国内同道介绍这一理论并希望能以此促进我国肝脏外科的发展。

小泽教授的这本专著以英文撰写于1992年年底出版。在这本专著中，他系统、详尽地阐述了 Redox 理论的原理及其在肝脏外科围手术期的应用，并对肝脏外科扩大手术的观点和依据，以及扩大手术技术特别是血管外科技术在肝脏外科的应用作了重点介绍，同时还对肝移植的最新进展作了介绍。由于国内尚无这方面的专著，我们将此书译为中文，以便让我国同道能较全面和系统地了解肝脏能量代谢的研究及肝脏外科的最新进展，促进我国在这方面研究的进一步开展及肝脏外科的发展。

本书系笔者与李晓武医师、罗琳副研究员合译，吴言涛教授审校。为适应国人习惯，文字上作了部份修改及删减。由于水平有限，恐有损原著精华，恳请各位同道不吝指教。

严律南

华西医科大学附一院外科教授

序 一

曼斯菲尔德·克拉克 (Mansfield Clark) 首先将氧化还原潜能的研究应用于生物学领域。他在多年潜心研究的基础上写成的名著为后来的研究奠定了基础。另一位先驱者米切尔里斯 (Michealis) 在克拉克的基础上开展了用靛青绿染料进行的研究。此后, 这一领域的研究激起了各国学者极大的兴趣, 在 1939 年召开的科德斯普林港 (Cold Spring) 学术会议上涌现了大量的研究报告。第二次世界大战后, 埃里克·鲍尔 (Eric Ball) 进行了对细胞色素 C 的氧化还原潜能的初步测定; 以后, 保罗 (K. G. Paul) 在西奥里尔 (Theorell) 的实验室对此进行了深入的研究。

杜顿 (Dutton)、利 (Leigh) 以及其他学者使用甘汞电极在各种染料的介导下, 成功地对氧化还原体系各组分的氧化还原电位进行了测定, 尤其分析出了各种细胞色素氧化酶具有多价电位这一特性。他们的研究使得这一领域的研究向前跨了一大步。上述研究尚未能阐明氧化还原潜能的功能作用, 后来发明的二元波长技术 (dual wavelength teehnolony) 能测定出呼吸链中的氧化还原状态, 并描绘出呼吸链中电子转移的情况, 因而使对静态潜能的研究发展到对动态潜能的研究。进一步的发展是采用光谱仪测定出了 NADH 的氧化还原状态; 之后由于显微镜及显微方法学的发展, 出现了 NADH 及黄素蛋白荧光测定仪, 从而能更精确地测定出 NADH 的氧化还原状态。此一发现至关重要, 意味着: 由克里布 (Kreb) 和布切尔 (Bucher) 研究小组在试管中测定呼吸载体及基质对的氧

化还原研究方法可以应用于人体进行类似的研究。

另一个划时代的进步是奎斯托夫 (Quisthoff) 发明了 3-D 低温氧化还原扫描技术。这一技术应用于肝脏研究,可测定出黄素蛋白/NADH 对的氧化还原状态,因而为动脉血酮体比率 (AKBR) 与肝脏线粒体氧化还原状态相关提供了“金标准”。京都大学与费城 (Philadelphia) 的国际合作研究开创了临床研究与生化实验室的合作研究的新篇章。

小泽和惠 (Kazue Ozawa) 博士独树一帜,在基础科学研究与人类肝功能测定之间架设了一道桥梁。他不仅认识到肝脏总体功能的重要性,而且还充分认识到在线粒体空间中氧化还原潜能是如何影响肝脏的功能,诸如葡萄糖代谢,尿素生成率等等复杂的功能。而且小泽和惠还在代谢调控的研究中谱写了新的篇章。通常认为线粒体的活性是在 ADP 与无机磷 (Pi) 的水平由 Pi 所调控,而小泽证明了线粒体的活性尚受酶系统的基质水平调控,并指出是因其调控了 NADH 的氧化还原状态。因而,在实验中好不容易才理解的肝过度产能综合征,现在已证实也是移植肝功能衰竭的重要特征。

本书在基础医学与临床医学之间架设了一道桥梁,为从事这两方面的研究的人们作出了巨大的贡献。没有小泽博士先驱性的研究所搭设的桥梁,生物化学用于临床实践便不可能达到今天这样的水平。

Pennsylvania 大学名誉教授
生物化学家及生物物理学家
布里顿·查斯
哲学博士,医学博士,科学博士

序 二

世界著名的外科临床学家可以同时又被称为基础科学家者极少。京都大学医学部外科教授小泽和惠博士所完成的这一著作，乃是集科研与临床于一体、并带有自传性质的专著。本书不仅阐述了有关肝脏线粒体代偿功能的基础研究，而且也介绍了将这一基础研究成果应用于临床，提高了外科病人治疗效果的经验。本书展示了大量的基础及临床研究资料，向我们呈现了一位外科医生既是忙碌的临床学家，又是精细的基础科学家的双重生命。为此，显然需要无私的奉献、严格的训练及平凡而艰苦的劳动。

许多高年资外科医生写过自传，以及极有学术价值的文献，但很少有人能象小泽和惠博士如此成功地将两者融为一体。他的文风朴实、用词准确，用简炼的语言表达了复杂的生化概念，并采用大量的图表使之更简明易懂。他娴熟地引导读者跟随其思路，从最初的临床问题进入实验室研究，又将实验研究所获的成果应用于临床，从而取得更好的疗效。当代很少有临床外科学家能象小泽和惠博士那样卓有成效地在临床工作与实验室研究之间架设这样一座不朽的桥梁。这在多年来外科医生进行基础研究一直受到怀疑的日本，尤其具有特殊意义。小泽和惠博士作为一位先驱者将日本医学推进到现代医学前列。

小泽和惠博士作为一名神经外科医生开始了他的研究生涯。在对脑损伤后脑水肿的机理研究方面，他创造了许多有价值的研究手段，为后来普通外科尤其是肝损伤的研究打下

了良好的基础。在这个领域里，他特别选中了肝功能衰竭的代谢问题。在小泽和惠博士的研究生涯中关键的一步是他早年与 Pennsylvania 大学查斯博士 (Dr. Chance) 的合作。这一合作使动脉血酮体比率与能荷的关系得以彻底阐明，正是在这一关系被彻底阐明后，肝脏的能量不足及氧化还原潜能之间的关系才得以科学地证明。

小泽和惠博士作为一个临床科室的主任，承担了培养学生和住院医生的任务。他把从复杂的实验室中获得的实用的结论，用简明扼要的方式授予学生用于实践。例如教给他们如何通过使用动脉血酮体比率来监护术后病人，以确定使用机械呼吸的指征；对肝功储备不良的病人应该如何决定葡萄糖输注的速度。

也许有临床外科医生会怀疑，潜心于基础科学研究，是否会影响临床实践。这一疑虑是完全不必要的，只要读一读小泽和惠博士叙述的对京都地区大量伴发肝硬化、门脉高压的肝脏肿瘤病人进行的手术病例，便可以了解其极为丰富的临床经验。在积累了多年的肝叶切除的临床经验后，小泽和惠博士近来又开始涉足于从活体供者身上获取肝叶或肝段进行肝移植。另一方面，他又使用在肝移植中得到的经验和技术的改进更为常用的肝癌肝叶切除，而后者在日本具有更大的实用性。

从书中可以看出，作者既是一位卓越的临床学家，也是一位品格高尚的人。他并不忌讳把失败的病例公之于众。对一位病变范围较宽但仍有治愈希望的年轻病人，在反复讨论后决定手术。手术取得了成功。但一个似乎是微不足道的并发症，很快导致了第二次手术，接着是第三次；以至在 10 个星期内先后共作了 23 次手术，整个治疗过程十分艰辛。但是，

博士认为，既已决定拯救这位尚有潜在治愈希望的病人的生命，就不应中途放弃。他取消了预定到美国的讲学，留下来完成已经开始的工作。只有同行才能理解一位外科大夫身处此种困境的心情。坦然承认这项抢救带给他体力和精神的巨大折磨，未使他的威信下降，反使人们对他更为敬重。

小泽和惠博士向我们展示了一位现代国际外科学家的典范。他几乎访遍世界各地的肝脏外科中心，去交流或讲学；更不同凡响的是他与世界各地开展了积极的合作研究。小泽和惠博士的性格和才智吸引了大量的学生，他无私地将他的学生带到世界各地去学习和研究，将这些热情奋进的年青同行像花粉一样撒在他认为适合他们成长的土地上。其结果是，京都的医学工作者与 Denver、Pittsburgh、Baltimore、Pennsylvania、Cologne 及 Hannover 等大学或医学院的外科医生建立了许多正式合作研究项目，建立了京都大学和世界许多肝脏中心之间卓有成效的横向联系。

这本独树一帜的著作达到了两个目的：它是生物化学及临床外科的学术专著，详述了肝脏外科这个最具挑战性的领域；同样重要的是本书为胸怀大志的外科医生提供了一个榜样。他通过谦逊和坦率的语言告诉我们，一个外科医生只要具有才智和训练，便可同时成为一名基础科学家及临床外科科学家，做出不凡的贡献。

Colorado 大学名誉教授（外科）

本·埃森曼 博士

前 言

简言之，外科医生的职责就是切去和消除病灶。但倘若一位外科医生过份相信自己的手术刀，就会成为自负的牺牲品，因为科学的进步已使我们不能再仅仅依靠手术刀来维持外科医生的荣誉了。当病人把自己的生命托付给外科医生时，外科医生的神圣职责是不遗余力地发展和创造新的技术来使之所施行的手术尽可能的安全可靠。诚然，要发展或创造一种新的技术并成功地应用于临床，并非易事，这正是我多年来梦寐以求的。我确信不能依靠直觉和经验，而只能依靠长年累月的全身心的奉献，并严格地科学地获取依据，极为重要的是要不断掌握其它领域的科研成果，并时时考虑是否可将其移植到外科，从而促进外科的发展。对过去病例的回顾分析是有价值的，但是更重要的是要面对目前的每一例病人，要作前瞻性的研究以探索更有效的外科处理方法。

外科医生在手术台上常常遇到进退两难的困扰，迫使我们必须进行前瞻性的研究。这不仅是为了解决个别病人的具体问题，更重要的是必须通过系统研究来从根本上解决我们所面临的实质问题，从而使对这一类病人的治疗能达到新的水平。35年前，我第一次想到将我对线粒体的研究应用于临床领域时，便萌生了这一观点。多年来遭受过无数挫折，我也曾对自己产生怀疑，并自责说：“这类工作真该由一位基础科学家来做，你能肯定你的工作是科学吗？这也许不是真正的科学研究者应作的工作”。但是，镇静下来后，我又鼓励自己：“走自己的路，我仍是一名外科医生，不过是正在尽最大

的努力通过研究来改进临床外科的治疗手段罢了”。这样的对话在研究过程和临床实践中曾反复在我内心出现。当然 35 年来，尽管保持了坚定信念，但是 35 年的前进道路上并非一直洋溢着自信，而是充满了自我怀疑。正因为我一直与怀疑作斗争，我才取得了今天的成绩。

在肝脏外科领域里，我们之所以选择肝癌伴肝硬变的病人施行肝叶切除术和晚期肝病病人施行肝移植手术，乃是基于我们对肝脏在整个机体代谢、循环、防御及免疫系统中具有重要作用的充分认识。没有这一认识，肝脏外科不可能取得显著的进步。肝脏不断地进行大量的代谢过程以完成其复杂功能，而我们不可能依靠分析所有的代谢过程来评价其功能，这是麻烦之所在。但我们认识到，肝脏完成每一个代谢过程均需要耗能，代谢过程能否正常进行，取决于肝细胞中的能荷能否维持于恒定的水平；细胞代谢的一大特点便是当能量需求增加时，线粒体便会增加产能而代偿，这便是线粒体的作用。所有生命器官的细胞中均存在线粒体，其作用均在于产生足够的能量来维持该器官本身的功能。例如，心脏的线粒体需要产能以维持心跳，肾脏的线粒体需要产能以维持产生小便。相比之下，肝脏的线粒体产能的作用远远超过了维持其本身器官的功能，由于肝线粒体与葡萄糖乳酸盐循环 (Cori 循环)、葡萄糖-丙氨酸循环、尿素循环等有关，因而成为其维持其他重要生命器官代谢作用的中心。

大约 25 年前，当我初次萌生如上所述的肝脏线粒体在维持生命的过程中具有比其他器官线粒体重要得多的作用这一设想后，我开始全身心地投入证实这一设想的基础与临床研究工作，并最终创立了“氧化还原理论 (Redox Theory)”。简言之，氧化还原理论即为“当肝脏线粒体的 NAD^+/NADH 比

值下降时，动脉血酮体比率（AKBR）也随之下降，此时机体的生命过程便受到了威胁”。氧化还原理论的临床价值还在于，我们从临床研究所获得的一系列成果，不仅应用于肝脏外科，而且已推广应用于急症医学，心脏外科及内科领域。

然而，我们当时仅仅从积累的临床资料中证明了 AKBR 下降会导致多器官衰竭（MOF）这一事实，以及 AKBR 可反映肝脏的 NAD^+/NADH 比值，但由于我们一直未能直接证实其是否真正与 ATP 合成能力一致，我一直感到不安，甚至开始怀疑这一理论的科学性。最近，这一疑问终于得以解释。我们把从京都大学医院获取的肝组织标本送到美国 Pennsylvania 大学查斯教授的实验室进行分析，证实了当 AKBR 下降时，肝线粒体的电子传递系统的电子流动速度降低，同时 ATP 合成能力降低。换言之，这一结果直接证明了 AKBR 准确地反映了肝脏线粒体的代谢功能。我等待了 30 年，终于有幸证实了氧化还原理论的科学性。这使我有信心撰写此书以阐明以肝脏线粒体为中心并作用于全身的氧化还原理论。

人们通常认为，如果一个人花费了多年的心血，分析大量的住院病例，以求证明一个假设，他终将会获得成功。但是，如果一个外科医生从事基础研究，企图以此解决临床中的疑惑或促使外科临床实践的发展，则他的努力有可能冒徒劳无益的风险。欲越过自己的本行去探索外科学中更深入的领域的外科大夫，常常难以摆脱这种内心冲突。我非常乐意将自己的经历编纂成书，献给同怀此梦的外科医学工作者。

小泽和惠

1992 年春于京都

引言 从线粒体到肝移植

二十年前，当我醉心于线粒体的研究时，朋友们反复告诫我：临床外科医生应把全部精力放到手术技术的训练上，而不应去关心线粒体的研究。但我并未放弃我古怪的念头，坚持在线粒体的领域中进行探讨。近 10 年来，世界上外科研究领域发生了巨大变化，人们的观念已开始改变，能量代谢的研究已开始受到关注，特别是在胃肠外科。能量代谢、线粒体、能荷等已渐为人们所熟悉，成为国际医学界的热门话题。在能量代谢的研究方面不断地涌现的新课题及新研究成果已在外科医生面前展示了其无限的前景。

在京都大学医学院第二外科全体同事的协助下，我在肝脏能量代谢的研究中所获取的成果足以证明我对医学的贡献。在这篇引言中，我愿简短的回顾一下过去 30 年中我们的线粒体研究工作所经历的艰辛过程，并让读者了解，在当初的情况下，我们是如何克服各种困难而向前发展的。在此，我向那些在困难中给我帮助的人们，包括许多著名的科学家（下面我将会提到他们的名字），表示由衷的感谢。没有他们的帮助，我不可能获得现在的成功。

一、早期的研究

我对线粒体的研究始于 30 年前。当时我刚毕业于京都大学，来到 Araki C 教授主持的第一外科，接受神经外科的住院医师训练。病室共有 80 张床位，但许多病床被术后脑水肿及颅内高压的病人长期占用。因而，我的第一个研究题目是：脑水肿机理的生化分析。这个研究开始了我后来的线粒体研究

工作。两年后，我到生化专业攻读学位。生化教研室的 Hayaishi O 教授曾在美国国立健康研究所工作，因发现了氧化酶而闻名于世，当年他才 38 岁。Hayaishi 教授介绍给我们全新而动态的生物化学，这使我特别振奋。自从我跟随 Hayaishi 教授工作后，我才体会到科学信徒的真正含义。

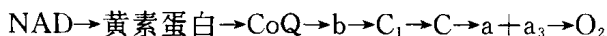
对脑水肿机理的探讨导致了我对线粒体的研究，随着对脑水肿生化改变的逐步深入了解，我逐渐认识到呼吸对代谢影响的重要意义。临床家们都熟悉术中、术后给氧的重要性，由于大脑对缺氧异常敏感，只要缺氧超过 20min，便会发生脑水肿及不可逆的意识丧失。但当时对意识丧失的机理尚不清楚，因而我设想：缺氧时，因线粒体被剥夺了分子氧的供给，使 ATP 的产生停止，而导致脑水肿的发生。从而我第一次在神经外科与线粒体的研究之间架起了一座桥梁。

此期间，著名生化学家、生理学家及生物能领域的先驱者 Britton Chance 博士提出了一个新的线粒体研究的测定标准。他采用呼吸控制比 (respiratory control, RC) 来反映游离的线粒体在原位状态时的情况，RC 即第三相呼吸状态与第四相呼吸状态间的比率。第三相呼吸状态由 ADP 调节，当对游离的线粒体提供基质和无机磷 (P_i) 时，线粒体消耗氧而产生 ATP，即 $ADP + P_i \rightarrow ATP$ ；当提供的 ADP 全部转变为 ATP 后，耗氧停止，ATP 产生也停止，此时即为第四相呼吸状态。线粒体在正常情况下具有无限的呼吸能力，但通过分离过程此能力将受到一定损伤。因此通常认为得到 RC 大于 10 的线粒体才能基本上反映正常状态下线粒体的功能，而 RC 小于 10 则不能用于研究。

当时，要成功地获得较高 RC 的游离线粒体成了一个难题。在脑水肿的实验研究中我终于发现，脑组织暴露于空气

中会导致脑水肿。因此，我们创立了在数秒钟内取出脑组织的技术。同时我们尝试了用各种缓冲液来保护游离的线粒体，从当时常用的蔗糖溶液一直到 Mannital 溶液。终于我们得到了 RC 在 10 以上的游离的线粒体。由于脑组织线粒体对缺血特别敏感，我们的新技术克服了线粒体研究中的一个巨大障碍，革新了脑线粒体的研究。此期，我们发表了一系列研究报告。

不久，我们又面临一个新的困难。尽管我们能获得较高 RC 的线粒体，但我们在分析脑线粒体中电子传递系统的成份时则毫无进展。通常，线粒体的功能主要借助于三羧酸循环及脂肪酸氧化过程来氧化基质，此过程中释放的氢离子进入电子传递系统传递，最后与氧分子结合成水，其传递步骤如下：



这些电子传递系统中的各组分在缺氧时减少，并可在特殊的吸收波长区域显示。Chance 博士利用这一特性设计了双光束分光仪 (double-beam spectrometer)，借助该仪器，可以根据氧化还原的差异来分析出高 RC 游离线粒体的电子传递系统中各种成份的改变。但当时只有 Chance 博士的实验室才有该仪器，我们只好望洋兴叹，无法探讨线粒体的秘密。不久，几乎所有的领先研究均陆续在 Chance 博士的实验室顺利进行。后来，他赠送了一台双光束光谱仪给他的一位日本同事——大阪大学的 Hagiwara B 博士。由于 Hagiwara 博士知道我对线粒体研究的兴趣，因此，邀请我参加他实验室的研究工作。自此我们的线粒体研究工作得以长足进展。

除了神经外科的临床工作，我积极进行了脑水肿及脑线粒体的研究。我们的研究证明了脑水肿乃因脑线粒体的产

能和耗能失去平衡所致，进而又证明了内源性脂肪酸在脑线粒体积聚是脑水肿的主要原因之一。这一发现对我们后来进行的线粒体研究有很大的帮助。此期间，我加入了神经外科研究会，发表了大量的文章，获得同道的好评。

二、从神经外科到肝脏外科

在是否继续选择神经外科作为我的终身职业的问题上，我陷入了进退两难的局面。我认为，只有将我的研究应用于临床，才能显示它的真正价值，我迫切希望将脑线粒体的研究与临床工作紧密结合起来。但我开始认识到要做到这一点极为困难，因为即使我建立了临床应用的可能性，我将不可能合法地获取人的脑组织标本进行测定。这是我一生的关键时刻，我陷入深深的困惑之中，是继续当脑外科医生还是改换门庭以寻求我的研究的出路？最后，我终于决定选择了可以将我的研究应用于临床而完成我的梦想的道路，从神经外科转到了胃肠外科。

在新的职业中，我的第一个研究课题是从能量代谢的角度研究急性胰腺炎的病理。我首先建立了从胰腺分离高RC的游离线粒体的技术，随后证明了急性胰腺炎系因线粒体膜被磷脂酶损害，因而能量代谢发生紊乱，继之溶酶体破裂，溶酶体酶逸出及脂肪酸增加，导致了胰腺的广泛损害所致。

不久，肝脏外科成了我兴趣的主要焦点，从而开始了 I 后来的一系列研究。1970 年左右，日立电器公司在 Chance 博士的双光束光谱仪的基础上生产出新的双束光谱仪（Model 356）。此仪器对我们的线粒体研究尤其是肝脏线粒体的研究发挥了很大的作用。

三、国际合作研究

1. 休克的研究 我的第一次国际合作研究是在我接受了