



肝切除前後における肝内血管内皮接着分子の発現

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小泉, 貴弘 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1561

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	医博論第 284号	学位授与年月日	平成10年10月 2日
氏名	小泉貴弘		
論文題目	肝切除前後における肝内血管内皮接着分子の発現		

博士(医学) 小泉 貴弘

論文題目

肝切除前後における肝内血管内皮接着分子の発現

論文内容の要旨

〔はじめに〕

肝切除では、肝門部での一時的肝流入血行遮断法（以下、Pringle 法）が行われる。このため肝には虚血・再灌流の操作が加わり、Kupffer細胞が interleukin -1 や tumor necrosis factor などの炎症性サイトカインを放出し、肝内血管内皮細胞上に細胞接着分子の発現を誘導する。その結果、肝組織内へ好中球が浸潤し、肝に対し臓器障害を及ぼす可能性がある。肝疾患を有する場合、正常肝に比しエンドトキシン処理能が低下し、サイトカインレベルも上昇するが、このため、肝切除後に接着分子発現、好中球浸潤などに差異をもたらす可能性が考えられる。

そこで、肝切除に際し、肝疾患の有無が、Pringle 法による肝内血管内皮の細胞接着分子の発現に影響を及ぼすかどうかを免疫組織学的に検討した。

〔材料ならびに方法〕

1991年6月から1993年6月に当科で肝切除を施行した肝細胞癌11例、胆道癌3例、転移性肝癌1例、肝血管腫1例の計16例を、肝硬変群と非肝硬変群に分けた。手術時、開腹直後と肝切除終了後に非腫瘍部より採取した肝組織を免疫染色に供した。1次抗体は抗granular membrane protein-140（以下、GMP-140）抗体、抗endothelial leukocyte adhesion molecule-1（以下、ELAM-1）抗体、抗vascular cellular adhesion molecule-1（以下、VCAM-1）抗体、ヒト好中球エラスターゼ抗体を用いた。単位面積当たりの染色陽性血管数及び、静脈内皮に接着あるいは肝実質内に浸潤したエラスターゼ染色陽性好中球数を肝切除前後で比較した。

統計学的検定は χ^2 検定およびStudent's *t*-testを用いた。

〔結果〕

1. 術前の肝機能検査の比較

血清GOT値・総ビリルビン値は2群間に有意差はなかった。ICG停滞率（ICGR 15）は硬変群が16.8±8.1%と非硬変群の7.7±4.1%に比べ有意に高かった。（ $p < 0.05$ ）。

Pringle 法の施行回数、手術時間、出血量に有意差はなかった。硬変群が全例亜区域以下の肝切除だったが、非硬変群では6例中5例が肝葉以上の大量切除で、硬変群が有意に切除量は小さかった。（ $P < 0.01$ ）。

2. 血管内皮細胞の接着分子発現率と発現部位

GMP-140：非硬変群では切除前6例中1例、切除後は3例の静脈に発現した。硬変群は前後とも全例に静脈で発現したが、両群とも動脈には発現しなかった。

ELAM-1：非硬変群では切除前後とも発現はなかった。硬変群では切除前に1例、切除後2例の静脈に発現したが（有意差なし）、動脈には発現しなかった。

VCAM-1：切除前では、硬変群の5例の静脈に発現し、うち1例で動脈にも発現した。切除後は硬変群で9例の静脈、5例の動脈に発現した。非硬変群では切除後の1例に発現したのみで、硬変群

で発現率が有意に高かった。 $(p < 0.05)$ 。

3. 単位面積当たりの細胞接着分子発現血管数

GMP-140陽性血管数は、硬変群が切除前後ともに非硬変群に比べ有意に多かった $(p < 0.05)$ 。ELAM-1陽性血管数は、硬変群で切除後に増加したが、切除前後で有意差はなかった。VCAM-1陽性血管数は、硬変群で切除後に、切除前および非硬変群と比較し有意に増加した $(p < 0.05)$ 。

4. 肝組織中の接着および浸潤好中球数

切除前は両群に有意差はなかった。切除後は両群とも増加したが、非硬変群が $74.6 \pm 29.4 / \text{mm}^2$ であったのに対し、硬変群は $127.3 \pm 45.5 / \text{mm}^2$ と増加の程度は有意に多かった $(p < 0.05)$ 。

[考察]

接着分子の発現に関与するサイトカインは、炎症、虚血・再灌流、エンドトキシンなどの刺激により放出される。硬変肝では腸管由来の内因性エンドトキシンが上昇しやすい環境にあるが、このような状況下で Pringle 法による肝流入血行遮断・解除操作が繰り返されると、門脈の鬱滞に起因するエンドトキシンの上昇がさらに加わり、通常よりもサイトカインの放出が高まることが予想される。硬変群で接着分子の発現が強くみられたのは、サイトカインネットワークにより放出される種々のメディエーターが、正常肝より被刺激性の高い硬変肝に対し、接着分子の発現を増強させている可能性が考えられる。

[結論]

硬変群に比し、非硬変群で大腸肝切除が行われたにもかかわらず、血管内皮接着分子の発現、好中球の接着は硬変群で強く現れた。このことから、硬変肝は非硬変肝に比し術後好中球による組織障害を来しやすい準備状態にあると考えられる。

論文審査の結果の要旨

肝切除時の肝流入血行の一時的遮断法 (Pringle 法) が行われている。この時肝では虚血、再灌流が起こり、炎症性サイトカインの放出により肝内血管内皮細胞上に接着分子の発現が誘導される。その結果、肝組織内へ好中球が浸潤し、肝障害が生ずる可能性がある。肝硬変などの肝疾患を有する場合、正常肝に比してエンドトキシン処理能力が低下し、サイトカインの上昇が増強する。申請者は、肝切除に際し、肝疾患の有無が肝内接着分子の発現と好中球の滲出に如何に影響を及ぼすか免疫組織学的方法で比較した。

1991年から1993年に第二外科学教室で肝切除を施行した肝細胞癌11例、胆道癌3例、転移性肝癌1例、肝血管腫1例の計16例を、肝硬変群10例と非肝硬変群6例に分けて比較した。それぞれ肝切除に際し開腹直後の肝生検と切除終了後、閉腹直前に再度肝生検を行い両時点を比較した。クレオスタットで凍結切片を作成し、接着分子の抗体としてセレクチンファミリーに属する GMP-140 (granular membrane protein-140)、ELAM-1 (endothelial leukocyte adhesion molecule-1) に対する抗体、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1)、好中球を染色するために抗ヒト好中球エラスターゼ抗体を用いて免疫染色を行った。血管内皮における発現は静脈系と小動脈系に分けて数えて、定量的に比較し、統計学的に有意差を検定した。

肝切除前後における血管内皮細胞の接着分子発現の変化：全体の傾向として血管内皮接着分子の発現は肝硬変群の静脈系で発現しやすく、肝切除によって肝硬変群で発現が上昇する傾向を示したが、VCAM-1が肝切除によって肝硬変群ではっきりと有意差をもって上昇した。これは単位面積あたりの陽性血管数の比較でも有為に増加した。エラスターゼ染色抗体による肝組織における好中球数は肝切除後増加

したが肝硬変群において著明に増加した。

以上の結果から、肝切除によって、血管内皮接着分子の発現、および好中球の浸潤は、肝硬変状態において強く現れることが明らかになった。このことから申請者は硬変肝は非硬変肝に比し肝切除後、好中球による組織障害を受けやすい状態にあると推論した。

審査委員会では本研究がヒトの症例によって肝硬変状態で肝切除後、肝の血管内皮細胞の接着分子の発現が増強することを示した点を評価した。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) 一時的肝血流遮断法 (Pringle法) の具体的な方法について
- 2) 非腫瘍肝組織の採取方法と採取時の肝切除前後の時間について
- 3) ICAMの発現をみなかった理由
- 4) VCAM-1 の発現と好中球の浸潤の増加の同一症例での一致性について
- 5) 肝血管内皮の接着分子の発現に伴う好中球のLFA-1などのリガンドの変化について
- 6) 血管内皮の接着分子の発現の増強は肝のクッパー細胞でのサイトカインの産生増強によるとしているが確認について
- 7) 肝切除後上昇するサイトカインの種類について
- 8) 肝器官培養を用いて、一時的虚血による血管内皮接着分子の発現を再現の可能性について
- 9) 肝切除と肝細胞のアポトーシス誘導との関連について
- 10) 肝硬変で肝切除後、血管内皮接着分子が上昇することの臨床的意味について

これらの質問に対して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委員会全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 筒井 祥 博

副査 教授 中村 浩 淑 副査 助教授 古川 福 実