

学 位 論 文 題 名

Selective Portal Vein Embolization with Absolute Ethanol Induces Hepatic Hypertrophy and Makes More Extensive Hepatectomy Possible

(肝切除区域の拡大を目的とした無水エタノールによる
選択的門脈塞栓術の効果)

学位論文内容の要旨

I. 目 的

本邦における肝細胞癌患者の多くは慢性肝炎あるいは肝硬変を合併しており、過大な肝切除によって術後肝不全が惹起されることがある。門脈塞栓術は、切除予定肝を萎縮させ残存肝の代償性肥大をもたらすことによって切除後の肝機能を温存することを目的として行われ、術後肝不全の危険性を軽減するために有用であるとされている。無水エタノールは強い細胞破壊性を持つことが知られており、門脈塞栓術に応用することによってより確実な肝萎縮効果を発揮することが期待されるが、これに関する基礎的研究は報告が少ない。ラット肝を用い、無水エタノールを用いた門脈塞栓術によって引き起こされる肝再生ならびに病理組織学的変化を検討した。

II. 方 法

1. 実験材料 実験動物として雄性Wistar系ラット(体重220-380g)を用いた。門脈塞栓術には99.5%に調整された市販の無水エタノールを用いた。S期細胞の標識には米国シグマ社製の5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)を使用した。
2. 実験群 門脈塞栓術に少量の無水エタノール(0.6ml/kg)を用いたE1群、大量の無水エタノール(1.2ml/kg)を用いたE2群、同じ肝葉を切除したH群の3群に分けて実験を行った。肝重量および血液検査の正常対照として無処置ラット(n=11)を用いた。
3. 選択的門脈塞栓術および肝部分切除術 ジエチルエーテル麻酔下を開腹後、E1およびE2群では肝門部門脈を剥離して左内外側葉枝を露出、門脈本幹より挿入した30Gリンパ管造影針の先端を同枝内で結紮固定し、血流遮断下に無水エタノールを注入した。10分間の血流遮断後、結紮を解除し抜針した。H群では、Higgins and Andersonの方法により左内外側葉を切除した。各群とも、術後1,3,7,14日後にそれぞれ5~6匹を犠牲死させた。このとき、経静脈的にBrdU 50mg/kgを投与し、その1時間後に再開腹、腹部大動脈より採血した後に肝を摘出した。塞栓葉、非塞栓葉、切除後残存葉の肝重量を測定し、一部は凍結保存し、残りの部分は10%ホルマリンで固定後、Hematoxylin-Eosin染色を行い病理組織学的検索を行った。
3. 生化学的および血液学的検査 肝機能の推移を評価する目的で、血清中の総タンパク、総bilirubin(T-bil)、AST、ALT、LDH、choline esterase(ChE)、ヒアルロン酸濃度を測定した。一般血液検査として、赤血球数、白血球数、血症板数、プロトロンビン時間(PT)、ヘパラスチンテスト(HPT)を測定した。

4. 肝再生の評価 対照ラットにおける体重と各肝葉重量との相関を検定し、これによって得られた校正線を用いて実験群における術前肝重量を推定した。門脈塞栓および切除後の肝重量増加(LWI)を、(術後重量-術前推定重量)/(術前推定重量)と定義した。再生肝におけるS期細胞比率は、BrdU標識率と核DNA量によるtwo color flow cytometry を用いて測定した。

5. 統計学的処理 得られた数値はすべて平均値±標準偏差で表し、二群間の有意差検定にはt-test、相関係数の検定には Pearsonの有意差検定を用い、 $p<0.05$ を有意とした。

III. 結 果

1. 合併症と死亡率 H群では術後合併症と死亡例はなかった。E1群とE2群の術後死亡率はそれぞれ16.7%および30.0%であり、その死因は剖検の結果出血あるいは急性循環不全がおもなものであった。急性肝不全の所見は認められなかった。

2. 肝再生の評価 門脈塞栓後、E1およびE2群では塞栓葉重量は速やかに減少し、対照的に非塞栓葉重量は増加した。術後1日のLWIはE2、H群でそれぞれ 0.37 ± 0.18 、 0.63 ± 0.21 とE1群の 0.12 ± 0.06 よりも有意に高値であった($p<0.05$, $p<0.01$)。しかし、14日にはE1、E2、H群のLWIはそれぞれ 1.67 ± 0.73 、 1.77 ± 0.27 、 1.69 ± 0.15 となり、各群間に有意差を認めなかった。術後1日のS期細胞比率はE2、H群でそれぞれ $17.9 \pm 15.1\%$ 、 $12.3 \pm 7.04\%$ と術前の $3.20 \pm 4.39\%$ に比して有意に上昇したが、E1群での上昇は有意ではなかった。これらは1日をピークとして急速に低下し、3日以降各群間に有意差を認めなかった。

3. 病理学的検討 肉眼的に塞栓葉には区域状あるいは斑状の壊死を認め、その範囲はE2群の方がE1群より大きかった。壊死組織の吸収と、非塞栓葉の代償性肥大は日を追って著明となり、14日には塞栓葉には少量の残存肝実質を残すのみとなった。顕微鏡的には、E1、E2両群ともに新鮮血栓による門脈の完全閉塞が認められ、末梢枝まで塞栓されていた。E2群ではほとんどの小葉肝実質が壊死に陥っていたのに対し、E1群では門脈から離れた領域に健常肝細胞が残存していた。再生肝における核分裂像はすべての群で同様に観察された。3日にはE2群のみで末梢胆管の破壊によると思われる胆汁漏出がみられた。7日には壊死組織周囲の肉芽形成と門脈内血栓の基質化が観察されたが、門脈の再疎通は14日でも認めなかった。

4. 生化学的および血液学的検査 血清AST、ALT濃度は門脈塞栓直後に急激に上昇したが、その後速やかに下降し術後7日には正常化した。E2群の血清LDH、ChE濃度は1日のみで 31.1 ± 18.6 、 18.6 ± 5.3 とE1、H群に比し有意に高値を示した($p<0.05$, $p<0.01$)。血清ヒアルロン酸濃度の推移は各群間で有意差を認めなかった。E2、H群のPTは1日のみで 55.3 ± 5.7 、 57.3 ± 18.0 とE1群の 83.2 ± 7.3 に比し有意に低下した($p<0.05$, $p<0.0005$)。E2群のHPTは7、14日で 77.2 ± 20.6 、 93.0 ± 29.0 とH群の 56.3 ± 9.0 、 62.0 ± 12.6 よりも有意の高値を示した($p<0.05$)。いずれの変化も一過性であった。

IV. 考 察

無水エタノールは強い細胞破壊性を有する一方、低い粘性および高い組織浸透性と希釈されると無害になるという特徴を有し、扱いやすい塞栓物質である。ラット肝においてエタノールを用いて門脈を塞栓すると、完全かつ不可逆的な門脈閉塞をもたらすと同時に、肝組織は広範かつ急速な壊死を起こし、その範囲は大量を用いたほうが大きかった。しかし、最終的に得られた非塞栓葉の代償性肥大はエタノール用量の多寡に関わらず肝切除とほぼ同等であった。肝細胞破壊によって逸脱したAST、ALTの上昇は一過性であり、肝切除と比較しても重大な肝機能障害はみられず、残存肝機能は良好に維持された。大量のエタノールを用いた群では、末梢胆管の破壊が見られ、死亡率が高かったため、必要最小量のエタノールを用いるのが安全と考えられたが、至適注入量の決定にはさらに検討を要する。以上、エタノール門脈塞栓術は非塞栓葉の代償性肥大により残存肝機能を温存し、より広範な肝切除を可能にする有用な手段であると考えられた。

V. 結 語

1. 無水エタノールを用いた門脈塞栓術は、完全な門脈閉塞と肝実質壊死をもたらし、その結果として肝切除に相当する代償性肥大を得ることができた。
2. 肝細胞破壊の程度はエタノール注入量に依存したが、最終的に得られる肝再生は容量の多寡によらず同等であった。
3. 本法による肝機能障害は肝切除と比較して軽度であり、残存肝機能を良好に温存した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 長 嶋 和 郎

副 査 教 授 内 野 純 一

副 査 教 授 加 藤 紘 之

学 位 論 文 題 名

Selective Portal Vein Embolization with Absolute Ethanol Induces Hepatic Hypertrophy and Makes More Extensive Hepatectomy Possible

(肝切除区域の拡大を目的とした無水エタノールによる
選択的門脈塞栓術の効果)

肝細胞癌患者の多くは慢性肝炎・肝硬変を合併しており、過大な肝切除によって術後肝不全が惹起されることがある。門脈塞栓術は、切除予定肝を萎縮させ残存肝の代償性肥大をもたらすことによって切除後の肝機能を温存することを目的として行われ、術後肝不全の危険性を軽減するために有用であるとされている。無水エタノールは強い細胞破壊性を持つことが知られており、門脈塞栓術に応用することによってより確実な肝萎縮効果を発揮することが期待されるが、これに関する基礎的研究は報告が少ない。ラット肝を用い、無水エタノールを用いた門脈塞栓術によって引き起こされる肝再生ならびに病理組織学的変化を検討した。

研究方法：実験動物は雄性Wistar系ラット(体重220-380g)を用い、門脈塞栓術には99.5%に調整された市販の無水エタノールを用いた。門脈塞栓術に少量の無水エタノール(0.6ml/kg)を用いたE1群、大量の無水エタノール(1.2ml/kg)を用いたE2群、同じ肝葉をHiggins and Andersonの方法で切除したH群の3群に分けて実験を行った。肝重量および血液検査の正常対照として無処置ラット(n=11)を用いた。E1およびE2群では肝門部門脈を剥離して左内外側葉枝を露出、門脈本幹より挿入した30Gリンパ管造影針の先端を同枝内で結紮固定し、血流遮断下に無水エタノールを注入した。各群とも、術後1,3,7,14日後に肝重量測定、病理組織学的検索、生化学的および血液学的検査を行った。肝重量増加(LWI)は、(術後重量-術前推定重量)/(術前推定重量)と定義した。再生肝におけるS期細胞比率を、BrdU標識率と核DNA量によるtwo color flow cytometryを用いて測定した。

研究結果：E1群とE2群の術後死亡率はそれぞれ16.7%および30.0%であり、その死因は剖検の結果出血あるいは急性循環不全がおもなものであった。門脈塞栓後、E1およびE2群において塞栓葉重量は速やかに減少し、対照的に非塞栓葉重量は増加した。術後1日のLWIはE2、H群でE1群よりも有意に高値であった。しかし、14日にはE1、E2、H群のLWIには有意差を認めなかった。術後1日のS期細胞比率はE2、H群で術前に比して有意に上昇したが、E1群での上昇は有意ではなく、3日以降各群間に有意差を認めなかった。肉眼的には、塞栓葉には区域状あるいは斑状の壊死を認め、その範囲はE2群の方がE1群より大きかった。顕微鏡的には、E1、E2両群ともに新鮮血栓による門脈の完全閉塞を認め、末梢枝まで塞栓されていた。E2群ではほとんどの小葉肝実質が壊死に陥っていたのに対し、E1群では門脈から離れた領域に健常肝細胞が残存していた。再生肝における肝障害は認めなかった。3日にはE2群のみで末梢

胆管の破壊によると思われる胆汁漏出がみられた。7日には壊死組織周囲の肉芽形成と門脈内血栓の基質化が観察されたが、門脈の再疎通は14日でも認めなかった。血清AST、ALT濃度は門脈塞栓直後に急激に上昇したが、その後速やかに下降し術後7日には正常化した。E2群の血清LDH、ChE濃度は1日のみでH群に比し有意に高値を示した。血清ヒアルロン酸濃度の推移は各群間で有意差を認めなかった。E2、H群のPTは1日のみでE1群に比し有意に低下した。E2群のHPTは7、14日でH群よりも有意の高値を示した。いずれの変化も一過性であった。

エタノールによる門脈塞栓術は完全かつ不可逆的な門脈閉塞をもたらすと同時に、肝組織は広範かつ急速な壊死を起こし、その程度は用量に依存した。しかし、最終的に得られた非塞栓葉の代償性肥大はエタノール用量の多寡に関わらず肝切除とほぼ同等であった。肝切除と比較しても重大な肝機能障害はみられず、肝機能は良好に維持された。以上より、エタノール門脈塞栓術は非塞栓葉の代償性肥大により肝機能を温存しつつ、より広範な肝切除を可能にする有用な手段であると結論した。

審査にあたって、加藤教授より塞栓物質の選択理由ならびに臨床応用上の問題点などについて、小柳教授よりエタノールによる合併症について、小山教授より肝再生に要する期間ならびに障害肝モデルでの可能性について、長嶋教授より実験群の設定、塞栓区域に残存した組織の量的評価について、などの質疑があったが、申請者はおおむね妥当な回答を行った。

エタノール門脈塞栓術に関する基礎的研究の報告は少なく、病理組織学的変化と肝機能の推移を経時的に観察し、肝再生を量的に評価したのは本研究が初めてである。エタノール門脈塞栓術の臨床応用を想定した本研究によって同法の効果が明らかとなった。以上の点から本論文は学問的に高く評価され、学位（医学）の授与に値するものと考えられる。