

宿題報告 1

遊離肝細胞を用いた肝不全への新たな対応

旭川医科大学第2外科
水戸 廸郎

NEW THERAPEUTIC APPROACH TO HEPATIC FAILURE USING ISOLATED HEPATOCYTES

Michio MITO

The 2nd Department of Surgery, Asahikawa Medical College

複雑多岐にわたる肝臓の機能を代行するには、現時点では生体肝の有する酵素系に依存せざるをえない。われわれは、肝臓を細胞単位に分離して、この遊離肝細胞を用いて肝不全を治療する方法の研究を重ねてきた。劇症肝炎や術後の急性肝不全には、この遊離肝細胞を代謝のリアクターとした体外代謝補助装置を試作し、in-vitro 実験では代謝機能を、肝不全犬との灌流実験では生存時間の有意な延長を確認しえた。一方、肝硬変症のような慢性肝不全には、自身の分離肝細胞を脾内に自家移植して増殖した細胞集団に機能を補助させる方法を検討し、ラット、サルなどの実験成績をもとに、臨床への応用を試み、現在経過を観察中である。

索引用語：遊離肝細胞，急性・慢性肝不全，肝細胞脾内移植，代謝補助装置

I. はじめに

生体内で最も大きな実質臓器である肝臓は、生命維持に不可欠な物質代謝を担う化学工場であり、複雑多岐にわたる機能を有する。したがって、機能不全に陥り込んだ肝臓を代行するには、人工的な手段では不可能であり、現時点では生体肝を用いる以外に方法がない。肝臓移植のように、肝臓を全肝として利用することでは、例え脳死下の臓器摘出が社会的には認められたとしても、絶対的にドナー肝の数が不足である。また、急性肝不全のように全身状態が不良でしかも一刻を争うような場合の肝移植は非現実的であり、何らかの対策が必要であろう。

さて、肝臓は本来非常に再生力の旺盛な臓器である。われわれはこの点に着目し、劇症肝炎や術後肝不全のような急性肝不全の場合には、異種肝を用いた体外肝機能補助によって、病肝が再生するまで肝機能を代行させ、また肝硬変に代表される慢性肝不全では自身の肝臓の一部をひとたび細胞単位に分離し、正常な肝細胞を脾臓に移植して分裂増殖させることによる体内肝

機能補助によって、病肝の機能を代行させるといふ、新しい治療法の開発を検討している。

本文では、現在までのわれわれの研究成績と今後の課題について報告する。

II. 急性肝不全対策としての Hybrid Artificial Liver

肝細胞の急激かつ広範な壊死、脱落による急性肝不全時に、障害された肝臓が自らの力で再生するまでの人工的な手段による機能補助法を、人工的肝機能補助 artificial liver support といい、その基本的な概念が確立されたのは1950年代のことである(表1)。大きく、非生物学的的方法、生物学的的方法、両者の混合である hybrid 法そしてその他の方法にわけられる。今日、臨床応用がなされているのは、ポリアクリロニトリル膜(PAN膜)による血液透析、活性炭による血液灌流、血液、血漿交換そして、異種肝体外灌流などである。本項では、これらの治療成績を劇症肝炎例で概観し、著者らの hybrid artificial liver の研究について述べる。

1. 劇症肝炎臨床の現況

劇症肝炎の治療成績を比較することは、原因、治療開始時の昏睡の程度、年齢、昏睡にいたるまでの時間、

※第28回日消外会総会

<1986年12月10日>別刷請求先：水戸 廸郎

〒078 旭川市西神楽4-5 旭川医科大学第2外科

表1 人工的肝機能補助研究の歩み

1. 非生物学的手法による		
1956	Kiley	Kolff 型透析装置で肝性昏睡を治療.
1958	Shechter	陽イオン交換樹脂でアンモニアを除去.
1964	Yatzidis	活性炭吸着療法の開発.
1974	Gazzard	活性炭による劇症肝炎の治療.
1976	Opolon	PAN 膜透析法の開発.
2. 生物学的手法による		
1956	Sorentino	牛肝ホモジネートバックの装置試作.
1958	Mikami & Mito	イヌ肝スライスおよび凍結乾燥顆粒による装置の試作と臨床応用.
1973	Matsumura	ラット肝細胞利用モジュールの試作.
1976	Eiseman	遊離肝細胞モジュールの試作.
1976	Denti	肝酵素モジュールの試作.
1980	Brunner	肝酵素利用透析装置の試作.
1980	Chang	酵素利用人工細胞の研究.
3. Hybrid Artificial Liver		
1956	Hori	イヌ肝灌流システムにイオン交換樹脂リアクターを併用.
1978	Hagar	培養肝細胞利用モジュールの試作.
1979	Mito	肝細胞利用代謝補助装置の試作.
4. その他		
1958	Otto	摘出肝体外灌流法の開発.
1958	Lee	交換輸血を肝性昏睡に応用.
1967	Lepore	血漿交換療法の開発.
1980	Lie	ヒヒ肝体外灌流臨床シリーズ.

表2 劇症肝炎の成績

治療法	患者数	意識の改善 (%)	生存率 (%)	報告者(年度)
保存的	232	—	6	太田 (1972)
	53	—	15	Silk (1977)
	108	25	20	Opolon (1977)
PAN 膜	39	44	23	Opolon (1977)
	108	—	29	Gimson (1982)
	43	—	19	山本 (1985)
活性炭	45	—	20	Gimson (1982)
	33	—	18	天野 (1985)
血漿交換	24	—	17	天野 (1985)
	15	60	33	井上 (1985)
	27	—	33	平沢 (1985)
肝灌流	24	67	33	西独 (1980)

的客観的な評価ができそうな成績を表2にまとめてみた。保存的な治療成績は、6~20%とバラツキがあるが、施設に注目してみると、イギリスの Williams グループの Silk²⁾は保存的治療成績を15%、そして同施設の Gimson³⁾は PAN 膜血液透析では29%、活性炭血液灌流では20%の生存率を報告し、フランスの Opolon⁴⁾は保存療法20%、PAN 膜透析で23%を報告している。これら2施設の成績でみると、PAN 膜や活性炭などの、いわゆる中毒性物質の除去療法のみでは、生存率を10%程度しか向上できなかったといっても過言でなく、本邦例も同様の成績である。血漿交換は、本邦の中空糸型血漿分離器が秀れていることと、交換用の血漿が比較的容易に入手できることもあって、症

表3 劇症肝炎の異常物質

報告者	方 法	成績(分子量)
Hughee	Sephadex G25クロマト	10,000以下
Chang	Sephadex G15ゲルクロマト	500~5,000
井 上	液クロマト	500~1,000
Faguer	ゲルクロマト	約1,000
山 田	³ H-メチオニンの up-take	500~5,000

合併症の有無などの要因が予後に大きく影響するので¹⁾、簡単なことではない。たとえば原因ひとつをとってみても、本邦例では90%以上がウイルス性であるが欧米では50%以下であり、予後は、ウイルス性が極めて不良であるため、結果的に本邦例の治療成績が不良になってしまうといったことがおこる。そこで、可及

表4 吸着剤の問題点と対策

	活 性 炭	イオン交換樹脂
問 題 点	① 血球成分の吸着 ② 低分子・蛋白結合物質は不得手 ③ 非選択的吸着	① 血球成分の吸着 ② 荷電による吸着能 ③ 非蛋白結合物質は不得手
対 策	① 新しい材料の開発 ポリウレタン固定粉状炭シート セルロース由来フェルト炭 ② 新しいコーティング法の開発 ヘパリン親水性ポリマー シリコーン ③ 灌流方式 分離血漿灌流方式 多種吸着剤灌流方式	① 新しい材料 非イオン化樹脂 (XAD-レジン) ポリスチレン系陰イオン樹脂 ポリアミン系陰イオン樹脂 ② 新しいコーティング法 アルブミン アセチル化キチン

例数は本邦が多く、その生存率は約30%となっている。一方、西独では、血液型がヒトに近似し、かつ入手可能な点から、ヒヒ肝の体外灌流が行なわれている⁵⁾。24例と、例数は少ないが、生存率33%と、血漿交換と同様の成績である。これらの成績で注目されるのは、生存率の向上は期待した程得られなかったが、意識の改善率が非常に良好なことである。このことは、肝性昏睡の原因として、肝の体謝障害による何らかの中毒性物質の蓄積を強く疑わせる(表3)。今日なお、物質の同定には至っていないが、分子量の小さなものから、蛋白に結合している大きなものまで考えられている。このような、血液中の中毒性物質を除去するという点からそれぞれの方法をみても(表4, 5)、活性炭、イオン交換樹脂(臨床応用はこれから)などの吸着剤やPAN膜透析には除去物質に得手、不得手があり分子量の大きさという点では制約のない血漿交換にも、除去量の点で問題があることがわかる。現在それぞれの問題点に対する対策が各種検討されており、今後の成果を期待したい⁶⁾。

2. Hybrid Artificial Liver の研究

前項で述べた方法は、肝臓の機能のうち、解毒機能の一部を代行する方法といってもよからう。われわれは、肝臓のもうひとつの大きな機能である、物質代謝機能の補助をも備えた total support system の開発が重要であろうとの見地から、後者の機能として、生体肝素材を用いる方法を検討している。

この代謝補助装置には、緊急時にいつでも使用でき操作が容易であること、代謝補助機能が長時間維持できること、ディスプレイブルであることなどの条件が求められる。このようなことから、使用する生体肝素

表5 透析・濾過と血漿交換法の問題点と対策

	透 析 ・ 濾 過	血 漿 交 換
問 題 点	① 脂溶性、蛋白結合物質は不得手	① 大量の血漿が必要 ② 体内代謝プールの大きなアミノ酸、ビリルビンなどは不十分
対 策	① 透析液の工夫 (シリコンオイルなど) ② 長時間連続透析 ③ 吸着剤との併用	① 二重濾過方式 ② 冷却濾過方式 ③ 吸着剤との併用

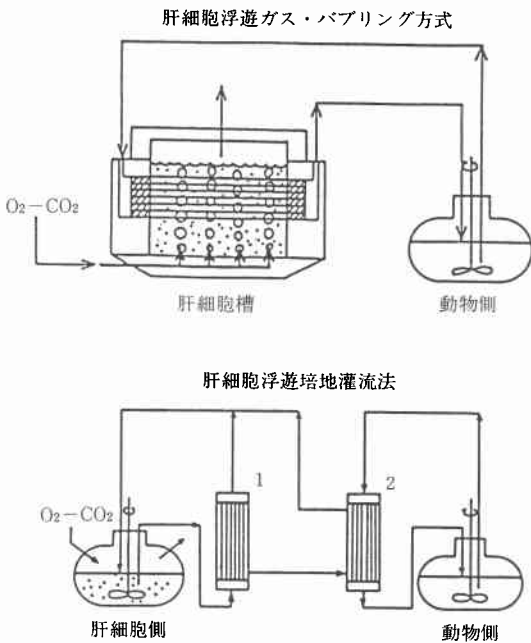
材は、遊離肝細胞の形で大量に凍結保存しておき、使用時に解凍して、肝細胞としての機能を再現させる方法を採用することにした。

1) 肝細胞の大量採取と保存

本装置には肝細胞を大量に使用することになるので、ビーグル犬(約10kg)の肝臓を用いた。ラットのような小動物の肝細胞分離法⁷⁾では不十分なので、EGTAによるCa⁺⁺のキレート剤の併用、コラゲナーゼ酵素液へのCa⁺⁺の添加、十分な灌流量の確保などの改良が必要であった。この方法で約90%のviabilityで全肝細胞の70%以上(約2×10¹⁰個/匹)の分離が可能となった⁸⁾。

凍結保存法は、DMSOを基本とした凍害防止液25mlに、細胞浮遊液25mlを血液冷凍用バッグに注入し、プログラミング、フリーザーで2~4℃/minの冷却速度で、-80℃まで凍結し、液体窒素槽内で保存するものである。解凍は、バッグを37℃恒温槽中に浸して急速に行い、遠心洗浄してDMSOを除去する。こうして得

図1 試作代謝補助システムの模式図



られた保存肝細胞の viability は約70%で回収率は50%程度である。

保存肝細胞の代謝維持能を検討したところ、肝細胞内 ATP 量の変化は非保存細胞とほぼ同程度、¹⁴C-leucine の up-take 能は約50%、アンモニア代謝能、尿素窒素合成能、グルコース産生能はそれぞれ40~60%を示していた⁸⁾。

2) 代謝補助装置の試作と成績

10kg 程度の動物を対象として装置を試作した¹⁰⁾。システムの概要は、患者となる動物の血液と肝細胞浮遊液とが中空糸分離膜を介して接触し、物質交換を行うという、体外血液灌流法である。図1のように、ふたつの方法、すなわちガス・バブリング方式と培地灌流方式を検討した。前者は肝細胞浮遊槽内に中空糸分離膜を浸し、酸素化のためにガス・バブリングを行うもので、後者はひとたび肝細胞浮遊液から培地のみを抜きとり、この培地と血液が別の中空糸モジュールで接触するもので、酸素化は培地へのガスの拡散のみとなる。物質交換は分画分子量10万の膜を介してなされ、いずれも肝細胞は約40g (全肝の約20~30%) を用い、浮遊培養に類似した方法で維持されている。両方式の in-vitro テストによる代謝能は、アンモニアの減少、BUN とグルコースの上昇でみると、バブリング方式と培地灌流方式でそれぞれ、155と215 μ g/g \cdot cell/h,

図2 両循環方式の細胞槽内の変化

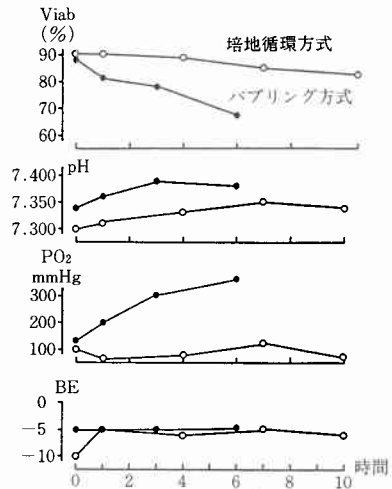
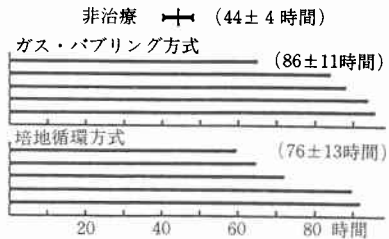


図3 Gal 肝不全犬の生存時間の比較



0.517と0.567mg/g \cdot cell/h, 3.5と3.9mg/g \cdot cell/h とほぼ同様であった。細胞の viability と浮遊液のガス分析結果をみると(図2)、viability は、バブリング方式では6時間後には70%以下となるが、培地灌流方式では10時間後でも80%を示し、pH、pO₂、BE はいずれも良好に維持された。

ガラクトサミンを投与して急性肝不全としたビーグル犬との灌流実験では、非治療群の生存時間が44 ± 4時間であるのに対して、治療群ではそれぞれ、86 ± 11時間、76 ± 13時間と有意に生存時間の延長が認められた(図3)。

3) 今後の課題

著者らの、hybrid artificial liver の研究の課題としては、①肝細胞採取法を簡略化し、より機能を維持した保存法の開発、②代謝補助装置内の肝細胞の機能を、より長時間維持できる方法の研究、③解毒機能と代謝機能を装備したシステムの検討などがあげられ、現在検討中である。

表6 肝細胞移植の歴史

報告者	年度	研究内容
Rugstadら	1970	先天性黄疸ラットをラット肝癌細胞の皮下移植で治療
Matasら	1975	先天性黄疸ラットを成熟ラット肝細胞の門脈内注入で治療
著者ら	1976	ラット肝細胞脾内移植に成功
Grothら	1977	先天性黄疸ラットを成熟ラット肝細胞の門脈内注入で治療
Sutherlandら	1977	ガラクトサミン肝不全ラットの治療に成功
Sommerら	1979	〃
Makowkaら	1980	〃
Sommerら	1980	イヌ阻血肝・急性肝不全の治療に成功
Makowkasら	1980	ブタの肝細胞を用いて治療に成功

III. 慢性肝不全対策としての脾内肝細胞移植

肝硬変症あるいは先天性胆道閉塞症などの末期肝疾患患者への積極的な治療法としては、現在のところ肝移植以外に方法はない。肝移植成績は、移植手技の改善や秀れた免疫抑制剤の開発などによって、5年生存率は約70%になっている¹⁰⁾。しかしながら、ドナー肝の絶対数の不足はいかんともしがたい¹¹⁾。そこで著者らは、慢性肝不全患者に対する肝機能補助を目的として、肝細胞移植による方法の開発を検討している。細胞単位にして移植することの有利性としては、①移植手技が容易、②自家移植が可能、③長期保存が可能、④免疫学的な修飾ができるなどの点があげられる。

さて、肝細胞移植によって、障害された、あるいは先天的な肝臓の酵素欠損症を治療しようとの試みが始められたのは、1970年になってからである(表6)。最初は、ライン化された肝癌細胞が用いられたのであるが¹²⁾、肝細胞分離技術が進歩するにつれて、成熟ラット¹³⁾や、イヌ¹⁴⁾、ブタ¹⁵⁾などの肝細胞も用いられるようになり、対象疾患も、酵素欠損の他に、急性肝不全への応用も行われるようになった。本項では、著者らの脾内肝細胞移植の基礎と臨床成績について紹介する。

1. 脾内肝細胞移植の基礎実験

ラットを用いて、肝細胞の移植部位として、皮下、腎被膜下、腹腔内、門脈内などいろいろと検討したが、脾内が最も良好であることが判明した¹⁶⁾。

1) 脾内移植法

ラットの場合には、エーテル麻酔下に左側腹部の約1.5cmの小開腹創より脾臓を引き出し、脾門部の血流を一時的にクランプして脾の下極より27番ゲージ針を用いて、肝細胞約 5×10^6 個/匹(約0.2ml)を注入する。移植細胞数が少なすぎると生着せず、また多過ぎると肝に流出して門脈閉塞を起して死亡することがある。刺入部は糸で結紮し、数分の後にクランプを解除し、

脾を腹腔内にもどし閉腹する。

イヌ、サル、ブタなどの大動物で自家移植する場合には、通常肝の左外側葉を部分切除し、複数のチューブを断端面の血管に挿入する。多肢チューブ灌流法で細胞に分離した上、 10^8 のオーダーの細胞を移植する。大動物では、肝細胞の流出を防ぐために、脾動脈を結紮することもある。

2) 移植肝細胞の形態と機能

ラットにおける移植肝細胞の増殖過程をみると、移植4～6週までは数の減少をみるが、徐々に増殖を開始し、6カ月を過ぎると結節状の集団となり、1年を過ぎると肉眼的に確認できるようになる(図4, 5)。光顕、電顕では、細胆管の構築が認められない以外は、全く正常肝組織像と類似している。PAS, G-6-P, アルブミンなども陽性であり、Horse Radish Peroxidaseの細胞内取り込みと毛細胆管への分泌過程も確認された。

脾内移植肝組織中の各種酵素活性は、ほぼ正常肝組織と同様であるばかりでなく、Eck瘻を作製すると、GOT, GLDH活性の著増が認められ、低下した宿主肝の機能を代償していることが推定された。さらに、この移植肝の機能を、宿主肝の阻血実験により検討したところ、移植肝の存在は著明な生存時間の延長をもたらした(図6)。

一方、イヌ、サル、ブタなどの大動物では、移植肝細胞の態度はラットの場合と異なり、通常6カ月以上ではほとんど細胞の確認は困難となり、1年以上では、もはや確認は不可能であった。ところが、サルの1例において、移植1年後にEck瘻を作製し、3カ月後に脾摘してみたところ、結節状の肝細胞集団が確認された(図7)。これらの成績の違いが、動物の種差による脾臓の違いによるものかどうか、現時点では詳細は明らかではない。

図4 脾内移植肝細胞の増殖過程

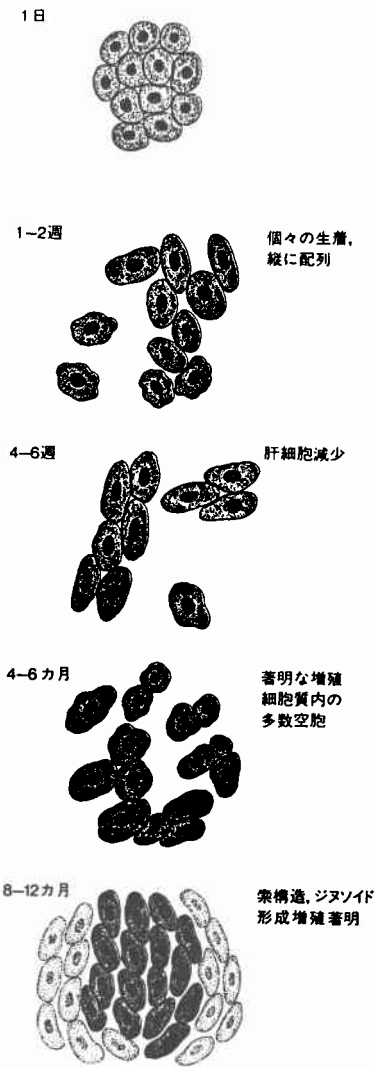


図5 肝細胞移植27カ月後の脾臓。左側の白変部が肝細胞の増殖部。

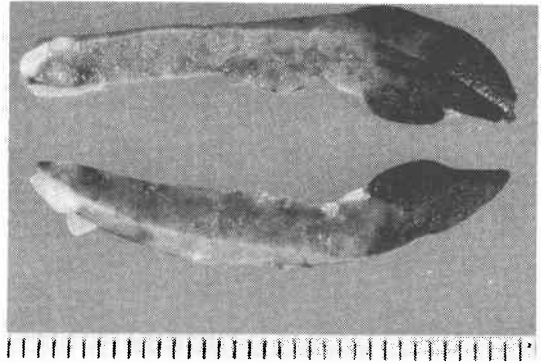


図6 ラット肝阻血による生存時間は、脾内移植肝細胞の存在により延長した。

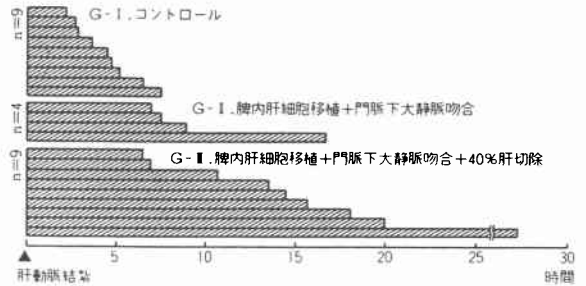
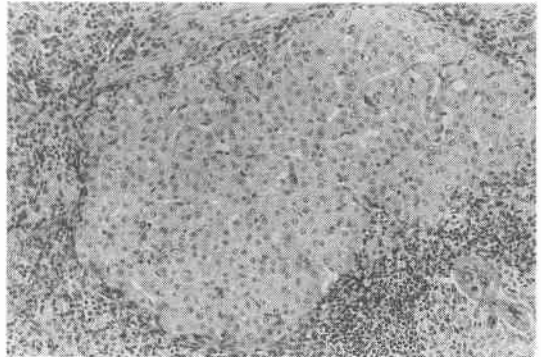


図7 サルの脾内移植肝細胞（肝細胞移植1年後に門脈下大静脈吻合をし、3カ月後のもの）



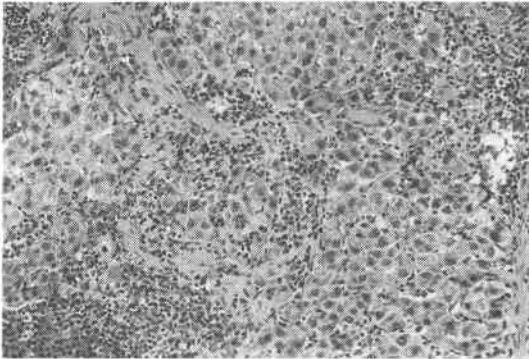
のひとつである。

次に、凍結保存肝細胞の移植実験であるが、DMSOを用いたわれわれの凍結保存法による移植後の成績では、生着率は正常肝細胞に比べ低下しており、分裂・増殖能も旺盛とはいえないが、長期保存後の細胞の移

3) 硬変肝細胞および凍結保存肝細胞の脾内移植

脾内細胞移植の臨床応用では、肝硬変症が最高の適応となり、また肝細胞の長期保存も必要となることが考えられる。そこで、 CCl_4 投与により作製したラット肝硬変を用いて、分離および移植実験を行った。硬変肝細胞分離は正常肝に比べ難しく、移植細胞数はかなり少なくなったけれども、移植1年後には正常な場合と同程度の増殖を示し、グルコースやアルブミン産生能も維持していた。しかしながら、組織学的にみると、肝細胞索構造は正常細胞移植時と異なり、two ないし、several cells thick plate が混在しかつ、collagen 線維の産生が観察されており、この線維化が今後の問題点

図8 長期凍結保存した肝細胞の脾内移植19カ月目の
光顕像



植19カ月目の状態は、非保存細胞の7~8カ月目に相当することが判明した。形態学的には、細胞構造は正常であり、PAS染色でも陽性を示し、代謝機能を保持していることが確認されている(図8)。

2. 脾内肝細胞移植臨床の試み

表7 ヒト部分肝よりの肝細胞採取法

1. 肝部分切除。
2. 灌流用カテーテル挿入可能血管にはカテ挿入、他の部分には、18G注射針を複数刺入。
3. Ca⁺ free ハンクス液で血液を wash out。
4. 0.5% コラゲナーゼ酵素剤による再循環灌流(約30~40分)。
5. ハサミによる細切、ガーゼによる濾過。
6. 冷ハンクス液による遠沈洗浄(3~4回)。

表8 新しい多肢穿刺灌流法による人肝、
肝細胞分離成績—部分肝—

分離方法	取量 (Cells/gWL)	viability (%)
従来の方法 (乱刺+細切+消化) (n=10)	1.70×10 ⁵	39.9%
多肢穿刺灌流法 (n=7)	1.22×10 ⁶	72.3%

ラットによる基礎実験ならびにサルにおける移植成績から、臨床応用への可能性が示されたので、ヒト肝

表9 脾内肝細胞移植の臨床例

症例	姓	年齢	性別
症例1	N. Y.	52y.	♂
<p>主訴：全身倦怠感 現病歴：S54年頃より易疲労感出現。 S55年~56年にかけて10カ所の病院を受診、入退院を繰り返す。 その際、食道静脈瘤を指摘される。 S60年7月精査目的にて当科入院。</p> <p>主な検査所見： 血液：WBC 3100 GOT 104K.u Alb 3.8g/dl Pt 3.6×10⁴ GPT 92K.u HPT 54% T bil. 1.1mg/dl TTT 7.1M.u ICG_R-max 0.69</p> <p>GF : R-C sign (+) US : 肝左葉腫大、脾腫、SOL (-) OP : 食道離断術、肝細胞移植(脾動脈より) 切除肝重量：75g、移植細胞数：1.9×10⁷個 Viability：75%</p>			
症例2	Y. S.	55y.	♂
<p>主訴：全身倦怠感 現病歴：約20年前より肝機能異常を指摘される。 約1年前某医にて肝硬変と診断される。経過観察中にUS、血管造影にて肝癌と確診される。 S61年5月手術目的にて当科入院。</p> <p>主な検査所見： 血液：WBC 2900 GOT 96K.u Alb 3.7g/dl Pt 2.7×10⁴ GPT 50K.u HPT 59% T bil. 2.8mg/dl TTT 7.1M.u ICG_R-max 0.36</p> <p>OP : 右葉部分切除、肝細胞移植(脾実質内に) 切除肝重量：76g、移植細胞数：1.5×10⁸個 Viability：86%</p>			

細胞分離および移植へと研究が進められた。

1) ヒト部分肝よりの細胞分離

肝細胞分離の臨床を考えると、動物実験と異なり、肝臓は全肝あるいは肝葉の状態を得るわけにはいかず、肝臓のブロックすなわち部分肝の形で切除されることになる。したがって、肝の脈管へカテーテルを挿入した効果的な酵素灌流法を採用することができず、乱刺+細切+酵素消化といった、古典的な方法によらざるを得ない。この方法による採取率は極めて不良でかつ、viabilityも低率であった。そこで、複数のカテーテルに特別な18Gの側孔つき注射針をつけ、部分肝に6~8カ所刺入し、酵素液濃度をラットの10倍として循環灌流させるシステムを作り検討した¹⁷⁾(表7)。その結果、従来の方法では、viability約40%、 1.7×10^6 個/g・wet liverの成績であったが、新しい方法では、viability約72%、 1.2×10^6 個/g・wet liverと極めて良好な分離成績を得ることができた(表8)。

2) 臨床例の試み

前述のように、ヒト硬変肝からも移植に必要な細胞数の採取が可能となった頃、臨床例を試みる機会に恵まれた。症例1は、肝硬変食道静脈瘤で、食道離断術を施行する際に、肝細胞移植を同時に試みることを依頼されたものである。肝左葉外側区75gを切除し分離したところ、viability75%で約 2×10^7 個が得られ脾内に移植した。症例2は硬変合併肝癌で、肝臓の部分切除とともに、左葉外側区76gを切除し、得られたviability86%、 1.5×10^8 個を同様に脾内に移植した。いづれも移植操作は容易で、特に合併症もなく経過し、現在follow up中である(表9)。

3) 今後の課題

肝細胞移植は、臨床応用が試みられるまでに進展してきたが、より有効な治療手段に発展させるには、解決すべき課題として①肝硬変細胞を移植することになるので、障害の程度と移植の可能性のより詳しい検討、②移植肝細胞を早く分裂、増殖させる方法の開発、③ヒト肝細胞の採取、保存法の改善、などがあげられ、今後の成果が期待される。

IV. おわりに

肝臓を細胞単位に分離して、急性肝不全に対してはhybrid artificial liverのbioreactorとして用い、慢性肝不全に対しては脾内移植を行い、それぞれ障害肝の機能をsupportする方法について、著者らの研究成果を中心に、研究の現況と今後の課題について報告した。

研究に携さわった教員諸兄に深謝する。

文 献

- 1) 清水 勝, 高橋善彌太, 武藤泰敏ほか: 劇症肝炎の本邦臨床統計。とくに予後分析。日臨 40:16-22, 1982
- 2) Silk DBA, Hanid MA, Trewby PN et al: Treatment of fulminant hepatic failure by polyacrylonitrile membrane hemodialysis. Lancet 2:1-3, 1977
- 3) Gimson AES, Ede R, Braude S et al: Fulminant hepatic failure and artificial liver support. Gastroenterol Jpn 17:144-162, 1982
- 4) Opolon P: High permeability membrane hemodialysis in acute hepatic coma. Experimental and clinical results. 2nd International Symposium for Artificial Organs (Abstr). Tokyo, 1977, p19
- 5) Germany Group: Surgical support cases reported in Artificial Liver Support. Edited by Brunner G, Schmidt FW, Berlin, Springer-Verlag, 1981, p271, 275, 282
- 6) 水戸迪郎, 葛西眞一: 人工肝。消化器科 3:158-165, 1985
- 7) Berry MN, Friend DS: High-yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells. J Cell Biol 43:506-520, 1969
- 8) 葛西眞一, 浅川全一, 山本 哲ほか: 凍結保存肝細胞を利用した代謝補助装置の開発とその問題点。人工臓器 13:626-629, 1984
- 9) 葛西眞一, 水戸迪郎, 丹沢 宏: Hybrid Artificial Liverの研究—肝細胞浮遊液循環代謝補助装置の検討—。人工臓器 15:1429-1432, 1986
- 10) Starzle TE, Iwatsuki S, Shaw BW Jr et al: Orthotopic liver transplantation in 1984. Transplant Proc 17:250-258, 1985
- 11) 相沢 幹: 病理解剖統計からみた心・肝・脾の移植適応症例について。移植 21:1-6, 1986
- 12) Rugstad HE, Robinson SH, Yannoni C et al: Transfer of bilirubin uridine diphosphate-glucoronoyl transferase to enzyme-deficient rats. Science 170:553-555, 1970
- 13) Matas AJ, David ER, Sutherland DER et al: Hepatocellular transplantation in UDP glucuronyl transferase-deficient rats. Surg Forum 26:428-431, 1975
- 14) Sommer BG, David ER, Sutherland DER et al: Hepatocellular transplantation for experimental ischemic acute liver failure in dogs. J Surg Res 29:319-325, 1980
- 15) Makowka L, Rotstein LE, Falk RE et al: Reversal of toxic and anoxic induced hepatic failure by syngeneic, allogeneic, and xenogeneic hepatocyte transplantation. Surgery 88:244-253, 1980
- 16) Mito M, Ebata H, Kusano M et al: Morphology and function of isolated hepatocytes transplanted into rat spleen. Transplantation 28:499-505, 1979