



Significance of morphological alteration by portal vein branch ligation in endotoxin-induced liver injury after partial hepatectomy

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 太田, 茂安 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/365

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 495号	学位授与年月日	平成19年 9月21日
氏 名	太 田 茂 安		
論文題目	Significance of morphological alteration by portal vein branch ligation in endotoxin-induced liver injury after partial hepatectomy (肝部分切除後のエンドトキシン誘発肝傷害に対する門脈枝結紮による形態学的変化の意義)		

博士(医学) 太田茂安

論文題目

Significance of morphological alteration by portal vein branch ligation in endotoxin-induced liver injury after partial hepatectomy

(肝部分切除後のエンドトキシン誘発肝傷害に対する門脈枝結紮による形態学的変化の意義)

論文の内容の要旨

[はじめに]

肝胆道癌切除において大量肝切除が予想される場合、術後肝不全を回避する目的で術前に切除予定肝葉側の門脈枝塞栓術が行われている。この処置により塞栓肝葉は萎縮し、非塞栓肝葉(予定残肝側)は代償性に肥大する。このように門脈枝塞栓術は機能的切除肝容積を減らすことにより肝切除術の安全性の向上と切除適応の拡大に寄与している。一方、周術期管理の進歩した現在においても感染症に起因する肝切除術後早期の肝不全は重篤な致死的合併症である。癌切除のために術前門脈枝塞栓術を必要とすることが多い胆道癌では、術後に胆管炎をはじめとする感染症発症のリスクは高いが、代償性に肥大した肝組織の形態が術後の感染状態に及ぼす影響については明らかにされていない。

本研究の目的は、ラット門脈枝結紮モデルを用いて、門脈枝結紮(portal vein branch ligation: PVL)による残肝の形態学的変化が肝部分切除後のエンドトキシン誘発肝傷害に対してどのように影響するかを明らかにすることである。

[材料ならびに方法]

雄性Sprague-Dawleyラット(250-275 g)を用いて以下の2群を作成した。PVL群は肝左外側葉と正中葉(肝全体の約70%に相当する領域)に流入する左門脈枝を結紮し、non-PVL群はsham手術として開腹操作のみを行った。7日後に両群に対して肝部分切除(肝左外側葉、正中葉、尾状葉の切除)を行った。両群のラットには肝切除後2日目にエンドトキシンとしてlipopolysaccharide (LPS) 1 mg/kgを経静脈的に投与した。LPS投与量は正常ラットに対しては非致死量である。LPS投与後7日間生存率に加え、血漿総ビリルビン、aspartate transaminase (AST)、interleukin (IL)-6、およびtumor necrosis factor (TNF)- α 値を測定した。血漿IL-6値はIL-6 ELISA system (Amersham Biosciences UK Limited, Buckinghamshire, UK)、血漿TNF- α 値はTNF- α immunoassay kit (BioSource International, Inc., Camarillo, CA)を用いて測定した。また、LPS投与による肝類洞面積比および肝組織所見の変化を調べるとともに、肝細胞と肝類洞内皮細胞の増殖活性の経時的変化をKi-67免疫組織化学染色により評価した。

[結果]

1) PVLにより肝左外側葉と正中葉は萎縮し、肝右葉と尾状葉(門脈枝非結紮域)は肥大した。結果として、non-PVL群の肝切除量は76%、PVL群は42%となった。2) LPS投与後7日間生存率はnon-PVL群20%に対し、PVL群では100%であった($p<0.01$)。肝切除量の違いを考慮して、PVL後7日目に75%肝切除(肝左外側葉、正中葉、尾状葉、右葉前小葉の切除)を行った群でのLPS投与後7日間生存率は67%であり、non-PVL群に比較し有意に良好であった($p<0.01$)。3) non-PVL群でみられたLPS投与後の血漿総ビリルビンとAST値の上昇はPVL群で有意に抑えられた。4) non-PVL群に比し、PVL群ではLPS投与後の血漿TNF- α 値

の上昇が抑制された。5) PVL後に血漿IL-6値は上昇したが、肝切除後の血漿IL-6値の上昇はnon-PVL群に比べPVL群で有意に抑制された。6) 肝切除後およびLPS投与後の肝類洞面積比はnon-PVL群に比べPVL群で有意に高かった。7) LPS投与後3時間での肝組織所見は、non-PVL群では肝類洞内の血栓形成、肝組織うっ血および肝組織内への著明な好中球浸潤がみられたが、PVL群ではこれらの所見がいずれも軽微であった。8) PVL後のKi-67 labeling indexは肝細胞では2日目、肝類洞内皮細胞では3日目が頂値であったが、両細胞の肝切除後のKi-67 labeling index はnon-PVL群に比べPVL群では抑制された。

[考察]

肝切除後の再生過程早期でのLPS投与にもかかわらず、non-PVL群に比べPVL群では肝機能の悪化が抑えられ、肝組織傷害や7日間生存率の改善がみられた。さらに、LPS投与後の血漿TNF- α 値の上昇も有意に抑制された。これらの結果から、術前PVLが肝部分切除後のエンドトキシン誘発肝傷害を抑えることが明らかとなった。肝切除量を同等にした場合でもPVL群の方がLPS投与後の生存率が良好であったことから、PVL群におけるエンドトキシン誘発肝傷害の進展抑制には残肝容積の増加以外の要因の関与が示唆された。

肝切除後の肝再生過程では、24～48時間をピークに肝細胞の増殖がみられる。一方、肝類洞内皮細胞の増殖は肝細胞の増殖から24～48時間遅れて観察される。この結果、肝切除後48～72時間目には肝細胞クラスターが形成され、肝類洞は狭小化した状態にあると報告されている。IL-6は肝切除後およびPVL後の肝細胞増殖のプライミングに重要な役割を果たすサイトカインであり、本研究では肝細胞の再生の推移と一致していた。組織学的にnon-PVL群では肝切除後およびLPS投与後に肝類洞の狭小化が観察されたが、PVL群では肝類洞面積比の改善がみられた。このようにPVL群では肝切除前に門脈非結紮葉の代償性肥大が起こり、肝切除の時点では肝細胞と類洞内皮細胞の増殖はほぼ完了された状態にあること、そしてLPS投与後のTNF- α 産生が著明に抑制されたことが本病態での肝微小循環障害の軽減につながったものと考えられる。

[結論]

肝切除術前処置としてのPVLは、代償性に肥大した門脈枝非結紮肝組織の形態学的変化により肝切除後の再生過程早期におけるエンドトキシン誘発肝傷害の進展抑制をもたらす。

論文審査の結果の要旨

肝胆道癌切除において大量肝切除を必要とする際、術後肝不全を回避する目的で術前に切除予定肝葉側の門脈枝塞栓術が行われている。この処置により塞栓肝葉は萎縮し、非塞栓肝葉(予定残肝側)は代償性に肥大する。このように門脈枝塞栓術は機能的切除肝容積を減らすことにより肝切除術の安全性の向上と切除適応の拡大に寄与している。一方、術前門脈枝塞栓術を必要とすることが多い胆道癌では、術後に胆管炎をはじめとする感染症発症のリスクは高く、これは重篤な致命的合併症である肝切除早期の肝不全につながる。

申請者等は、本研究において、ラット門脈枝結紮モデルを用いて門脈枝結紮 (portal vein branch ligation: PVL) による残存肝の経時的な形態学的変化を検討し、肝部分切除後のエンドトキシン誘発肝傷害とどのように関わるかを検討した。

雄性Sprague-Dawleyラット(250-275 g)を用いて以下の2群を作成した(各群N=5)。(1)PVL群：肝左外側葉と正中葉(肝全体の約70%に相当する領域)に流入する左門脈枝を結紮。(2)non-PVL群：sham手術として開腹操作のみ施行。両群に対して7日後に肝部分切除(肝左外側葉、正中葉、尾状葉の切除)を行い、また肝切除2日後にエンドトキシンとしてlipopolysaccharide (LPS) 1 mg/kg(正常ラットに対しては非致死量)を経静脈的に投与した。LPS投与後7日間生存率、血清総ビリルビン、aspartate transaminase (AST)、interleukin (IL)-6、およびtumor necrosis factor (TNF)- α 値を検討した。組織学的には、肝類洞面積比を中心とした肝組織所見の変化を調べるとともに、肝細胞と肝類洞内皮細胞の増殖活性の経時的変化をKi-67免疫組織化学染色により評価した。

以下の結果を得た。

(1) PVLにより肝左外側葉と正中葉は萎縮し、肝右葉と尾状葉(門脈枝非結紮域)は肥大した。結果として肝切除量は、non-PVL群の76%に対し、PVL群は42%と低下した。(2) LPS投与後7日間生存率はnon-PVL群20%に対し、PVL群では100%であった ($p<0.01$)。肝切除量の違いを考慮して、PVL群において75%肝切除(肝左外側葉、正中葉、尾状葉、右葉前小葉の切除)を行ったが、LPS投与後7日間生存率は67%であり、non-PVL群に比し有意に良好であった ($p<0.01$)。(3) LPS投与後の血清総ビリルビンとAST値は、non-PVL群ではPVL群に比べ有意に高値であった。(4) LPS投与後の血漿TNF- α 及び IL-6 値も同様にnon-PVL群で有意に高値であった。(5) PVL操作後に血漿IL-6値は一過性に上昇した。(6) 肝切除後の残存肝の組織像は明らかに異なり、non-PVL群では増殖肝細胞クラスターが認められ、類洞は狭小化していた。これを肝類洞面積比として数値化したところ、non-PVL群はPVL群に比し有意に低値を示した。(7) LPS投与後3時間での肝組織所見は、non-PVL群では肝類洞内の血栓形成、肝組織うっ血および肝組織内への著明な好中球浸潤がみられたが、PVL群ではいずれも軽微であった。(8) Ki-67 labeling indexはPVL操作により肝細胞と肝類洞内皮細胞で増加を示し、各々2日目、3日目が頂値であった。肝切除後のKi-67 labeling index はnon-PVL群でPVL群に比し有意に高値を示した。

以上より、術前PVLにより肝部分切除後のエンドトキシン誘発肝傷害が抑制される事実が明らかとなった。肝切除量を同等にしてもPVL群の生存率が良好であったことから、PVL群におけるエンドトキシン誘発肝傷害の進展抑制には残存肝容積の増加以外の要因の関与が示唆された。肝切除後の肝再生過程では、24～48時間をピークに肝細胞が増殖し、さらに24～48時間遅れて肝類洞内皮細胞が増殖するとされる。この結果、肝切除後48～72時間目には肝細胞クラスターが形成され、肝類洞は狭小化した状態になるため肝類洞面積比が小さくなると考えられる。PVL群では肝類洞面積比の低下は有意に低かった。PVL群では肝切除前に門脈非結紮葉の代償性肥大が起り、肝切除の時点では肝細胞と類洞内皮細胞の増殖はほぼ完了された状態にあること、そしてLPS投与後のTNF- α 産生が著明に抑制されたことが本病態での肝微小循環障害の軽減につながったものと考察した。

審査委員会は、今回の研究により、肝切除術前処置としての門脈枝結紮は、門脈枝非結紮肝組織の代償性肥大だけでなく形態学的成熟化をも促し、肝切除後の再生過程早期におけるエンドトキシン誘発肝傷害の進展を抑制する事実を初めて明らかにしたことを高く評価した。またその高い臨床的有用性も高く評価した。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) 機能的残肝容量はどのように測定したか
- 2) 門脈塞栓物質は何を用いたか

- 3) PVL 後、肝切除のタイミングはどのように決めたか
- 4) 肝切除後 LPS 投与のタイミングはどのように決めたか
- 5) 肝類洞面積を測定する上で組織の灌流固定は必要ないか
- 6) PVL 群肝切除後の肝組織と正常組織の違いは何か
- 7) PVL 操作後に非結紮肝組織はどのように変化するか
- 8) LPS 投与による死因は何か
- 9) 類洞内皮細胞同定に用いた抗体 (SE-1) の抗原は何か
- 10) 門脈結紮によって IL-6 が増加する理由
- 11) PVL 後肝切除により IL-6 及び $\text{TNF}\alpha$ の増加が抑制される理由
- 12) 肝細胞、類洞内皮細胞増殖を促進する因子は何か
- 13) 動物実験における 3R の原則とは何か
- 14) 臨床において門脈塞栓後どのようなタイミングで肝切除を行うのが良いか。

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	浦野哲盟	
	副査	三浦直行	副査 小杉伊三夫