

学位論文題名

肝膵同時切除ラットモデルを用いた切除限界の検討

学位論文内容の要旨

I. 緒 言

進行胆道癌の外科治療成績の向上のため、胆道病変とともに隣接する肝と膵を一期的に切除する、いわゆる肝膵同時切除術(HPx)が施行されるようになった。HPxは種々の肝切除量と膵切除量の組み合わせから成り立っており、臨床では肝の切除量が大きくなるほど手術成績が不良である。

手術の安全性に課題を残すHPxについて、実験モデルを確立して生体への影響を解明する必要がある。現在、ラットのHPxモデルは報告者によって肝膵の切除量が異なっているが、その根拠が不明で生体への侵襲の程度も評価されていない。

そこで申請者は、本研究で肝膵それぞれの切除量を変化させてラットのHPxモデルを確立し、各モデルの術後成績、切除限界を詳細に検討した。

II. 対象と方法

1. 実験動物：体重200～230g、7週齢の雄性ラットを用いた。

2. 肝切除術(Hx)と膵切除術(Px)の設定：70%Hxとして左外側葉+中葉肝切除、80%Hxとして70%Hx+右外側上葉肝切除、90%Hxとして80%Hx+右外側下葉肝切除、そして60%Pxとして胃区域+脾区域膵切除、90%Pxとして60%Px+十二指腸区域膵切除を行った。ラット24匹を用いて肝臓と膵臓を区域ごとに切除し、上記の3種のHxと2種のPxの実際の切除率を確認した。

3. HPxモデルの作成

HxとPxの組み合わせにより6種のHPxモデルを作成し、術後3日目まで20%ブドウ糖溶液を、その後標準固形飼料と飲料水を自由に摂取させた。

4. 各モデルの手術成績

術後6時間生存を手術成功とし、手術成功率、麻酔時間、出血量を求めた。

5. 術後成績の検討

ラットの生死、体重の推移、血糖値の推移を観察し、術後28日に腹部大動脈血と肝ならびに膵を採取した。採取した血液からグルカゴンとインスリンをRIA二抗体法により、GPTと総ビリルビンは酵素法により測定した。肝ならびに膵は重量再生率算出のために湿重量を計量した後、Hematoxylin-Eosin染色し組織学的検討に供した。

6. 統計学的検定方法

数値の検定はANOVAを用い、危険率5%未満を有意差ありとした。Post hoc検定方法は目的に応じて、70%Hxまたは60%Pxないし90%Pxを対照としたDunnett法、またHPxモデル間の多重比較にはScheffe法を用いた。確率の検定にはFischer's exact probability testを用いた。

III. 結 果

1. 各HxとPxの切除率

本研究における実際の平均切除率は予定の切除率とほぼ一致した。

2. 手術成功率, 出血量と麻酔時間

手術成功率は, 90%Hx+60Pxと90%Hx+90Pxモデルでそれぞれ66.7%, 51.6%と低かったがその他は80%以上であった。術中出血量は出血が最も多い90%Hx+90Pxモデルでも平均0.62gと少なかった。麻酔時間は手術時間に呼応してばらつきがあった。

3. 遠隔成績

80%Hx+60Pxモデルの術後28日生存率が53%で, これより良好なモデル(70%Hx+60Px, 70%Hx+90Px), 不良なモデル(80%Hx+90Px, 90%Hx+60Px), そして術後3日目までに全例死亡するモデル(90%Hx+90Px)の4つに分かれた。肝切除率が高くなるほど生存率が低下したが, 脾切除率に同様の傾向を認めなかった。全69例のHPxラットの死亡例のうち62例(89.9%)が術後3日までに集中しており, それ以降の死亡例発生率との間に有意差があった($p<0.01$)。

4. 体重の推移

70%Hxに比べすべてのHPxモデルの体重は有意に低く推移した($p<0.05$)。しかし, 60Pxモデルと比較すると70%Hx+90Pxモデルのみ体重が有意に低かった。HPxモデル間の比較では70%Hx+90Pxモデルの体重が70%Hx+60Pxモデルに比べ有意に低かった。

5. 血糖値の推移

脾切除率が90%のHPxモデルの血糖値のみ正常対照の70%Hxモデルに比較して有意に高く推移し($p<0.05$), 高血糖を呈した90Pxモデルに比べ有意に低く推移した($p<0.01$)。

6. 肝ならびに脾の重量再生率

肝再生率では3種のHPxモデルがHxモデルより有意に低く($p<0.05$), 脾再生率ではHPxモデルがPxモデルよりも高くなる傾向を認めた。

7. 術後28日の肝ならびに脾の組織学的所見

28日生存したHPxモデルの肝組織, 脾組織には構造異型を認めず, 変性所見も少なかった。

8. 術後28日の生化学的所見

血清インスリン濃度と血清総ビリルビン値に有意な所見はなかった。血漿グルカゴン濃度はHPxモデルが60Pxモデルに比して有意に高値であった。GPTは100IU/lを越えるほどの異常値を呈するHPxモデルはなかったが, 90Px併施のHPxモデルで70%Hxモデルに比して有意に高値であった。

IV. 考 察

本研究で作成した6種のHPxラットモデルのなかで, 手術成功率ならびに遠隔成績が極めて不良なものを除外し, 肝切除率が70%と80%で脾切除率が60%と90%の組み合わせからなる4種が実験モデルとして成立すると考えられた。28日生存率から安全な切除の限界は70%Hx+90Pxであった。同程度の切除限界の結果が雑種成犬を用いて報告されているが, それでは肝切除率が70%を越えるHPxモデルが作成されず, 脾切除率が92%を越えるHPxモデルとの比較で限界が示された。本研究で脾切除率よりも肝切除率の高低が生存率に影響を及ぼすことが示唆されたので, 本研究により初めて正確な切除限界が導かれたと思われる。

術後死亡例が早期に集中したが, 術後28日生存したHPxモデルは切除限界を越えるものでも組織学的および生化学的所見で肝あるいは脾単独切除モデルに匹敵する結果を示した。したがって, 手術成績を左右するのは術後早期の病態であり, その時期を乗り越えれば形態的, 機能的回復が期待できることが示唆された。

臨床におけるHPxの脾切除率は40~50%であり, 明らかな脾機能の脱落は起こらないが, 脾由来のHepatotropic factorの失調が肝再生遅延あるいは術後肝不全などの原因となる可能性が考えられている。脾切除率が臨床に近い80%Hx+60Pxモデルは, 生存率が50%と切除限界を越えるものの一定の生存が得られたことから, 臨床に外挿し得るHPxモデルとして耐術能などの検討に適していると考えられた。

V. 結 論

1. 70%および80%Hxと60%および90%Pxの組み合わせによる4種のHPxラットがモデルとして成立すると考えられた。
2. 切除限界は70%Hx+90%Pxであった。また、術後生存成績には脾切除率より肝切除率が影響すると考えられた。
3. 術後早期に死亡例が集中し、この時期を乗り越えると限界を越えるHPxにおいても肝、脾が形態的、機能的に回復することが示唆された。
4. 80%Hx+60%PxはHPxの安全性を検討するうえで有用なモデルになると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 内 野 純 一
副 査 教 授 長 嶋 和 郎
副 査 教 授 小 池 隆 夫
副 査 教 授 加 藤 紘 之

学 位 論 文 題 名

肝臓同時切除ラットモデルを用いた切除限界の検討

進行胆道癌に対する外科治療成績の向上を目指して、胆道病変とともに隣接する肝と脾を一期的に切除する肝臓同時切除術 (HPx)が行われるが、合併症発生率、死亡率が高い。そこで申請者は肝・脾の切除量を変えた種々のラットHPxモデルを確立し、術後成績、特に切除限界を検討した。

対象と方法：実験動物に7週齢のWistar雄性ラットを用いて、肝単独切除(Hx)として70% Hx, 80% Hx, 90% Hxの3種を、脾単独切除(Px)として60% Px, 90% Pxの2種を作り、これらの実際の切除率を確認した。次に、HxとPxの組み合わせによって6種のHPxモデルを設定した。術後6時間生存をもって手術成功とし、各モデルの手術成功率、出血量を求めた。手術成功ラットを用いて以後のラットの生死、体重の推移、血糖値の推移を観察した。また術後28日に血中グルカゴン、インスリン、GPT、総ビリルビンを測定し、肝と脾については湿重量から重量再生率を求め、H-E染色にて鏡検した。統計学的処理は、数値の検定はANOVAを用い、危険率5%未満を有意差ありとした。Post hoc検定には、Dunnett法とScheffe法を用いた。

結果：1. 各HxとPxの切除率の実測値から、均一で再現性に優れたモデルが作製されることが判明した。2. 手術成功率は、90% Hx + 60% Pxと90% Hx + 90% Pxでそれぞれ66.7% (n=16), 51.6% (n=16)であったが、その他は80%以上であった。3. 術中出血量は全モデルで少なく、術後成績に影響を及ぼす因子と考えられなかった。4. 各モデルの28日生存率については、70% Hx + 60% Px (n=16)が100%, (n=17)が88%, (n=17)が53%, その他、80% Hx + 90% Px (n=16)が31%, 90% Hx + 60% Px (n=16)が25%, そして90% Hx + 90% Px (n=17)が0%であった。したがって、HPxの切除限界は

70% Hx + 90% Px が手術許容限界，80% Hx + 60% Px が手術許容限界を超えた危険域であると考えられた．また，肝切除率が高いほど生存率が低いことを認めた．術後死亡は69例のうち62例(89.9%)が術後3日までに認め，術後早期に重要な病態が存在すると思われた．5．HPxの体重の推移は60% Pxと比較すると70% Hx + 90% Pxを除き有意差はなかった．6．血糖は，正常対照の70% Hxに比して有意に高い($p < 0.05$)90% Px併施のHPxでも，高血糖を呈した90% Pxに比べ有意に低く推移し($p < 0.01$)，Hx付加が血糖のコントロールに好影響を及ぼすと考えられた．7．術後28日の肝重量再生率は3種のHPxでHxより有意に低かったが($p < 0.05$)，脾重量再生率はHPxがPxよりも高くなる傾向を認めた．8．術後28日の肝・脾の組織所見ともに28日生存したすべてのHPxに構造異型，変性所見を認めなかった．9．術後28日の生化学的所見では，血清総ビリルビン値はすべてのモデルで正常範囲であった．血清インスリン濃度はすべてのモデルで有意差を認めず，血漿グルカゴン濃度は2種のHPxが60% Pxに比して有意に高値であったので，HPxの脾内分泌機能はPxと比べて低下していないことが示唆された．GPTは90% Px併施のHPxで軽度の異常値を認めたのみであった．

以上より，本研究で作製したHPxモデルのうち，70%、80% Hxと60%、90% Pxの組み合わせによる4種が成立した．切除限界は許容限界として70% Hx + 90% Px，危険域として80% Hx + 60% Pxであることが判明した．本研究により初めて正確なHPxの切除限界が示された．また，手術成績を左右するのは術後早期の病態であり，その時期を乗り越えればすべてのHPxで形態的，機能的回復が期待できることが示され，さらに，本研究で初めて作製された80% Hx + 60% Pxは，脾切除率が臨床に近似し，その生存率が50%と中央値をとるので，術後成績の向上のための様々な予防的治療の効果を検討できるHPxモデルとして期待された．

審査に当たって，長嶋教授より1．モデルが臨床の手術にどの程度近似するかについて，小池教授より2．HPxの切除限界の背景としてのHx, Pxそれぞれの切除限界について，加藤教授より3．多数死亡する術後早期の病態とそれを解決する将来展望について質疑があった．これに対し申請者は1．脾切除の部位が臨床とモデルで異なるが，総じて近似したモデルと考えられること，2．Hx, Pxそれぞれの28日生存率を提示し，特に80% Hxはほぼ100%であるが80% Hx + 60% Pxでは50%となること，3．術後のラットの生態といくつかの剖検例から，肝脾臓器相関はもとよりいわゆる過剰な手術侵襲が術後早期に存在していることに注目し，インスリンなどの補充療法のみならず侵襲に対する生体反応を軽減する薬剤に効果が期待される旨を回答した．審査員一同は，本研究の成果を高く評価し，また研

究者として誠実かつ熱心であると認め、申請者が、博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。