

氏名（本籍）	柄井航也	（岐阜県）
学位の種類	博士（医学）	
学位授与番号	甲第1166号	
学位授与日付	令和3年6月16日	
学位授与要件	学位規則第4条第1項該当	
学位論文題目	Two-stage Portal Vein Ligation Facilitates Liver Regeneration Safely in Rats with Liver Cirrhosis	
審査委員	（主査）教授	清水 雅仁
	（副査）教授	國貞 隆弘
		教授 竹内 保

## 論文内容の要旨

### 【背景と目的】

大量肝切除術後の肝不全を予防する目的で、臨床では門脈塞栓術を施行し、残肝の再生を促進している。肝切除の対象となるのは、ウイルス性肝炎、脂肪肝、アルコール性肝炎、化学療法後など、術前に肝障害等を有する症例が多い。そのような障害肝では、門脈塞栓術を施行しても残存肝の十分な肥大が得られないのみならず、肝不全の危険性から塞栓術の適応から外される場合もある。

二期的門脈結紮術（portal vein ligation：以下PVL）は、正常肝の肝再生を促進することが報告されているが、障害肝においても同処置が肝再生に寄与するかは明らかではない。今回、四塩化炭素（CCl<sub>4</sub>）誘導ラット硬変肝モデルを用いて、障害肝における二期的PVLの肝再生促進効果および安全性について検討した。

### 【対象と方法】

SD系雄性ラット4週齢（110～140g）に、50% CCl<sub>4</sub>（0.2 ml/2回/週）を6週間皮下投与し、硬変肝モデル（250～350g）を作成した。CCl<sub>4</sub>誘導硬変肝は可逆的であるため、PVL後もCCl<sub>4</sub>を週1回皮下投与し、肝線維化を維持させた。肝硬変を作成後、肝臓容量の70%を結紮することを目的として門脈左枝を一次的に結紮する70% PVL（A群）、門脈右枝・左枝を同時に結紮する一次的90% PVL（B群）、および門脈左枝結紮後7日目に門脈右枝を結紮する二期的90% PVL（C群）の3群に分けた。各処置終了後2日目、7日目、および14日目に犠死させ、肝臓および血液を採取した（各群n=6）。術後14日目の生存率（n=10）と、肝再生の評価として非結紮葉（尾状葉）の肝重量比（尾状葉/全肝×100比、尾状葉/体重×100比）、PCNA labeling index（以下PCNA LI）、Mitotic index（以下MI）、肝障害の評価として血液生化学検査（AST、ALT、T-Bil、LDH、胆汁酸）、TUNEL labeling index（以下TUNEL LI）を検討した。

### 【結果】

- 1) 生存率：14日目の生存率はA、C群では100%であったが、B群は20%であり、A、C群とB群との間に有意差を認めた（log-rank test：p<0.001）。
- 2) TUNEL LI（%）：2日目のTUNEL LI（%）はA群0.4（±0.2）、B群7.2（±5.2）と、B群が有意に高値であった（p=0.01）。7日目の同値もA群0.1（±0.1）、B群0.9（±0.1）と、B群が有意に高値であった（p<0.001）。

3) 肝機能：2日目のAST, ALT, T-Bilは、それぞれB群がA群より有意に高値であった ( $p=0.01$ ,  $p=0.04$ ,  $p=0.001$ )。C群ではAST, ALT, T-Bil, LDH, 胆汁酸の上昇は認めず、術前値と同レベルであった。

4) 肝重量比 (%)：14日目における尾状葉/全肝 $\times 100$ 比は、A群  $27.2(\pm 3.8)$ , B群  $28.2(\pm 12.7)$ , C群  $55.6(\pm 10.0)$ で、A, B群に比しC群が有意に高値であった (A vs. C,  $p<0.001$ , B vs. C,  $p=0.005$ )。14日目の尾状葉/体重 $\times 100$ 比も、A群  $1.2(\pm 0.2)$ , B群  $1.0(\pm 0.5)$ , C群  $2.4(\pm 0.4)$ であり、A, B群に比しC群において有意に高値であった (A vs. C,  $p<0.001$ , B vs. C,  $p=0.001$ )。

5) PCNA LI (%)：14日目におけるPCNA LI (%)は、A群  $3.2(\pm 0.7)$ , B群  $1.3(\pm 0.8)$ , C群  $7.3(\pm 1.8)$ であり、A, B群に比しC群において有意に高値であった (A vs. C,  $p=0.001$ , B vs. C,  $p<0.001$ )。

6) MI：14日目におけるMIは、A群  $23.6(\pm 4.2)$ , B群  $22.7(\pm 3.8)$ , C群  $42.5(\pm 6.8)$ であり、A, B群に比しC群において有意に高値であった (A vs. C,  $p<0.001$ , B vs. C,  $p=0.003$ )。

### 【考察】

肝悪性腫瘍に対する拡大肝切除は治癒を望める治療であり、近年は手術方法やデバイス等の進歩により、より安全な手技となってきたが、術後肝不全はいまだ致命的となる重大な合併症である。また肝切除の対象となる症例は、肝線維化など何らかの肝障害を有する 경우가多く、障害肝に対する拡大肝切除の安全性を高めることが実臨床における重要な課題となっている。

残肝の再生を促進することは、肝切除の安全性を向上させるために有用である。二期的PVLは、PVL後に内皮細胞から放出される増殖因子(肝再生のトリガー)が、経時的に減少していく過程において二度目の結紮を行い、非結紮葉(残肝)への門脈血流増加を惹起することで肝再生を長期的に促進し、非結紮葉を肥大させる手法である。今回の研究結果より、正常肝のみならず肝硬変を呈する障害肝に対しても、二期的PVLによって肝細胞増殖能が長期に渡って維持されていることが、組織学的検討(PCNA LI, MI)によって証明された。また障害肝に対する一期的PVLは、高度の肝障害や肝細胞のアポトーシスを誘導することで致命的な手技になりうるのに対し、二期的PVLは安全であるだけでなく、より高い肝再生促進効果が期待できる手技であることが明らかになった。

### 【結論】

術後も肝線維化を維持させたラット硬変肝モデルにおいて、一期的90%PVLは致命的な肝不全に陥るが、二期的PVLは肝不全を回避でき、また肝再生がより促進されることが確認された。薬剤や新しい侵襲的な手技を用いることなく、PVLという既存の手技のみで障害肝の肝再生を安全に促進できれば、その臨床的意義は大きい。二期的PVLは、障害肝においても安全に残肝の肥大・再生が得られる手技であり、拡大肝切除の手術成績の改善につながる可能性がある。

### 論文審査の結果の要旨

申請者 梶井 航也は、四塩化炭素誘発ラット硬変肝モデルを用いて、二期的門脈結紮術が致命的な肝不全を回避するのみならず、障害肝においても肝再生を促進する有効な手技であることを証明した。本研究成果は、肝切除術の安全性の向上や肝再生機序の解明に関する研究の発展に資するものであり、消化器外科学の進歩に少なからず寄与すると認める。

---

#### [主論文公表誌]

Koya Tochii, Hisashi Iwata, Takuya Sugimoto, Kei Takahashi, Seishiro Sekino, Shigeru Kiyama, Masaki Kimura, Katsutoshi Murase, Takafumi Sekino, and Kiyoshi Doi: Two-stage Portal Vein Ligation Facilitates Liver Regeneration Safely in Rats with Liver Cirrhosis  
Journal of Investigative Surgery doi:10.1080/08941939.2021.1894517