

氏名 (本籍) 伊藤 英夫 (岐阜県)  
 学位の種類 博士 (医学)  
 学位授与番号 乙第 1249 号  
 学位授与日付 平成 12 年 7 月 19 日  
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当  
 学位論文題目 常温肝虚血-再灌流時の電気特性による肝 viability の経時的評価法の検討  
 審査委員 (主査) 教授 廣瀬 一  
 (副査) 教授 森脇 久隆 教授 恵良 聖一

## 論文内容の要旨

### 目的

肝切除術において、出血量の減少をはかり、手術時間の短縮をはかる目的で肝門部血行遮断による肝虚血手技が用いられている。その虚血中に経時的に、かつ簡便に肝の viability を評価する事が出来れば有用である。そこで本研究では肝の誘電体としての性質に着目し、電気抵抗率 (resistivity ; 以下  $\rho$ ) の変化から、肝の viability の経時的評価が可能か否かを検討した。

### 材料と方法

5週齢のWistar系雄性ラットを用い、門脈系と体静脈系にシャントが形成され腸管鬱血を来す事なく肝門部で全肝虚血の実験が可能となるように脾臓を皮下に移植した。

電気インピーダンスの計測方法：上記の脾臓皮下固着ラットを用い、門脈および肝動脈を血管用クリップにより遮断し全肝虚血とした。また、虚血開始5分前にヘパリン500IU/kgを静脈内投与し、実験中ラット体温を $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ とほぼ一定に保った。虚血時間を15分、30分、60分、120分とし、虚血再灌流を行った。それぞれ15分群 ( $n=2$ )、30分群 ( $n=2$ )、60分群 ( $n=6$ )、120分群 ( $n=5$ ) の4群に分けた。

平行2針電極を使用し、LCRメータを用いて、コンダクタンス (G) を計測し抵抗率  $\rho$  ( $\Omega \cdot \text{cm}$ , 以下略) を計算式  $\rho = \pi t / G (\ln (r-a/a))$  により求めた。なおここでは  $t$  は針の長さ、 $r$  は2針間の距離、 $a$  は針の半径とした。測定周波数は1回毎に20Hzから1MHzまでの39周波数とした。上記の方法により虚血前、虚血中5分毎、再灌流後5分から10分毎に2時間30分まで測定した。電極の刺入部位は、肝の中間葉とした。

肝内ATP含有量の測定：虚血前、後に微量の肝臓組織片を凍結採取し、凍結乾燥した後、高速液体クロマトグラフィ (以下HPLC) を使用して、ATPを測定した。

胆汁流量の測定：総胆管に目盛りを付けたポリエチレンチューブを接続し、その流量を計測し算出した。虚血前の5分間の胆汁流量を100とした時の再灌流後の胆汁流量を回復率で表した。

肝組織学的検討：60分群の内、4肝において虚血前、虚血後30分、60分、再灌流後60分に採取し、ホルマリンで固定し、Hematoxylin-Eosin染色にて組織標本を作成した。

### 結果

1kHzでの resistivity ( $\rho$ , 単位  $\Omega \cdot \text{cm}$ ) の経時的変化では  $\rho$  の虚血前値は  $1038 \pm 97.6$  であった。虚血中の  $\rho$  の最高値を  $\rho_m$  とする。  $\rho_m$  に達する時間は虚血後25-40分の間で平均は虚血後  $35 \pm 5.9$  分であった。

$\rho$  測定中の60分群の肝組織ATP：虚血前値との比を%ATPとすると%ATPは虚血開始後10分には  $43.5 \pm 3.4\%$ 、20分には、  $40.5 \pm 2.9\%$ 、40分には  $34.5 \pm 5.5\%$ 、60分には  $29.9 \pm 3.5\%$  と減少した。なお60分群の  $\rho_m$  に達した時点すなわち平均  $34.2 \pm 7.4$  分 (25-40分) で  $\rho_m$  は  $5171 \pm 1132$  であった。

虚血後に減少するATPと虚血後に増加する  $\rho$  との関係は、  $\rho$  の虚血前値との比を%  $\rho$  とした時、虚血後20分および  $\rho_m$  に達した時点の%  $\rho$  と%ATPの間には有意 ( $p < 0.05$ ) な負の相関があった。60分群の虚血中の最高値  $\rho_m$  は  $34.2 \pm 7.4$  分において%  $\rho$  は  $500 \pm 94.4\%$  であった。

胆汁流量の平均回復率：再灌流後60分の値は15分群  $98.2 \pm 6.2\%$ 、30分群  $90.6 \pm 0.5\%$ 、60分群  $23.9 \pm 15.6\%$ 、120分群  $6.96 \pm 4.2\%$  と虚血時間が長くなるに従い胆汁流量の回復率は減少した。なお60分群で胆汁流量の回復率が30%以上であったのは2例 (33%) であった。

再灌流直前値を  $\rho_r$  とした時、胆汁流量の回復率と虚血中の  $\rho_r / \rho_m$  を調べると、120分群では胆汁流量の回復率が極めて不良であり、120分に達する前に虚血による不可逆性変化が完成してしまっていると考え、これを除く可逆性変化の過程にあると推測される15分群、30分群、60分群のみを見ると両者の間には有意 ( $p < 0.05$ )

な正の相関を示した。

肝の組織学的変化：虚血前に比して虚血後30分では肝細胞が腫大し、肝細胞胞体中に空胞が出現し始めている。類洞の狭小化も認められた。虚血後60分では類洞の狭小化が、虚血後30分より進行し胞体内の空胞の増加がみられ核の淡染も見られるようになった。また肝小葉構造の不鮮明化もみられる。再灌流60分後では肝細胞の腫大が減少し、類洞も虚血前の状態に近づき、組織学的に回復を示した。

#### 考 察

電気インピーダンスを用いた研究は肝臓でも行われている。しかし本研究のごとく *in situ* 肝臓において虚血中に経時的に電気インピーダンスを測定し、肝の *viability* を推定しようとする報告はない。

常温虚血中にHPLC法で測定した肝ATP残存量が虚血再灌流障害の程度や再灌流後の肝の *viability* とよく相関する事が知られている。

%ATPと% $\rho$ は20分での値と $\rho_m$ との値をみると有意な負の相関を認めた。これは $\rho_m$ に達するまでは% $\rho$ の増加にともないATPが減少する事を示している。従って虚血後抵抗率の最高値 $\rho_m$ に達するまでの $\rho$ の変化は、もちろんATP以外の因子によるものも考えられるが、少なくともこのモデルにおいてはATPの減少と平行しておこる化学的、物理的变化の総和を表現している可能性が示唆された。

組織学的検討では虚血後30分では構造的には保たれているが、虚血後60分では肝に不可逆性変化をもたらすと考えられる。従って $\rho_m$ 以降の $\rho$ の低下の原因の一つとして、肝の構造的破壊が関係している可能性が示唆される。すなわち $\rho_m$ を示す時点は電気的特性の変化が肝の不可逆性変化が起り始める時点を表している可能性が示唆された。ただし $\rho_m$ は25分から40分の間にあった事は個体によりその虚血耐容能に差がある事を示していると考えられる。

$\rho_r$ は再灌流直前のresistivityであり、 $\rho_m$ からの時間経過による電気特性の変化の程度を表すと考えられ、従って $\rho_m$ との比即ち $\rho_r/\rho_m$ は虚血肝に生じている種々の不可逆変化の程度を示している可能性がある。今回の結果では $\rho_r/\rho_m$ は再灌流前後の胆汁流量の回復率と正の相関があった。 $\rho_m$ に達した以降は、 $\rho_r/\rho_m$ により虚血中に虚血再灌流後の肝の *viability* を推測する指標となりうる可能性が示唆された。

虚血再灌流後の胆汁流量の回復率30%が生死の臨界点であるとされているが、30分群では胆汁流量の回復率は良好であったのに対して、60分群では胆汁流量が30%以上の回復率を示したのは33%にすぎない。従ってこの用いたモデルでは胆汁流量の回復率からみると虚血30-60分での変化が大きく、また組織学的にみてもこの間に比較的大きな変化が生じていた。

今回の結果では37°Cの肝虚血中に、 $\rho_m$ に達するまでは $\rho$ を指標としてATPの変化を、 $\rho_m$ に達した以後は $\rho_r/\rho_m$ により再灌流後の胆汁流量の回復率を推定する事ができ、虚血限界を虚血中に客観的に、かつリアルタイムに推定できる可能性が示唆された。

#### 結 語

ラットにおいて、電気インピーダンス (EI) を用いた肝虚血中の *viability* 評価法を検討した。肝虚血の前・中・後に経時的にEI、胆汁流量、肝ATP (HPLC法) を測定した。虚血時間を15, 30, 60, 120分の4群とした。1KHzにおけるresistivityは、虚血後上昇し、平均 $35.0 \pm 5.9$ 分で最高値 $\rho_m$ に達し、その後は減少した。肝ATPと $\rho$ の虚血前値との比をそれぞれ%ATP、% $\rho$ とすると虚血後20分、 $\rho_m$ に達した時の両者には有意な負の相関を認めた。再灌流直前値 $\rho_r$ と $\rho_m$ の比 $\rho_r/\rho_m$ と胆汁流量の回復率は15, 30, 60分の各群では有意な正の相関があった。組織学的にみると虚血30分までは大きな変化はないが60分では構造破壊がみられた。以上の結果よりEIは、虚血肝の *viability* を経時的に示す指標となる可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

申請者 伊藤英夫は、肝切除術において、出血量の減少と手術時間の短縮の目的で用いられる肝門部血行遮断による肝虚血の際に、その虚血中の肝の *viability* の評価が、実験的に電気抵抗率の変化から経時的に、かつ簡便に出来る可能性を示した。

本研究は消化器外科学の分野の進歩に寄与するところが大であると認められた。

#### [主論文公表誌]

常温肝虚血-再灌流時の電気特性による肝 *viability* の経時的評価法の検討

日本消化器外科学会雑誌 32 (11) : 2512~2518, 1999