日消外会誌　20（11）：2544～2549，1987年

肝臓および腸管の同時合併切除の肝再生に与える影響に関する基礎的研究

千葉大学医学部第1外科

河田　滋　宮崎　勝　志村　賢範　高橋　修
菅沢　寛健　栗原　正利　宇田川郁夫　越川　尚男
伊藤　博　神野　弥生　寺本　修　中島　透
海保　隆　木村　文夫　松本　潤　藤本　茂
奥井　勝二

EFFECT OF SIMULTANEOUS HEPATIC AND BOWEL RESECTION ON LIVER REGENERATION IN RATS

Shigemi KAWATA, Masaru MIYAZAKI, Takanori SHIMURA, Osamu TAKAHASHI, Hirotake SUGASAWA, Masatoshi KURIHARA, Ikuo UDAGAWA, Hisao KOSHIKAWA, Hiroshi ITO, Yayoi KANNO, Osamu TERAMOTO, Tooru NAKAJIMA, Takashi KAIHO, Fumio KIMURA Jun MATSUMOTO, Shigeru FUJIMOTO and Katsuji OKUI

The First Department of Surgery Chiba University School of Medicine

ラットを用い68％肝臓部分切除と消化管（回盲部および横行結腸）を同時切除した際の残存再生肝に与える影響につき検索した．血清GOT，GPT，T-Bil値には差異を認めなかったが血清Alb値は，肝切除群に比べ合併切除群に低下（$p<0.01$）を認めた．再生肝DNA合成能は肝切除群に比べて合併切除群では64～67％と低下していた（$p<0.01$）．再生肝の蛋白合成能は肝切除群が2日目に2.4倍と亢進するのに比べ，合併切除群では2日目には1.6倍とその亢進は抑制され（$p<0.01$～0.05）7日目にピークを示した．生存率においては肝切除群の100％に比べ合併切除群は45％，62％と著明に低値を示した（$p<0.01$）．以上のように肝臓および消化管の同時切除は切除後肝再生を著明に抑制することが示された．

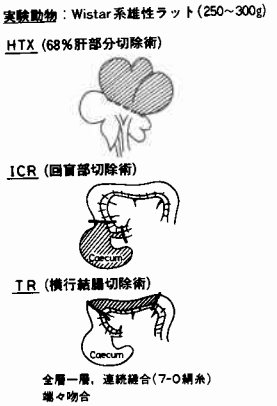
索引用語：肝臓・消化管同時合併切除，肝再生，再生肝DNA合成能，肝蛋白合成能

1．はじめに

従来，消化器癌に肝転移を認めた場合，その予後は悲観的であり，根治手術はほぼ不可能であるとする考えが支配的であったが，近年，これら肝転移巣を原発巣とともに切除した場合，原発巣に対する姑息切除のみを行った場合に比べ，良好な予後の得られることが明らかとなった．また最近のechography，computed tomographyなどの画像診断のめざましい進歩は肝転移の早期発見を容易かつ確実なものとし，加えて，手術手技および手術器機の開発と相まって，肝転移巣に対し積極的に肝切除術を行うようになってきた．ところで，このように消化器癌に同時性肝転移を認めた場合，原発巣に対する手術と，肝切除術を一期的に行うべきか，あるいは二期的に分けて行うべきかについては一定の見解に至っていないのが現状である．そこで今回，著者らはラットを用い，腸管切除術と肝切除を同時に施行した場合，切除後残存肝の再生に対し，どのような影響をおよぼすかという点に注目し，基礎的検討を加えたので報告する．

＜1987年6月8日受理＞別刷請求先：河田　滋
〒280　千葉市亥鼻1－8－1　千葉大学医学部第1外科

図1　肝切除術および腸管手術



2. 材料および方法

(1) 実験動物

250～300gのWistar系雄性ラットを用いた．すべて一定室温内にて，餌，水の自由摂取下に飼育した．

(2) 腸管および肝切除術

各種手術を施行するにあたっては，ペントバルビタール静脈麻酔下に腹部正中切開にて開腹した．腸管切除術は，回盲部切除 ileocecal resection (ICR) と横行結腸切除 transverse colon resection (TR) の2種を行い図1のごとくそれぞれの場所で腸管を切除した後，端々吻合を行った．また，腸管を切除はせずに単に離断し(横行結腸部にて)端々吻合を行ったものを，腸管切離吻合 colon anastomosis (C-Anast) とした．吻合はすべて針つき7-0 Silkを用い全層一層連続縫合を行い，これに要した時間は約15分であった．肝切除はHiggins and Andersonの方法[1]により，68%肝臓部分切除(HTX)を行った．実験群は以下のごとく7群に分けた．

第1群　Sham手術(単開腹)(Sham)
第2群　68%肝臓部分切除術(68%HTX)
第3群　回盲部切除術(ICR)
第4群　横行結腸切除術(TR)
第5群　同時合併切除術(ICR+68%HTX)
第6群　同時合併切除術(TR+68%HTX)
第7群　同時合併切除術(C-Anast+68%HTX)

なお第5～7群においては，消化管切除術と肝臓部分切除術を一期的に行った．手術は清潔下に行われ(非滅菌)，最後に腹腔内にPenicillin(明治製菓)40mg/kgを投与し，3-0 Silkにて一層全層縫合で閉腹した．

(3) 血清GOT，GPT，albumin，T-bilirubinの測定

各種手術の前，1，3，7，10，14，21日目に，同一ラットより繰り返し，約1mlの眼静脈採血を行い血清を分離採取した．血清GOT，GPT値はSTS-Test Wakoを，また血清albumin値はAlbumin B-Test Wakoを血清T-bilirubin値はBilirubin-Test Wako(すべて和光純薬工業)を用い測定した．

(4) 再生肝重量の測定

68%肝切除を行う際，切除肝重量：Aを測定し，これにより残存肝重量：Bを以下の計算式にて求めた．

$$A : B = 68 : 32$$

$$B = \frac{32}{68} A = 0.47A$$

肝切除後2，3，5，7，10日目に屠殺し，再生肝重量：Cを測定した．肝重量の個体差が比較的大きいため，重量増加は，CをBで除した値，すなわち，切除時の肝重量との比較により表示した．

(5) 再生肝DNA合成能の測定

腸管切除の肝再生能に与える影響として肝切除後24時間後の再生肝のDNA合成能を指標に検討した．DNA合成能はVerlyら[2]，および三浦ら[3]の方法により，^{3}H-Thymidineの肝DNAへの取り込みを指標として表わした．

すなわち，肝切除を施行されたラットを屠殺し，摘出した再生肝からAuto Slicer (JAPAN SERVO Co. LTD)にて，0.5mm切片を作製し，その2片を20μCi, ^{3}H-Thymidine(Amersham International plc) (5.0Ci/mmol)を含む5mlのHank's solution中に浮遊させ95%O_2-5%CO_2混合ガス下，37℃にて2時間incubateした．反応停止後，同切片よりDNAを抽出し，このDNA内に取り込まれた^{3}H-Thymidine量を液体シンチレーションカウンターにて測定した．この値をDiphenylamine法で測定したDNA含量で除した値d.p.m./OD 600×1,000をもってDNA合成能を表現した．

(6) 肝蛋白含量の測定

肝切除の前，1，2，3，5，7，10日目の再生肝について，摘出した再生肝の切片に含まれる蛋白含量をLowry法[4]により測定し，この値を切片重量で除した値mg protein/g liverで表現した．

(7) 肝蛋白合成能の測定

各種手術の肝臓における蛋白合成能への影響をみるため，Hasselgrenらの方法[5]に準じて，肝蛋白合成能を経時的に測定した．手術前，2，3，5，7，10日目に屠殺したラットよりDNA合成能測定と同様にして得た肝切片を10μCi/ml ^{14}C-Leucine (New England

Nuclear）（344ml/mmol）を含む3ml の RPMI buffer に浮遊し同様に incubate した後，同切片を取り出し homogenate し蛋白分画を抽出し，この中に取り込まれた^{14}C-Leucine を液体シンチレーションカウンターにて測定した．この値を Lowry 法で測定した蛋白含量で除した値, d.p.m./mg protein をもって蛋白合成能を表現した．

（8）生存率

各群ラットについて，2週間にわたり生存率を観察した．

結果の統計学的処理は，生存率の比較は χ^2-テストにより，その他については Student's t テストにより行った．

3. 結　　果

（1）血清 GOT，GPT，albumin，T-bilirubin 値の推移

血清 GOT，GPT 値は図2に示すごとく68%HTX 施行群において1日目に急激な上昇を認め上昇の程度は68%HTX 単独群と ICR+68%HTX 群および TR+68%HTX 群間に明らかな差は認めず，3群ともに肝切除後3日目にはほぼ前値に復した．一方腸管切除のみの ICR 群および TR 群では上昇を示さなかった．血清 Albumin 値の推移をみると図3，4のごとく68%HTX 群ではほとんど変化を示さなかったのに比べ，ICR+68%HTX，TR+68%HTX 各群では明らかな低下傾向を認めた．特に ICR+68%HTX 群では術後3日目にその値は68%HTX 群および ICR 群の両群に比べて有意差（$p<0.05$）をもって低下し，その回復には約2週を要した．また ICR 群，TR 群においても術後3日までの軽度の低下は明らかであるが，ICR+68%HTX 群，TR+68%HTX 群の方がより強い低下を認め，特に ICR+68%HTX 群の術後1，3日目には，ICR 群に比べ，有意差（$p<0.05$）をもって低下を示した．T-bilirubin 値の推移は図5のごとく68%HTX 群，および ICR+68%HTX 群，TR+68%HTX 群間に大きな変動を認めなかった．

（2）再生肝重量の推移

ICR+68%HTX 群，TR+68%HTX 群では68%HTX 群に比べ，図6のごとく明らかな有意差は認めえなかった．

（3）再生肝 DNA 合成能への影響

肝切除後24時間目の再生肝の DNA 合成能を比較すると図7のごとく68%HTX 群1,601±453に比べ，合併切除群の ICR+68%HTX 群1,075±322，TR+68%

図2　血清 GOT, GPT 値の変動

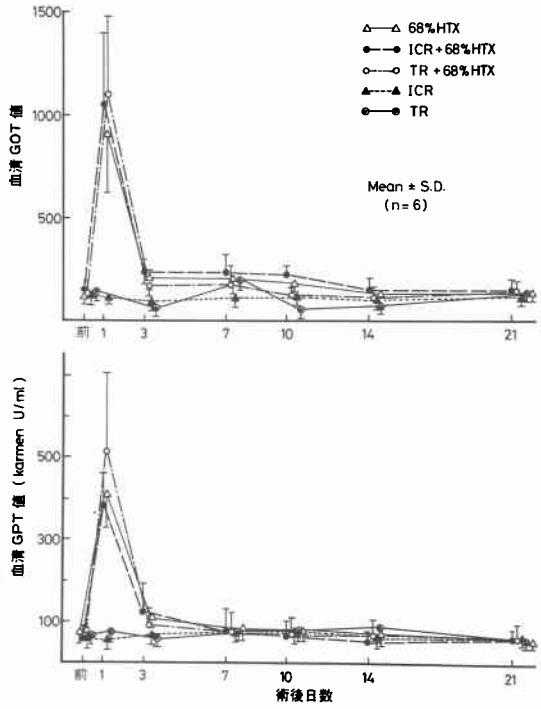


図3　術後血清 albumin 値の変動（1）

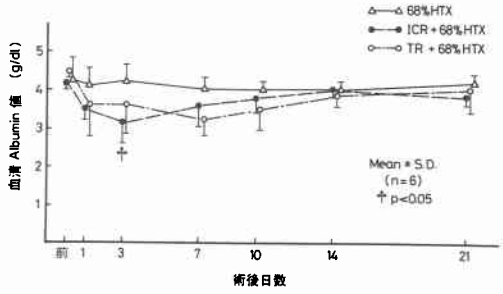


図4　術後血清 albumin 値の変動（2）

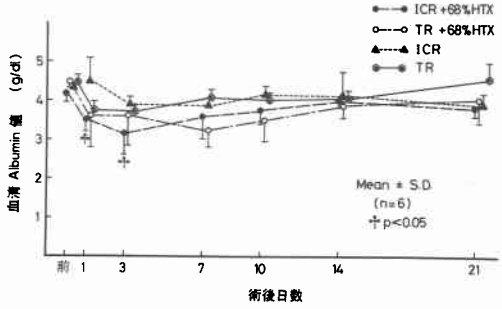


図5　T-bilirubin 値の変動

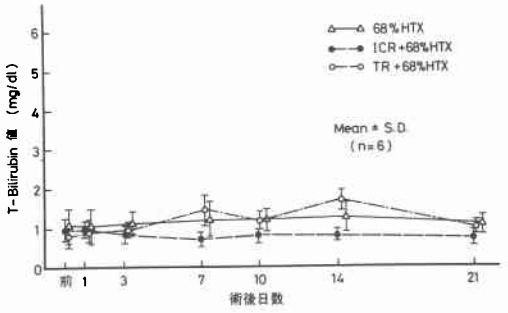


図6　再生肝重量の推移

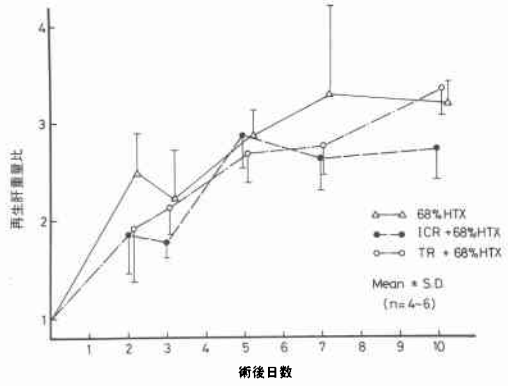
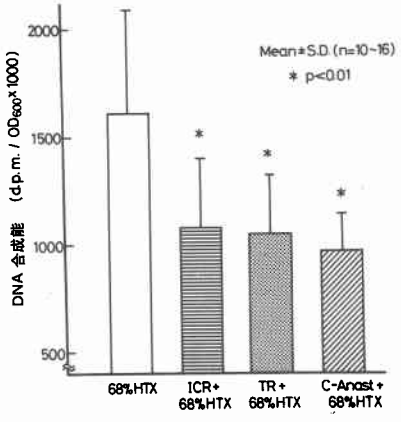


図7　再生肝の DNA 合成能



HTX 群1,043±284とそれぞれ，67%，64%の抑制を認めC-Anast+68%HTX 群においても957±252と59%で同様の抑制を示した．各群とも68%HTX 群に比べ $p<0.01$ の有意の低下であった．

(4) 肝蛋白含量の推移

図8は，再生肝組織中の蛋白含量を示したものであるが，68%HTX 群では，軽度の低下が続くのに比べ

図8　肝組織内蛋白量

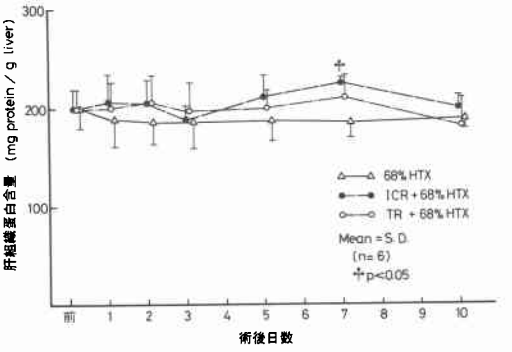
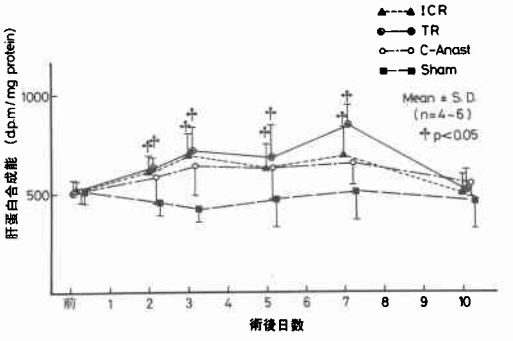


図9　術後肝蛋白合成能の変化（1）



ICR+68%HTX 群，TR+68%HTX 群ではむしろ軽度の上昇がみられ，またその増加は遷延しており，7日目においてはICR+68%HTX 群226±9mg protein/g liver で68%HTX 群186±14mg protein/g liver に比べ有意に高値を示した（$p<0.05$）．

(5) 肝蛋白合成能へ与える影響

開腹術および各種腸管手術後の肝蛋白合成能の変化を示したものが図9である．このようにICR 群，TR 群，C-Anast 群，すなわち腸管を切除あるいは単に離断し端々吻合を行っただけでも，肝蛋白合成能は亢進し，2日目および7日目におけるそれぞれの値はICR 群610±85，690±132，TR 群620±62，840±123で，Sham 群460±71，505±133に比べ有意に肝の蛋白合成能の亢進を示した（$p<0.05$）．またこれらの群が元の値に復するには約10日を要した．一方，図10に示したように，68%HTX 群の肝蛋白合成能は腸管切除群に比べ著明に亢進し，術後2日目に1,163±285とピークを示しその値は前値510±55の2.4倍であり，その後漸減した．これに比べ合併切除群であるICR+68%HTX 群，TR+68%HTX 群では2日目に802±236，750±296，と68%HTX 群に比べ有意の抑制を認めた

図10　術後肝蛋白合成能の変化（2）

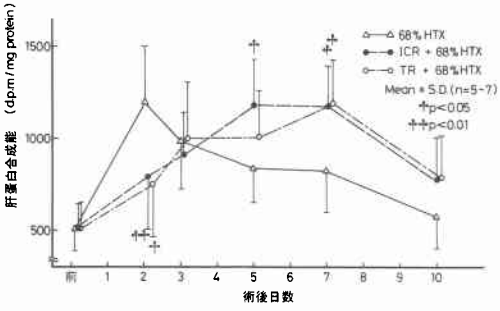
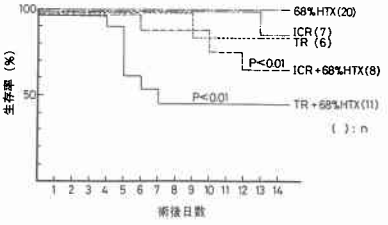


図11　生存率



（$p<0.01$～0.05）また合併切除群では肝蛋白合成能の亢進のピークは5～7日目に遅延し，ICR+68%HTX群において5日目1,185±265（$p<0.05$），7日目1,183±220（$p<0.05$）と68%HTXに比べ亢進を示した．

（6）生存率

図11は各群の術後14日目までの生存率を表わしたものである．68%HTX群は全例生存（100%）であるのに比べ，ICR群，TR群はそれぞれ85%，83%であった．一方，合併切除群であるICR+68%HTX群は62%，TR+68%HTX群は45%と著しい低下を示し，特にTR+68%HTX群とTR群間には明らかな有意差（$p<0.01$）を認めた．

4. 考　　察

肝臓外科の技術的進歩により近年，肝切除術が積極的に施行されるようになり原発性肝細胞癌ばかりでなく転移性肝癌に対しても，肝切除がなされるようになってきている．特に大腸癌の肝転移例に対する肝切除術は，大腸癌の発育の緩慢性という生物学的特性からも予後が転移性肝癌のうちでも最も期待しえるものであり，実際，大腸癌肝転移に対する肝切除後の予後については好成績が報告されつつある[6)~8)]．しかしながら，近年画像診断の進歩により術前に小さな転移巣が発見される例が増加しこのような同時性肝転移例に対し同時切除をすべきか，二期的手術をすべきかに関する明確な基準はなく，またその基礎的検討もほとんどなされていないのが現状である．例えばLoganら[9)]は，同時性肝転移例においては原発巣の切除後5～7日目に，またAdson[8)]は4～6週後に，Foster[10)]は2～6カ月以内におのおの肝切除を行うべきだとしている．しかし悪性腫瘍である以上，両病巣を一期的に切除できれば，より理想的と著者らは考え，臨床的にもできる限り同時切除を行っている．しかしながら肝機能障害がある場合や，広範肝切除になる場合などでは術後の消化管の縫合不全や肝不全発生といった問題が危惧される．そこで，今回ラットにおいて結腸切除と肝臓の広範切除を同時に施行し，特に切除後再生肝に与える影響を検討したわけである．

同時切除時の肝細胞障害を逸脱酵素である血清トランスアミナーゼ値で見る限り，その障害に差異は認められず，肝細胞膜の傷害には影響をほとんど及ぼさないと考えられた．しかしながら肝切除後の肝再生能をDNA合成能でみると，肝臓の単独切除時に比べ，腸管を同時切除した場合は64～67%（$p<0.01$）と著明に抑制されることが示された．この切除後肝再生の抑制は回盲部切除あるいは横行結腸切除のどちらの場合でも同様に起っていた．また，腸管由来の肝再生促進因子の存在[11)]が特に回盲部に関して報告されているが，この影響の可能性を検討するために，さらに横行結腸を切除せずに離断し，再吻合するだけの群を設けて検討を行ったが，やはり同様に肝再生は抑制されており，腸管由来の肝再生促進因子の影響が本実験結果において関与している可能性は否定しえたと考えられた．すなわち腸管および肝臓を同時に切除した場合，肝臓の切除後再生は著明に抑制され，その抑制は本実験結果から腸管の部位および切除範囲によるものではなく，腸管切離，再吻合という過程の何らかの要因によって引きおこされるものと考えられる．その詳細な機序に関しては今後さらに検索が必要と考えられる．

一方，肝蛋白合成能であるが，一般に肝臓の部分切除後には再生のため，すなわち肝臓の構造蛋白の補給の目的で蛋白合成能は亢進するといわれており[14)]，またこの場合，肝蛋白の崩壊速度も著しく遅延すると報告されている[15)]．すなわちラットで68%肝部分切除を行った場合，肝蛋白合成能は36～40時間後に正常肝のそれの2.5～3.0倍に達し，以後漸減すると言われており[13)]，今回の著者らの結果でも同様の結果を得ている．腸管との合併切除群では今回の結果からわかるように，合併切除後2日の肝蛋白合成能の亢進は認められ

るが，肝切除単独群に比べ抑制されており，DNA 合成能の抑制と合わせ考えると，同時期における肝再生のための構造蛋白の合成亢進が，DNA 合成に引き続いて抑制されたと考えることができよう．しかしながら，その後の合併切除群の蛋白合成能の亢進は遷延しており，これは腸管切除群における肝蛋白合成能の亢進が軽度ながら5～7日目にピークをもって認められたことより，腸管吻合部の組織修復のため供給すべく分泌性蛋白の合成亢進[16]によると考えられた．このように，腸管および肝臓を合併切除した場合は肝切除単独群にくらべ DNA 合成能および再生肝の構造性蛋白合成の亢進は抑制されるが，分泌性蛋白は抑制をみないと考えられた．いずれにせよ合併切除群の肝再生は何らかの原因により抑制されていることは明白であり，生存率においても，本実験で明らかに合併切除群が肝切除単独群にくらべ低下をみたことより，臨床例で同時性肝転移例に対する治療においては肝臓が広範切除になる場合には2期的手術を考慮すべきと考えられた．

5. まとめ

ラットを用い，68%肝部分切除と腸管切除（回盲部および横行結腸）の合併切除を施行した時の再生肝に与える影響を検索した．

(1) 血清 GOT, GPT, T-Bil 値には差異をみなかったが，血清 albumin 値では合併切除群においては術後3日目に低下を示した（$p<0.05$）．

(2) 再生肝の DNA 合成能では，肝切除単独群に比べ，回盲部合併切除は67%，横行結腸合併切除は64%，横行結腸切離吻合合併は59%とそれぞれ有意に（$P<0.01$）抑制をみた．

(3) 再生肝重量および肝組織内蛋白含量には差を認めなかった．

(4) 肝蛋白合成能は腸管切除あるいは切離吻合を行っただけでも，前値の1.3～1.7倍と7日目にピークを示し亢進した（$p<0.05$）．

一方，肝切除単独群では2日目に2.4倍とピークを示したが，合併切除群では2日目には肝切除単独群に比べ64～69%（$p<0.05$～0.01）と抑制を示した．しかし合併切除群では7日目に肝切除単独群の1.4倍（$p<0.05$）と軽度の亢進を示した．

(5) 生存率（術後14日目）では，肝切除単独群100%比べ，横行結腸合併切除群45%（$p<0.01$），回盲部合併切除群62%（$p<0.01$）と低下を認めた．

文献

1) Higgins GM, Andersion RM: Experimental pathology of the liver. Arch Pathol 7: 186—202, 1932
2) Verly WG, Deshamps J, Desrosiers ME: The hepatic chalone. I. Assay method for the hormon and purification of the rabbit liver chalone. Can J Biochem 49: 1367—1383, 1971
3) Miura Y, Fukui N, Kanzaki Y et al: Induction of ornithine decarboxylaseand DNA synthesis in isolated perfused liver after partial hepatectomy. Adv Enzyme Regul 16: 195—203, 1978
4) Lowly OH, Rosenbrough NJ, Farr AL et al: Protein measurement with folin phenol reagent. J Biol Chem 193: 265—271, 1951
5) Hasselgren PO, Albewsjö O, Custvasson B: Amino acid incorporation into liver proteins during short term ligation of the hepatic artery in the dog. Eur Surg Res 11: 366—380, 1979
6) Foster JH: Solid liver tumors—Major problems in clinical surgery. Philadelphia, Sanders, 1977, p24—27
7) Wilson SM, Anderson MA: Surgical treatment of hepatic metastasis friom colorectal cancer. Arch Surg 111: 330—334, 1976
8) Adson MA, Heerden JA: Major hepatic resection for metastatic colorectal cancer. Ann Surg 191: 576—583, 1980
9) Logan SE, Meier SJ, Raming KP et al: Hepatic resection of metastatic colorectal carcinoma. Arch Surg 117: 25—28, 1982
10) Foster JH: Survival after liver resection for secondary tumors. Am J Surg 135: 389—394, 1978
11) Starzl TI, Porter KA, Jones AF: The effect of splanchnic viscera removal upon canine liver regeneration. Surg Gynecol Obstet 147: 193—207, 1978
12) Hultin T, Dencken A: The i incroporation in vitro of labeled amino acid into the proteins of regnerating rat liver. Exp Cell Res 13: 83—87, 1957
13) George AB, Marsh JBM, Drabkin DL: Synthesis of plasma albumin and tissue proteins in regenerating liver. Metabolism 11: 957—966, 1962
14) Guidotti G, Clerici E, Sambo G et al: Albumin synthesis in regenerating rat liver cells. Experimentia 15: 55—56, 1959
15) Scornic OA, Botbol V: Role of changes in protein degradation in the growth of regernating livers. J Biol Chem 251: 2891—2897, 1976
16) Majumdar C, Tsukada K, Lieberman I: Liver protein synthesis after partial hepatectomy and acute stress. J Biol Chem 242: 700—704, 1967