

硬変併存肝癌の肝切除後早期予後因子としての術後血中 human hepatocyte growth factor 値測定意義について

—臨床的および実験的検討—

岐阜大学医学部第2外科

長田 真二 佐治 重豊 宇野 郷三 加藤 元久
杉山 保幸 鷹尾 博司 梅本 敬夫 宮 喜一
東 修次 古田 智彦

最近21か月間に経験した硬変併存肝癌22例を用い、肝切除後早期予後評価法としての血中 human hepatocyte growth factor (hHGF) 値測定意義につき検討した。結果：(1) 術前 hHGF 値は肝機能検査値と高い相関を示し、予後ともよく相関していた($p=0.0001$)。 (2) 術後 hHGF 値の推移は術中ケトン体比から算出した手術侵襲度に影響され、予後不良群と良好群では異なった変動様式を示した。次に、術後肝不全症例で高 hHGF 値が遷延する意味を推察する目的で、chemical hypoxia および四塩化炭素による障害ラット培養肝細胞を作製し実験的に検討した。その結果、hHGF 添加により正常肝細胞で観察された細胞内 Ca^{2+} 上昇反応は障害肝細胞では消失するだけでなく、培地中の肝逸脱酵素量も hHGF 添加により増加する傾向を示した。したがって血中 hHGF 値の測定は、術前肝機能検査や術後早期予後評価法として、また術後推移は肝不全予測の指標として極めて有用であると考えられた。

Key words: human hepatocyte growth factor, arterial ketone body ratio, early surgical prognosis of the hepatocellular carcinoma, damaged cultured hepatocytes

はじめに

硬変併存肝癌例では、さまざまな程度の顕性および潜在性肝障害が存在し、肝切除術の適応と限界に関しては膨大な検討がなされてきたが、手術予後を術後肝再性能の面から評価した報告は比較的少ない。今回著者らは、教室で経験した硬変併存肝癌症例を対象に、動脈血中ケトン体比¹⁾の術中変動から肝に対する手術侵襲度を評価したうえで、肝細胞増殖因子 human hepatocyte growth factor (以下 hHGF と略す)²⁾の術後変動から肝再生能を推察し、術後早期予後との関連を比較検討した。その結果、hHGF は他の肝機能検査と有意の相関を示すとともに、術後推移は早期予後をきわめてよく反映し、とくに術後血中 hHGF の異常高値が遷延する例では術後早期予後が不良であった。そこで障害肝細胞における hHGF の効果を実験的に検討

し、予後不良例における hHGF 変動の意味解明を試みた。

以上の概要と術後 hHGF 値反復測定の有用性につき報告する。

対象および方法

1. 臨床的検討

1990年12月より約21か月間に教室で経験した硬変併存肝癌25例中、肝切除が可能であった22例(硬変肝癌群)を研究対象とし、肝癌取扱い規約³⁾に従い記載分類した。対照群としては上記時期に肝切除した硬変非併存の転移性肝癌10例(対照肝癌群)で、その内訳は再発転移性の大腸癌6例と、同時性胃癌1例、胆嚢癌2例、胆管癌1例であった。また、肝に病変がなく肝機能検査で異常を指摘されていない消化器癌、すなわち胃癌5例、食道癌1例、大腸癌3例と胆管癌1例の開腹10例(対照開腹群)の2群を対照群として比較検討した(Table 1)。なお術後予後検討において硬変肝癌22例中術後肝機能異常が遷延し肝不全のため在院死し

Table 1 Summary of the hepatic tumor in patients performed hepatectomy

	Number of cases	Sex male/femal	Age	Diagnosis(primary) () : number of cases
HCC with LC	22	18/4	46~72	Hepatocellular carcinoma(22)
Metastatic liver tumor without LC	10	4/6	32~70	Colon ca(6), Gall bladder ca(2) gastric ca(1), biliary duct ca(1)
Laparotomy control (cancer patients)	10	6/4	42~68	gastric ca(5), esophageal Ca(1) biliary duct ca(1), colon Ca(3)

た3例(13.6%)を早期予後不良群とし、生存退院した硬変肝癌19例を早期予後良好群として別に比較検討に用いた。

術中ケトン体比(arterial ketone body ratio:以下AKBRと略す)は、ケトレックスキット・ケト340-II(三和化学)を用い、各手術操作ごと約30分間隔で平均10回測定した。肝に対する手術侵襲度(intraoperative stress degree:以下ISDと略す)はAKBRを経時的にグラフ表示し、AKBRが0.7以下となった時の値とその経過時間の積から算出⁴⁾した。

血中hHGF値は、抗hHGF抗体を用いたenzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA)法にて測定し、術前と術後最低2週間にわたり経日的に測定し、その変動様式から解析した。

2. 実験的検討

酵素灌流法にて分離採取したviability 90%前後のwinstar系5週齢ラット肝細胞を $5 \times 10^4/cm^2$ に調節し、24時間初代培養した後、実験に供した。細胞内Ca²⁺濃度の測定はCa²⁺インジケーターであるfura-2にて37°Cで40分間標識し、Ca²⁺濃度変動はARGUS-100 color image analyser (Hamamatsu photo Japan)にてコンピューター解析⁵⁾した。

一方、肝細胞の障害方法はP-450依存性肝細胞毒である四塩化炭素(CCl₄)添加法⁶⁾とchemical hypoxia⁷⁾によるATP合成障害を起こすシアン化カリウム(KCN)とヨード酢酸(IAA)同時添加法にて作製した。肝細胞障害時の培養中漏出酵素のうち、GOTとGPTはUV法⁸⁾⁹⁾で、LDHはWroblewski-LaDue法¹⁰⁾にて測定した。また添加HGF濃度は肝細胞増殖に最も効果的な20ng/ml¹¹⁾にて刺激した。

なお得られた測定値はmean±SDで表示し、比較検討に用い、有意差はStudent's t-testにて検定した。

結 果

1. 臨床的検討結果

(1) 術前血中hHGF値

Table 2 Preoperative serum hHGF(ng/ml) value in hepatic tumor patients

a) Comparison among the entered groups

Hepatic tumor with LC	0.35±0.17 ¹⁾
Hepatic tumor without LC	0.29±0.13 ²⁾
Control	0.19±0.05 ³⁾

1)-2): p=0.1889, 1)-3): p=0.0113, 2)-3): p=0.0379

b) Comparison between Stages I and II in hepatocellular carcinoma with LC

Stage I	0.31±0.07 ¹⁾
Stage II	0.44±0.25 ²⁾

1)-2): p=0.1869

硬変肝癌群の術前hHGF値は 0.35 ± 0.17 (ng/ml以下単位略)で対照肝癌群(0.29 ± 0.13)に比べ高値で、対照開腹群(0.19 ± 0.05)に比べ有意の高値であった(p=0.0113)。また、病期進行度別ではStageの進んだ例で高値を示した(**Table 2**)。肝機能検査値は、硬変肝癌群ではStage IIはIに比べ総ビリルビン(p=0.0492)、prothrombin test(以下PTと略す)(p=0.0091)、indocyanine green(以下ICGと略す)15分値(p=0.0002)、ICGK値(p=0.0001)、ノルモ(p=0.0221)およびcholinesterase(以下ChEと略す)(p=0.0091)で有意に不良であった。また、hHGF値と肝機能検査値との間には、各検査項目とも硬変肝癌群、対照肝癌群および対照開腹群において有意の相関関係が観察された(p<0.05)(**Table 3**)。

(2) 術前AKBR

硬変肝癌群の術前AKBRは 1.29 ± 0.17 で、対照肝癌群の 1.36 ± 0.27 に比べ低値で、対照開腹群の 1.71 ± 0.64 に比べ有意の低値であった(p=0.0342)。

(3) 術中AKBRから評価した肝に対する手術侵襲度

硬変肝癌群の術中AKBR最低値は22例中17例が0.7以下で、ISD値は 0.28 ± 0.32 (0~0.89)と対照肝

Table 3 Correlation of preoperative hHGF value and conventional liver function tests in total cases (HCC : n=22, metastatic liver tumor : n=10, control : n=10)

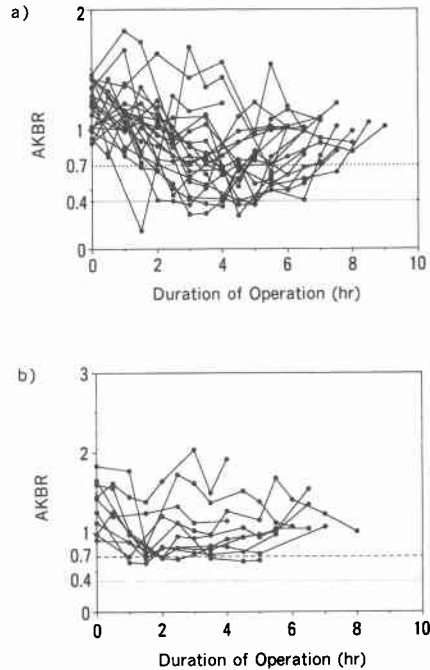
	p value
GOT (IU/l)	0.0001
GPT (IU/l)	0.0001
LDH (IU/l)	0.2844
ChE (Δ pH)	0.0205
Alb (g/dl)	0.0085
T-Bil (mg/dl)	0.0003
PT (%)	0.0045
Normo (%)	0.0030
ICG ₁₅ (mg/dl)	0.0372
ICGK	0.0114

癌群の 0.03 ± 0.06 に比べ有意に高値であった ($p=0.0021$) (Fig. 1). なお, 対照開腹群では術中 AKBR は0.7以下に低下した例はみられなかった. また, 硬変肝癌群で ISD の cut-off 値を0.4と算定し, 0.4以上を高度侵襲群 (6例), 0.4以下を軽度侵襲群 (16例) に分け, 術翌日の逸脱酵素値, 術後総ビリルビンの最高値, および術後難治性腹水の有無などから推察した肝細胞破壊程度との相関性を検討した. その結果, 高度侵襲群ではこれらの値が有意に不良 ($p < 0.05$) で, 術後早期予後との相関性が示唆された. 一方, 術中総出血量や手術時間などの従来の手術侵襲評価項目と ISD から評価した肝に対する手術侵襲度との相関性を検討したが, 有意の関連はみられなかった (Table 4).

(4) 術後 hHGF 値推移から評価した早期予後との関連

本論文においては前記のごとく術後早期予後から硬変肝癌22例中予後良好の19例と, 予後不良の3例につ

Fig. 1 Changes of intraoperative AKBR value. a) group of hepatocellular carcinoma with liver cirrhosis. b) group of metastatic liver tumor without liver cirrhosis.



き検討した. その結果, 予後良好群では術前 hHGF 値 (0.35 ± 0.17) は, 術後7日以内 (4.3 ± 2.5 日目)に一過性に増加 (0.74 ± 0.51) 後, 10日目までに術前値に回復する変動様式を示した. 一方, 硬変非併存の転移性肝癌群 (対照肝癌群) の術後 hHGF の一過性上昇値は 1.59 ± 1.52 で, 予後良好の硬変肝癌群に比べ有意の高値 ($p=0.0221$) を示し, 上昇値発現時期も 1.7 ± 1.5 日目と有意の短縮が観察された ($p=0.0107$) (Fig. 2).

Table 4 Relationship between high ISD and low ISD evaluated by intraoperative AKBR value according to the factors of surgical stress

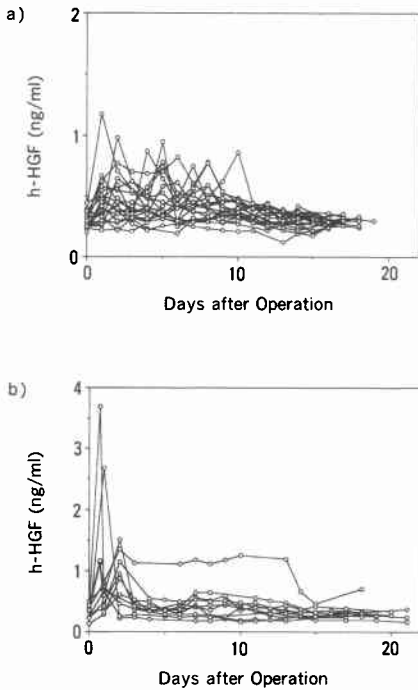
	High ISD group	Low ISD group	p value
Duration of ope (hr)	7.40 ± 1.43	6.14 ± 1.38	0.1010
Total blood loss (ml)	$2,980 \pm 1,619$	$2,851 \pm 1,684$	0.8841
ascites	3/6	1/16	—
GOT (IU/l)*	512.0 ± 404.6	167.6 ± 75.9	0.0098
GPT (IU/l)*	437.0 ± 432.2	146.8 ± 112.6	0.0343
LDH (IU/l)*	$1,105.8 \pm 682.8$	561.3 ± 124.5	0.0107
T-bil (mg/dl)**	17.6 ± 21.6	4.8 ± 3.1	0.0495

* : data of day 1 after the operation

** : maximum value during one month after the operation

Fig. 2 Changes of postoperative hHGF value.

a) well early prognosis in hepatocellular carcinoma with liver cirrhosis. b) metastatic liver tumor without liver cirrhosis.



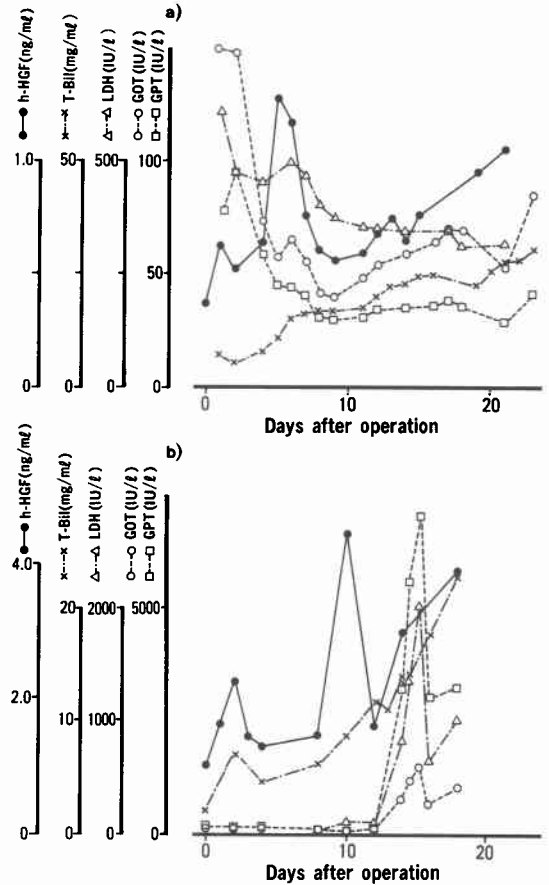
一方、予後不良の硬変肝癌群では術後 hHGF 上昇値は 2.19 ± 1.43 と対照肝癌群より高く、肝機能検査値が異常高値を示す頃から、hHGF 値も遷延かつ持続的な異常高値を示す特徴が観察された (Fig. 3).

また、hHGF 値の変動は術前と同様術後も従来の肝機能検査値とほぼ同様変動を示したが、術後一過性上昇発現時期においては肝機能検査値とは明らかな相違を認めた (Table 5). 一方、肝切除を伴わない対照開腹群では術後 hHGF 値の変動はいずれも軽微であった。

術中 AKBR から評価した ISD 分類による軽度侵襲

Fig. 3 Postoperative Slope analysis of hHGF and conventional liver function test in poor early postoperative prognosis group.

a) in case of 62 years-old, female, hepatocellular carcinoma with liver cirrhosis. b) in case of 63 years-old, male, hepatocellular carcinoma with liver cirrhosis.



群 (low ISD) の術後 hHGF 上昇値は 0.67 ± 0.23 と、高度侵襲群の 0.39 ± 0.05 に比べ有意の高値を示したが ($p = 0.0353$), 手術時間, 術中総出血量, 術翌日の逸脱

Table 5 Correlation of hHGF and conventional liver function test after hepatectomy

	Day 1 (n=30)	Day 4 (n=24)	Day 6 (n=21)	Day 8 (n=28)	Over 10 days (n=30)	Peak day (n=30)
GOT	0.1392	0.0414	0.0742	0.0001	0.0326	0.7576
GPT	0.4003	0.0312	0.2018	0.0001	0.0482	0.7820
LDH	0.0783	0.0784	0.0131	0.0001	0.3125	0.6508
T-Bil	0.0461	0.0029	0.0150	0.0004	0.0096	0.6162

酵素値との間に相関性はみられなかった (Table 6).

(5) 予後評価因子としての血中 hHGF 値

硬変肝癌群で術後早期予後良好群と不良群に分け、術前肝機能検査値や血中 hHGF 値の測定意義を検討したところ、GPT, LDH 以外有意の相関性 ($p < 0.05$) を示したが、とくに術前 hHGF の比重が重く ($p = 0.0001$), 予後評価法としての有用性が高いと推察された (Table 7).

2. 実験的検討結果

1) 肝細胞障害モデルの特徴

初代培養肝細胞に四塩化炭素 (CCl₄) 添加後、培養

20時間継続した際の上清中逸脱酵素量は CCl₄ 濃度依存的に増加し、10mM で最高値を示した。形態的観察においては、10mM では細胞壊死像が進行していたため、最適細胞障害濃度は5mM と推察された。

2.5mM のシアン化カリウム (KCN) と0.5mM のヨード酢酸 (IAA) を添加し、chemical hypoxia 状態とした際の、上澄み中の逸脱酵素量は時間依存的に変化し、40分以降上昇がみられ、60分目でほぼ最高値を示した。形態的観察においても60分後には細胞融合像と壊死像が観察された。

2) 細胞内 Ca²⁺ 濃度変動から評価した障害肝細胞に対する HGF の影響

初代培養正常肝細胞においては20ng/ml の HGF 刺激にて、一過性の細胞内 Ca²⁺ 濃度上昇に続く律動的な変動、いわゆる Ca²⁺ oscillation¹²⁾ が約60%の細胞にお

Table 6 Summary of postoperative peak value of hHGF

	High ISD group	Low ISD group
hHGF (ng/ml)	0.39±0.05	0.67±0.23

a) Relationship of postoperative peak value of hHGF between the groups of high ISD and low ISD ($p = 0.0353$)

	p value
Duration of ope (hr)	0.6083
Total blood loss (ml)	0.4412
GOT (IU/l)*	0.3935
GPT (IU/l)*	0.8926
LDH (IU/l)*	0.6844

*: Data of day 1 after the operation

Table 7 Significance of preoperative conventional liver test, AKBR and hHGF for early postoperative prognostic factors of hepatocellular carcinoma with LC

	Well prognosis	Poor prognosis	p value
GOT (IU/l)	58.2±19.8	153.7±103.2	0.0008
GPT (IU/l)	60.9±32.8	105.7±40.0	0.0461
LDH (IU/l)	308.1±57.8	325.0±2.8	0.6906
ChE (ΔpH)	0.55±0.18	0.30±0.03	0.0253
Alb (g/dl)	3.9±0.5	2.9±0.3	0.0011
T-bil (mg/dl)	0.76±0.71	2.17±0.35	0.0036
PT (%)	83.6±13.9	56.7±8.3	0.0045
Normo (%)	69.8±16.3	41.7±2.9	0.0089
ICG ₁₅ (mg/dl)	0.186±0.064	0.387±0.081	0.0001
ICGK	0.124±0.033	0.067±0.011	0.0076
AKBR	1.45±0.21	1.10±0.38	0.0035
hHGF (ng/ml)	0.31±0.07	0.67±0.30	0.0002

Fig. 4 intracellular Ca²⁺ responses of damaged hepatocytes by chemical hypoxia following stimulation of hHGF.

a) hHGF-induced cytosolic Ca²⁺ responses. b) ~d) After various periods (1,3,5 min) of treatment with chemical hypoxia, hHGF was added where indicated by ↑.

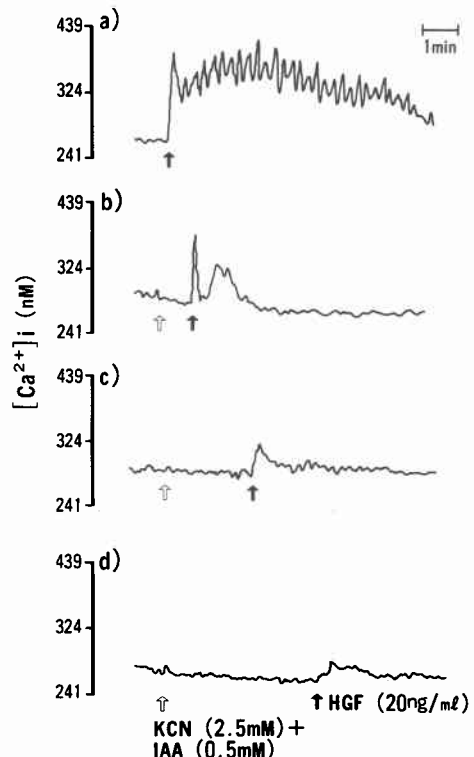
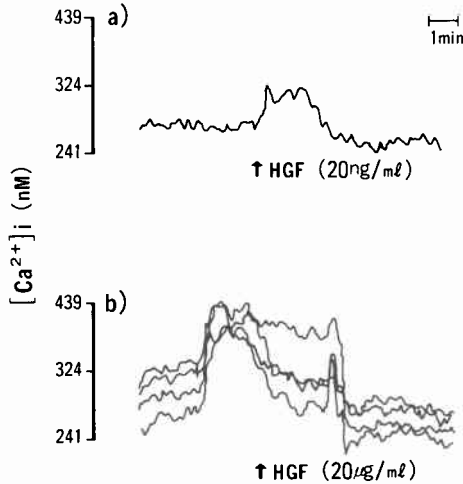


Fig. 5 Intracellular Ca^{2+} responses of damaged hepatocytes by CCl_4 following stimulation of hHGF.

a) in case of 2mM CCl_4 , b) in case of 5mM or 10mM CCl_4 .



いて認められ (Fig. 4a), chemical hypoxia 状態 1 分後では最初の一過性の上昇のみを認め (Fig. 4b), 3 分後ではその程度は弱くなり (Fig. 4c), 5 分後では観察されなくなった (Fig. 4d).

CCl_4 障害肝細胞においては, HGF 刺激により CCl_4 2mM では初期の一過性の上昇のみがみられ, 5mM 障害時では刺激前からの細胞内変動を認めるものの HGF 添加による影響は判然としなくなった (Fig. 5).

3) 培養上澄み中逸脱酵素量から評価した障害肝細胞に対する HGF の影響

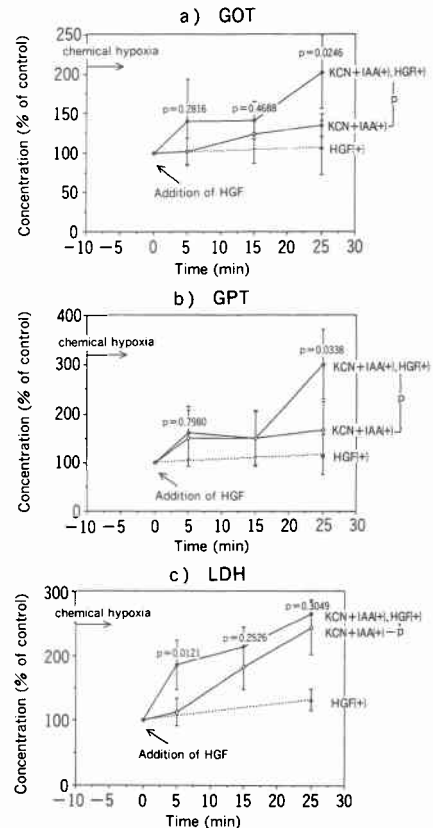
初代培養肝細胞に HGF を添加しても上澄み中の逸脱酵素量には変化はみられなかったが, chemical hypoxia 10分後では HGF 非添加対照群でも若干上昇したが, HGF 添加により 5 分後には LDH ($p=0.0121$) が, 25分後には GOT ($p=0.0246$), GPT ($p=0.0338$) がそれぞれ有意に増加した (Fig. 6).

CCl_4 添加濃度別に作製した障害肝細胞モデルでの培養上澄み中逸脱酵素量は, HGF 刺激により濃度依存性の上昇がみられ, とくに CCl_4 10mM では GOT, GPT はそれぞれ HGF 無添加群に比べ HGF 刺激により有意に (GOT ; $p=0.0348$, GPT ; $p=0.0364$) 上昇した (Fig. 7).

考 察

肝細胞は多種多様な機能を有しており, 肝臓が代謝

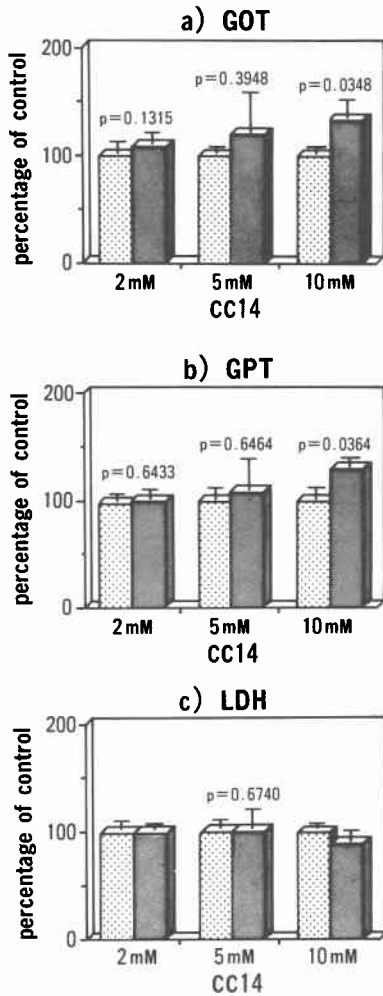
Fig. 6 Changes of GOT, GPT and LDH values in supernatant following hHGF stimulation on damaged hepatocytes by chemical hypoxia.



の中心臓器として, 生体の向上性維持に極めて重要なことは周知の事実である. 一方, 肝細胞には旺盛な肝再生能力が存在することから, 肝細胞増殖因子 (hHGF) は肝切除後の容量補充目的や慢性肝疾患による機能細胞減少時の治療手段として, 臨床応用が期待されている. しかし現時点では, 血中 hHGF 値の測定が肝機能検査法として応用されているにすぎない. すなわち, 劇症肝炎患者の血中 hHGF 値は著しく高値を示し, これが患者の昏睡度と密接に関連して変動すること¹³⁾や, 予後との関連で死亡例の血中 hHGF 値は生存例に比べ有意に高い¹⁴⁾などである. なお, 肝由来の hHGF 値は本来肝静脈血を用い測定されるべきであるが, 開腹時可能な例で肝静脈血と末梢血を同時採取し比較検討した結果で, 両群間に有意の相関 ($p=0.0202$)¹⁵⁾がみられたので, 本研究では末梢血の値で肝 hHGF 値を代用した.

Fig. 7 Effects of hHGF for recovery of damaged hepatocyte by CCl₄ evaluated by GOT, GPT, LDH values in supernatant.

HGF(-), HGF(+)



hHGF 分泌機構に関しては *injurine*¹⁶⁾ の発見に示されるように、肝細胞の間接的な関与が示唆されており、血中 hHGF 異常高値は障害肝細胞からの直接的な情報に由来するものと考えられている。すなわち、肝硬変のような肝疾患状態下では、障害肝細胞だけではなく白血球など全身的な *injurine* 分泌臓器から、肝障害程度に応じて血小板や肺など¹⁷⁾ に対して hHGF 合成を促し異常高値をきたすため、逸脱酵素などの肝細胞由来の因子とは本質的に異なると推察されている。著者らの検討結果でも、術前 hHGF 値は硬変依存症例が非併存例に比べ有意の高値を示し、同時に従来

の能検査値との間にも相関性がみられた。また臨床病期の進んだ例では、hHGF 値はさらに高値となる傾向がみられ、術前値では著差はみられなかった。しかし、後に記述したごとく肝切除などの手術侵襲下では若干の差がみられた。

さて、動脈血中ケトン体比 (AKBR) は新しい肝予備能評価法として多くの施設で汎用されている。また、AKBR を術中経時的に測定し、その低下程度から手術侵襲を算出する方法⁴⁾ や、AKBR の限界点である 0.4 以下を示した累積時間から術後早期予後を推察し、低下時間が 1 時間以上例では術後合併症が、5 時間以上例では在院死が増加する¹⁸⁾ と報告されており、著者らもこの考えから術中に AKBR を経時的に測定したわけである。

ところで、肝部分切除後の血中 hHGF 値推移は、術前 ICG 15 分値の値により影響され、多くは術後 1~3 日目に一過性の上昇を示すことが確認されており¹⁹⁾、今回の著者らの検討結果とはほぼ一致した。実験的には血中 hHGF 値の一過性増加に伴う残余肝細胞膜での HGF receptor の down-regulation²⁰⁾ が肝再生の開始とされているが、現時点では臨床的に証明することは困難である。そこで従来

の肝機能検査値と hHGF 値の術後推移との関連について検討したところ、前述の一過性上昇は肝機能程度の評価より、むしろ肝再生開始となんらかの関係を持つものと推察された。すなわち hHGF 値の一過性上昇は、硬変非併存肝癌切除例では硬変併存肝癌例に比べ有意に早期に出現し、かつ高値であった。また、術中 AKBR 推移から算出した肝に対する侵襲程度が軽度群では、上昇値は有意に高値を示しており、良好な肝再生を示唆したものと推察される。

なお、実験的には、hHGF 濃度 0.5ng/ml で有意に DNA 合成活性が上昇する¹¹⁾ ため、今回の軽度侵襲群での血中濃度 0.67±0.23ng/ml は肝細胞の増殖に十分作用しうるものと考えられる。さて、肝細胞では再生を含めた機能維持に必要なエネルギーの 90% はミトコンドリアから供給²¹⁾ されているため、肝切除後の残存肝ミトコンドリアはエネルギー需要の増大に伴い機能亢進状態となっており²²⁾、肝切除に伴う障害程度、すなわちミトコンドリアの損傷程度が術後の肝再生に大きく関与すると考えられる。また、ミトコンドリア膜はその構成成分として多価不飽和脂肪酸を多量に含有し、なんらかの原因で脂質過酸化が進行すると膜構造の崩壊などにより呼吸能が障害される²³⁾。このように肝の再生や障害に関係す

る脂質過酸化は肝切除後の残存肝²⁴⁾や硬変肝および脂肪肝²⁵⁾組織中で高値を示すことが報告されている。したがって、ミトコンドリアの呼吸能を反映する AKBR から算出した高度侵襲群 (high ISD) では、術後肝再生開始の合図としての hHGF 上昇が抑制されていたが、これは肝細胞に対するなんらかの保護作用を示唆するものと推察される。

一方、予後不良例における術後 hHGF 値は、一過性の有意に高い上昇後に遷延・持続的な異常高値を示した。そこで、障害肝細胞に対する hHGF の効果を推察する目的で、前記の実験的検討を行ったわけである。

文献的には肝疾患における血中 hHGF の高値の原因として肝障害ラット²⁶⁾の場合と同様、肝における hHGF 産生増加と肝細胞における hHGF の clearance 能低下¹⁴⁾が推察されている。著者らが検索したかぎりでは、培養肝細胞に対する hHGF の反応を Ca^{2+} oscillation から評価した報告はほかにみられなかったが、 CCl_4 や chemical hypoxia による障害肝細胞では、hHGF に対する反応性の消失が観察された。この理由として、細胞内 Ca^{2+} 反応の発現に必要な ATP 合成阻害あるいは細胞内ミクロソーム P-450 の活性化による free radical²⁷⁾ の出現などを著者らは推察している。

今回検討した肝切除後早期予後不良例においては、手術侵襲による肝細胞障害が完全に復帰した後に、in-jurine など何らかのメディエーターを介して hHGF が分泌されたが、硬変肝では手術侵襲からの修復過程が遅延した結果、hHGF を clearance できず血清中に異常高値となって蓄積し、遷延持続的な上昇を示したと推察される。また実験的検討結果より、障害肝細胞では hHGF による刺激は逆に肝再生促進作用を低下させ、肝細胞障害を進行させる可能性が示唆された。

したがって、硬変併存肝癌例で肝切除後、血清 hHGF 値の一過性上昇発現が遅延する例や上昇値の低い例、あるいは hHGF 値の異常高値が潜延する例では、術後早期に予後不良となる可能性が高いと推察される。また、その予備的検査法として術中 AKBR 測定により肝に対する手術侵襲程度を把握したうえで、高度侵襲群では術後 hHGF 値推移から肝不全の出現を早期かつ正確に予測できる可能性が示唆されたわけである。また将来、hHGF の臨床応用にあたっては、肝切除後の肝再生目的で投与する場合には、血中 hHGF 値が異常高値を示す例や、肝予備能低下例では繊細な注意が必要で、とくに hHGF 投与時期に関しては十分

な検討が必要であると考えている。

文 献

- 1) Ozawa K, Aoyama H, Yasuda K: Abnormalities associated with postoperative organ failure—A redox theory. *Arch Surg* 118: 1245—1251, 1968
- 2) Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M et al: Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. *Nature* 342: 440—443, 1989
- 3) 日本肝癌研究会編: 臨床・病理, 原発性肝癌取扱い規約, 第2版, 金原出版, 東京, 1987
- 4) 小沢和恵: ミトコンドリアから肝臓外科へ. *メディカルトリビューン社*, 東京, 1989, p74—77
- 5) Osada S, Saji S, Nakamura T et al: Cytosolic calcium oscillation induce by hepatocyte growth factor (HGF) in single fura-2-loaded cultured hepatocytes: effects of extracellular calcium and protein kinase C. *Biochim Biophys Acta* 1135: 229—232, 1992
- 6) Starke PE, Farber JL: Endogenous defenses agonist the cytotoxicity of hydrogen peroxide in cultured rat hepatocytes. *J Biol Chem* 260: 86—92, 1985
- 7) Kawanishi T, Niemi A, Herman B et al: Suppression of Ca^{2+} oscillation in cultured rat hepatocytes by chemical hypoxia. *J Biol Chem* 266: 20062—20069, 1991
- 8) 日本臨床化学会編: ヒト血清酵素活性測定の勧告法—アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ—. *臨化* 18: 226—249, 1989
- 9) 日本臨床化学会編: ヒト血清酵素活性測定の勧告法—アラニンアミノトランスフェラーゼ—. *臨化* 18: 250—262, 1989
- 10) Wroblewski F, Ladue JS: Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc Soc Exp Biol Med* 90: 210—213, 1955
- 11) Osada S, Nakashima S, Saji S et al: Hepatocyte growth factor (HGF) mediates the sustained formation of 1,2-diacylglycerol via phosphatidyl-choline-phospholipase C in cultured rat hepatocytes. *FEBS Lett* 297: 271—274, 1992
- 12) Berridge MJ: Calcium oscillation. *J Biol Chem* 265: 9583—9586, 1990
- 13) Tsubouchi H, Hirono S, Gohda E et al: Clinical significance of human hepatocyte growth factor in blood from patients with fulminant hepatic failure. *Hepatology* 9: 875—881, 1989
- 14) 坪内博仁, 大工原恭: 肝細胞増殖因子の基礎と臨床. *蛋・核・酵* 37: 2135—2143, 1992

- 15) 長田真二：硬変併存肝癌の肝切除術後早期予後評価法としての術中ケトン体比と術後血中hHGF測定意義に関する研究. 岐阜大医紀 40 : 874—892, 1992
- 16) Matsumoto K, Tajima M, Hakamue M et al: Identification and characterization of injurine, an inducer of expression of the gene for hepatocyte growth factor. Proc Natl Acad Sci USA 89 : 3800—3804, 1992
- 17) Kinoshita T, Tashiro K, Nakamura T: Marked increase HGF mRNA in non-parenchymal liver cells of rats treated with hepatotoxins. Biochem Biophys Res Commun 165 : 1229—1234, 1989
- 18) Kiuchi T, Shimahara Y, Wakashiro S: Reduced arterial keton body ratio during laparotomy. An evaluation of operative stress through the changes in hepatic mitochondrial redox potential. J Lab Clin Med 115 : 433—440, 1990
- 19) Sakon M, Monden M, Gotoh M: Hepatocyte growth factor concentrations after liver resection. Lancet 339 : 818—819, 1992
- 20) Tajima H, Higuchi O, Mizuno K et al: Tissue distribution of hepatocyte growth factor and its exclusive down regulation in a regenerating organ after injury. J Biochem 111 : 401—406, 1992
- 21) Palade GE: Organization of liver matter. Proc Natl Acad Sci USA 52 : 613—616, 1964
- 22) 品田佳秀：幼若期の肝再生と肝ミトコンドリア機能に関する研究. 日外会誌 81 : 746—750, 1980
- 23) Tappel AL: Lipid peroxidation damage to cell components. Fed Proc 32 : 1870—1874, 1973
- 24) 上田興太郎：ラット再生肝における過酸化脂質の研究. 日外会誌 82 : 262—266, 1981
- 25) 山中恒夫, 井戸健一, 木村 健：各種肝疾患における過酸化脂質およびSuperoxide dismutase活性の動態. 肝臓 22 : 123—127, 1981
- 26) Noji S, Tashiro K, Koyama E: Expression of hepatocyte growth factor gene in endothelial and kupffer cells of damaged rat livers as revealed by in situ hybridization. Biochem Biophys Res Commun 173 : 42—47, 1990
- 27) Stancy N, Priestly BG: Lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes: Relationship to toxicity of CCL₄, ADP/Fe³⁺, and diethylmaleate. Toxicol Appl Pharmacol 45 : 41—48, 1978

**Significances on Postoperative Human Hepatocyte Growth Factor as an Indicator of the Early Surgical Prognosis after Hepatectomy
—Clinical and Experimental Study—**

Shinji Osada, Shigetoyo Saji, Satomi Uno, Motohisa Katoh, Yasuyuki Sugiyama, Hiroshi Takao,
Takao Umemoto, Kiichi Miya, Shuuji Azuma and Tomohiko Furuta
Second Department of Surgery, Gifu University School of Medicine

In a clinical investigation of early postoperative prognosis following hepatectomy for hepatocellular carcinoma with liver cirrhosis, human hepatocyte growth factor (hHGF) was measured during the past 21 months. The preoperative hHGF value was significantly correlated with the values of the conventional liver function test, and it was evaluated as an indicator of early postoperative prognosis after hepatectomy ($p=0.0001$). The postoperative pattern of the hHGF level was correlated with intraoperative stress degree (ISD) as evaluated by arterial ketone body ratio (AKBR) and postoperative clinical course. In an experimental study to examine the correlation between postoperative clinical course and the pattern of hHGF, hHGF was added to normal cultured hepatocytes or ones damaged by CCl₄ or chemical hypoxia. It was found that the normal Ca²⁺ response induced by hHGF was suppressed depending on the dosis of CCl₄ or duration of hypoxia. Moreover, elevations of GOT, GPT and LDH in the supernatant were more significant after the stimulation of hHGF. As a conclusion, it was recommended that measurement of hHGF might be effective as an indicator of the preoperative live function or the early postoperative prognosis after hepatectomy, and its postoperative pattern was evaluable as a parameter for liver dysfunction.

Reprint requests: Shinji Osada Second Department of Surgery, Gifu University School of Medicine
40 Tsukasamachi, Gifu, 500 JAPAN