

学 位 論 文 題 名

# Effect of temporary hepatic venous occlusion on hepatic arterial embolization: An experimental study

（肝動脈塞栓術における一時的肝静脈閉塞の効果：基礎的研究）

## 学位論文内容の要旨

### 「目的」

肝動脈塞栓術は切除不能肝細胞癌（以下肝癌）に対する最も有効な治療法としてその地位が確立している。しかし、動脈血のみならず門脈血による栄養の可能性が示唆されている肝癌置換性増殖先端部に対しては、肝動脈塞栓術による抗腫瘍効果が及ばず、必ずしも治療法として万全とはいえない。近年、肝静脈閉塞下の肝動脈造影において、肝静脈閉塞域では肝実質の強い濃染や逆行性門脈描出が認められることが報告されている。これは肝静脈を閉塞することにより中心静脈への還流が障害され、血液の鬱滞が生じ、動脈血が sinusoid を介して低圧の門脈に流入するためと言われている。このことは担癌領域の肝静脈を閉塞して肝動脈塞栓術を行えば、同領域を選択的に高濃度の塞栓物質で満たし、腫瘍とその周囲肝組織に対してより高い治療効果が得られる可能性を示唆する。しかし肝静脈閉塞下に肝動脈に塞栓物質を注入した際、塞栓物質がどのような分布様態を示すか、かつその方法が肝癌の治療法として、実際に可能性があるのかについての研究はまだ少ない。われわれが調べた限り、塞栓物質の分布が実際に改善されるのかどうかを組織レベルで検討した報告はない。本研究の目的は肝静脈閉塞下に肝動脈塞栓術を行い、塞栓物質の組織レベルでの分布を調べ、本手法の肝癌治療法としての可能性を検討することにある。

### 「方法」

実験は Wister 系雄性ラット（平均体重 360g）27 匹を使用し、diethyl ether による吸入麻酔下の開腹して行った。塞栓物質として iodized poppyseed oil（以下 Lipiodol）と Iopamidol（300mgI/ml）を等量かつ十分に混和した懸濁液を用いた。まず予備実験として塞栓物質の至適注入量を調べるため、肝静脈非閉塞下に固有肝動脈より異なった量の塞栓物質を注入して軟線撮影を行い造影能を確認した。ラット 6 匹に対してそれぞれ塞栓物質 0.1, 0.2, 0.4, 0.5, 0.6, 0.9ml を、30G リンパ管造影針と 1ml syringe を用いて手動的に注入した。塞栓物質 0.1ml および 0.2ml の注入では肝動脈、門脈の描出を認めたが、sinusoid の描出は認めなかった。0.4ml の注入にて肝動脈、門脈周囲に sinusoid の描出が軽度あり、0.6ml 以上の注入では肝全体に強い sinusoid の描出を認めた。従って肝静脈非閉塞下での塞栓物質の至適注入量は、過度の sinusoid の描出を認めない 0.5ml 以下と判断した。次に、肝静脈閉塞下に固有肝動脈より塞栓物質 0.05ml を 5 匹に、0.1ml を 6 匹に、0.2ml を 5 匹に、0.5ml を 5 匹に注入し、それぞれの液量に応じて 1 群

(0.05ml)、2群(0.1ml)、3群(0.2ml)、4群(0.5ml)とした。肝静脈の閉塞と塞栓物質の注入は以下のように行った。肝鎌状間膜を切離し、肝静脈が下大静脈に流入する部位を露出し、その右側部分を血管鉗子にて血流遮断した。肉眼的に右側肝の鬱血を確認した後、ただちに固有肝動脈より塞栓物質を注入した。塞栓物質注入後、ただちに肝を摘出し、10%ホルマリン加 phosphate buffered saline(PBS)にて固定した。その後、en bloc silver impregnation を用いて塞栓物質の分布を検討した。組織切片は肝静脈閉塞域である右葉と、非閉塞域の外側左葉から作成した。非閉塞域である外側左葉を対照として、閉塞域における塞栓物質の分布程度を評価した。組織像における塞栓物質の分布の評価は Rappaport の分類に基づいて行った。まず各群の閉塞域、非閉塞域の組織切片中からそれぞれ40個の古典的肝小葉を無作為に選択した。各肝小葉における塞栓物質の最大分布が、Rappaport の分類の Zone I、II、III のいずれに及ぶかにより、塞栓効果をそれぞれ Grade 1,2,3 に分類した。sinusoid に塞栓物質を全く認めない肝小葉は Grade 0 とした。判定は注入条件を blind にした上で同一者により行われた。肝静脈閉塞に伴う組織レベルでの塞栓効果の変化を統計学的に評価するため、繰り返しのある二元配置の分散分析を用いて肝静脈閉塞域である右葉と非閉塞域の外側左葉とで結果を比較した。

### 「結果」

Lipiodol 染色による組織学的な検討で、塞栓物質の注入量と肝静脈閉塞の有無により、sinusoid に塞栓物質を全く認めない Grade 0 から Rappaport の Zone I に及ぶ Grade 1、Zone II に及ぶ Grade 2、Zone III に及ぶ Grade 3 に至るまで様々な程度の塞栓効果を認めた。注入量と塞栓効果について、0.05ml 注入量では肝静脈非閉塞群は全て Grade 0 であったが、閉塞群では半数が Grade 0、半数が Grade 1 を示した。0.1ml から 0.5ml と注入量を増すにつれ閉塞、非閉塞群ともに Grade 2、Grade 3 の塞栓物質の分布が確認され、注入量の増加と共に Grade の高い頻度は増した。しかし、0.5ml 注入量例でも Grade 0 を肝静脈非閉塞群の 50%、閉塞群の 20% に認めた。閉塞域と非閉塞域との比較では、閉塞域で塞栓物質の分布はより広範であった。すなわち肝静脈閉塞により塞栓効果の Grade の高い肝小葉の割合が増した。繰り返しのある二元配置の分散分析を用いた有意差検定では、閉塞域で Grade が有意に高かった ( $p<0.001$ )。

### 「考察」

今回の研究で肝静脈閉塞域では非閉塞域と比しより広範な塞栓物質の分布が有意差をもって観察された。これは肝静脈の閉塞によって塞栓物質が sinusoid に流入しやすくなり、sinusoid における塞栓効果が増強されたためと考えられる。ヨード造影剤を用いた血管造影や computed tomography (CT) arteriography において、肝静脈閉塞域により多くの造影剤の分布、すなわち肝実質の強い濃染を認めている。これらの報告はわれわれの結果と一致する。しかし、造影剤の分布は必ずしも塞栓物質の分布と同一とは限らない。今回われわれが用いた Lipiodol-Iopamidol 懸濁液は塞栓物質そのものであり、肝静脈閉塞下動脈塞栓術の有効性がより明確に示唆された。

### 「結論」

本研究において、肝静脈閉塞下の肝動脈塞栓術は肝動脈のみならず sinusoid にまで塞栓効果がおよび、門脈血の関与する肝癌に対しても有効な治療法となり得る可能性を示した。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 浅 香 正 博

副 査 教 授 藤 堂 省

副 査 教 授 宮 坂 和 男

## 学 位 論 文 題 名

### Effect of temporary hepatic venous occlusion on hepatic arterial embolization:An experimental study

(肝動脈塞栓術における一時的肝静脈閉塞の効果：基礎的研究)

肝動脈塞栓術は動脈血のみならず門脈血による栄養の可能性が示唆されている肝癌置換性増殖先端部に対しては、その抗腫瘍効果が及ばず治療法として万全とはいえない。近年、肝静脈閉塞下の肝動脈造影に関する報告がなされ、担癌領域の肝静脈を閉塞して肝動脈塞栓術を行えば、同領域を選択的に高濃度の塞栓物質で満たし、腫瘍とその周囲肝組織に対してより高い治療効果が得られる可能性が示唆されている。しかし肝静脈閉塞下に肝動脈に塞栓物質を注入した際、塞栓物質がどのような分布様態を示すか、かつその方法が肝癌の治療法として、実際に可能性があるのかについての研究はまだ少ない。本研究の目的は肝静脈閉塞下に肝動脈塞栓術を行い、塞栓物質の組織レベルでの分布を調べ、本手法の肝癌治療法としての可能性を検討することにある。

実験は Wister 系雄性ラットを用いて行った。塞栓物質として iodized poppyseed oil (以下 Lipiodol) と Iopamidol (300mgI/ml) の等量懸濁液を用いた。肝静脈の閉塞は肝静脈が下大静脈に流入する部位を露出し、その右側部分を血管鉗子にて血流遮断して行った。肉眼的に右側肝の鬱血を確認後、ただちに固有肝動脈より塞栓物質を注入した。塞栓物質 0.05ml を 5 匹に、0.1ml を 6 匹に、0.2ml を 5 匹に、0.5ml を 5 匹に注入し、それぞれ 1 群、2 群、3 群、4 群とした。注入後、肝を摘出し 10%ホルマリン加 phosphate buffered saline(PBS)にて固定し、en bloc silver impregnation を用いて塞栓物質の分布を検討した。組織切片は肝静脈閉塞域と非閉塞域から作成し、非閉塞域を対照として、閉塞域における塞栓物質の分布程度を評価した。まず各群の閉塞域、非閉塞域の組織切片中からそれぞれ 40 個の古典的肝小葉を無作為に選択した。各肝小葉における塞栓物質の最大分布が、Rappaport の分類の Zone I、II、III のいずれに及ぶかにより、塞栓効果をそれぞれ Grade 1、2、3 に分類した。類洞に塞栓物質を全く認めない肝小葉は Grade 0 とした。

組織学的な検討で塞栓物質の注入量と肝静脈閉塞の有無により、類洞に塞栓物質を全く認めない Grade 0 から Grade 3 に至るまで様々な程度の塞栓効果を認めた。閉塞域と非閉塞域との比較では、閉塞域で塞栓物質の分布はより広範であった。繰り返しのある二元配置の分散分析を用いた有意差検定では、閉塞域で Grade が有意に高かった ( $p<0.001$ )。

これは肝静脈の閉塞によって塞栓物質が類洞に流入しやすくなり、類洞における塞栓効果

が増強されたためと考えられる。これまでのヨード造影剤を用いた報告では、肝静脈閉塞域に肝実質の強い濃染を認めており今回の研究結果と一致する。しかし、造影剤の分布は必ずしも塞栓物質の分布と同一とは限らない。一方、Lipiodol-Iopamidol 懸濁液は塞栓物質そのものであり、今回の研究で肝静脈閉塞下動脈塞栓術の有効性がより明確に示唆された。

本研究において、肝静脈閉塞下の肝動脈塞栓術は肝動脈のみならず類洞にまで塞栓効果がおよび、門脈血の関与する肝癌に対しても有効な治療法となり得る可能性を示した。

口頭発表に際し、副査の第一外科藤堂教授より肝静脈のclampから塞栓物質注入までの時間について、また、肝にうっ血が生じ動脈血流がうっ滞すると、動脈からの塞栓物質の注入はテクニカルな問題が生じやすいことについて、さらに個々の群で結果にばらつきがみられることについて質問がなされた。副査の放射線科宮坂教授より塞栓物質の注入圧および粒子径について、さらに臨床応用した際の塞栓物質注入量について質問がなされた。主査の第三内科浅香教授よりラットとヒトの動門脈吻合に関する異同について、さらに正常肝類洞と癌組織血液腔への塞栓物質の流入の違いについて質問がなされた。申請者は実験中の肉眼所見や、これまでの塞栓物質粒子径、肝内微細血管構造に関する報告、肝癌増殖先端部の病理組織学的報告などを引用し、概ね妥当な回答を行った。

これまで肝静脈閉塞下肝動脈塞栓術を臨床応用した報告が2、3見られる。しかし、本研究のようにその有効性を組織レベルで詳細に検討した報告はなく、臨床応用に際しての基礎的データとして、その有用性が高く評価される。今後、肝癌モデルや固形塞栓物質を用いたさらなる研究が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（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。