

## 肝硬変例における肝機能検査値と肝の病理 形態学的指標との関連について

筑波大学臨床医学系外科<sup>1)</sup>, 筑波メディカルセンター病院病理<sup>2)</sup>  
筑波大学社会医学系<sup>3)</sup>, 千葉大学真核微生物研究センター<sup>4)</sup>

辻 勝久<sup>1)</sup> 石川 詔雄<sup>1)</sup> 土井 幹雄<sup>2)</sup> 長田 明<sup>1)</sup>  
山本 祐二<sup>1)</sup> 深尾 立<sup>1)</sup> 田中栄之介<sup>3)</sup> 中野 雅行<sup>4)</sup>

肝硬変併存肝癌例の耐術評価に用いられている肝機能検査が、いかなる肝の形態的所見を反映しているか、画像解析装置を用いて検討した。肝硬変併存肝癌16例の肝実質の数か所から得た組織切片から単位体積あたりの肝細胞数と肝実質比を測定した。それにCT像から求めた肝容積とを組み合わせる肝細胞量や肝実質量および肝細胞総量を算出して形態的所見の定量化を試みた。さらに、これらの指標とICG負荷試験値(ICGR15)や一般肝機能検査値とを比較検討した。ICGR15と、実質比や単位体積あたりの細胞数および細胞量とは、 $r = -0.506 (p < 0.01)$ ,  $r = -0.655 (p < 0.003)$ ,  $r = -0.620 (p < 0.01)$  とそれぞれ相関したが、肝実質細胞総量とは相関しなかった。

以上より、肝硬変の病理形態的特徴を定量化することにより、肝実質比や単位体積あたりの肝細胞数および肝細胞量などの組織形態所見から肝機能のある程度、推測することが可能であった。

**Key words:** morphometric cytological findings of the hepatic parenchyma, liver function test, hepatic functional reserve, liver cirrhosis, Hepatectomy

### 緒 言

肝細胞癌(肝癌)は、肝機能が低下した慢性肝炎や肝硬変などの慢性肝疾患に併存することが多い<sup>1)2)</sup>。

三宅らは肝硬変を病理形態学的に肝臓全体のびまん性病変であること、グリソン鞘相互やグリソン鞘と中心静脈との間に線維性隔壁が存在すること、および小葉構造の改築があることなどと定義している<sup>3)</sup>。

これらの肝硬変の病理所見より反映される肝機能をもとにして、肝硬変併存例の耐術評価のために、さまざまな肝機能検査法が用いられてきた<sup>4)~7)</sup>。しかし肝硬変の病理形態的所見が、肝機能検査にどのように反映されているかについての検討は十分ではない。

そこで本研究においては肝硬変に特徴的な病理形態的所見を画像解析装置を用いて定量化して肝実質比や肝細胞量などを求めた。こうした形態的指標と従来より広く肝予備能評価に用いられてきたアルブミン値、ビリルビン値、プロトロンビン時間、およびIndocyanine green (ICG) 負荷試験との関連をみること

により、これらの検査が肝のいかなる病理形態的所見を反映しているかを検討した。

### 対象と方法

手術時に肝両葉の数か所から、肝組織片が十分に得られた肝硬変併存肝癌16例を用いて検討した。それらの内訳は男性15例、女性1例、年齢は46歳から77歳(平均 $56.1 \pm 8.0$ 歳)である (Table 1)。

Child-Pugh基準<sup>8)</sup>では、A(5, 6点)が5例、B(7~9点)が11例である。すべて肝炎後肝硬変例であり、三宅の組織分類<sup>3)</sup>では甲型9例、乙型7例であった。

一般肝機能検査とICG負荷試験：一般肝機能検査としてはアルブミン(ALB; g/dl)、ビリルビン(BIL; mg/dl)およびプロトロンビン時間(PT; %)を測定した。

ICG負荷試験はICG(0.5mg/kg体重)の静注15分後の血中停滞率(ICGR15)で求めた。

なお各検査は平均値と標準偏差(M $\pm$ SD)で示し、Mann-Whitney's U-testおよびSpearmanの順位相関係数を用いて、統計学的に有意差を検定した。

肝容積の測定：肝容積は肝上縁の横隔膜面より肝下縁まで1cm幅でスキャンしたCT画像上の肝組織の

<1994年7月6日受理>別刷請求先：石川 詔雄  
〒305 つくば市天久保2-1-1 筑波大学臨床医学系外科

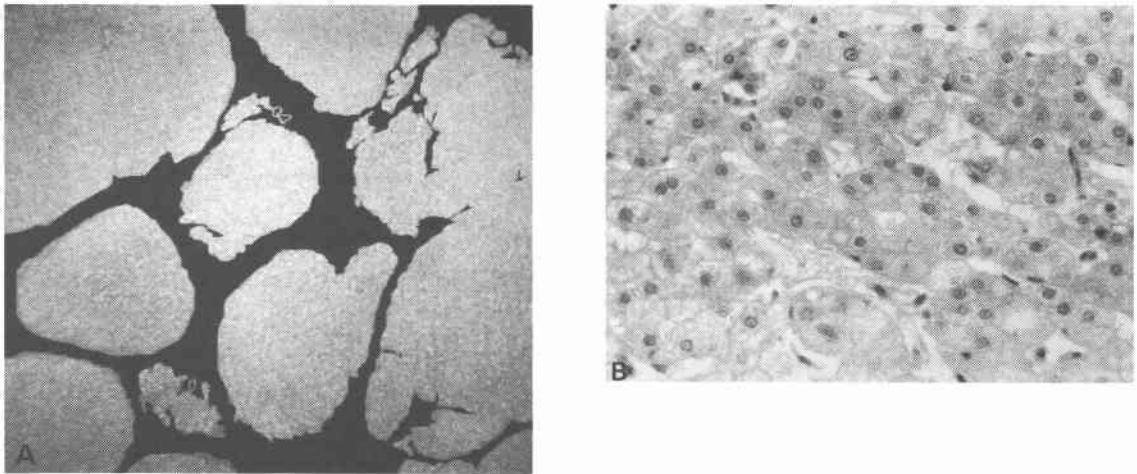
うち、癌部や太い脈管組織を除いた肝容積を積分法で算出した<sup>7)9)</sup>。

肝組織片の処理と肝実質比の測定および肝実質量の算出：肝両葉の数か所から採取した組織片を、10%ホルマリン液で固定後、4 $\mu$ 厚にして、Hematoxylin-Eosine染色とElastica-Masson-Goldner染色を行った。

組織片のうち、肝偽小葉の顕微鏡像を無作為に9~11視野写真撮影し、焼付けと引き伸ばしを行った。

そして最終的には、400倍のキャビネ版(16.9 $\times$ 11.9 cm)に拡大して原図とした(Fig. 1)。この原図の肝実質細胞のうちpyknosisを起こした細胞を除き、細胞数を算定した。検討した組織標本の実際の大きさは、4 $\mu$ m $\times$ 249 $\mu$ m $\times$ 179 $\mu$ mである。肝実質比(実質/実質+間質)は、顕微鏡像(13.1mm<sup>2</sup>)を画像解析装置(SPICA: Olympus, Japan)に読みとり、最終的には25倍に拡大して肝実質と間質とに分けて求めた。また関心領域となる原図も、症例ごとに、肝両葉の異なっ

**Fig. 1** Histopathological finding of liver specimen (Case 9; 56-year-old male): (A) hepatic parenchymal area (mean 64%) and (B) hepatic cells per unit area (mean 61.7cells/mm<sup>3</sup>)



**Table 1** Details of the patients with liver cirrhosis in this study

Case No	Age Sex	Child-Pugh	ICGR15 (%)	Hepatic volume (cm <sup>3</sup> )	Ratio of hepatic parenchymal area (%)	Hepatic cells per unit area (cell/unit area)
1	60 F	9	33	977	71.7	43.6
2	59 M	9	32	914	77.6	73.6
3	56 M	9	31	935	73.8	61.1
4	49 M	8	41	970	74.3	52.6
5	56 M	8	39	1,244	71.3	65.7
6	51 M	8	20	899	71.9	73.0
7	51 M	7	37	1,156	61.4	66.6
8	66 M	7	28	1,257	70.5	58.5
9	56 M	7	21	1,554	64.0	61.7
10	46 M	7	21	1,205	79.5	70.2
11	77 M	7	14	750	77.5	89.7
12	55 M	6	30	1,237	75.1	65.9
13	55 M	6	22	1,035	85.3	65.6
14	64 M	6	12	824	70.5	76.1
15	50 M	5	12	1,397	83.5	71.4
16	46 M	5	7	1,135	88.9	77.7

た4～5領域より求めた。

以上より、

肝実質量 (hepatic parenchymal volume)

$$= \text{肝実質比} \times \text{肝容積}$$

肝細胞量 (hepatic cells volume)

$$= \text{単位体積あたりの肝実質細胞数} \times \text{肝容積}$$

肝実質細胞総量 (total hepatic cells volume)

$$= \text{単位体積あたりの肝実質細胞数} \times \text{肝容積} \\ \times \text{肝実質比}$$

を算出した。

### 結 果

1. ICGR15と一般肝機能検査および肝の形態学的指標について

ICGR15は、 $25.0 \pm 10.4\%$  (7%～41%)、ALBは、 $3.26 \pm 0.52\text{g/dl}$  ( $1.9\text{g/dl} \sim 3.8\text{g/dl}$ )、BILは、 $0.99 \pm 0.39\text{mg/dl}$  ( $0.4\text{mg/dl} \sim 1.7\text{mg/dl}$ )、PTは、 $82.7 \pm 8.1\%$  (68%～98%)を示した。

肝容積は $1,093 \pm 218\text{cm}^3$  ( $750\text{cm}^3 \sim 1,554\text{cm}^3$ )、肝実質比は $74.8 \pm 7.3\%$  (61.4%～88.9%)、単位体積あたりの肝細胞数は $67.1 \pm 10.7$ 個/単位体積 (43.6個/単位体積～89.7個/単位体積)であった (Table 1)。

なお、これらの形態的指標は甲型および乙型などの三宅の組織分類による組織所見との間に差を認めなかった。

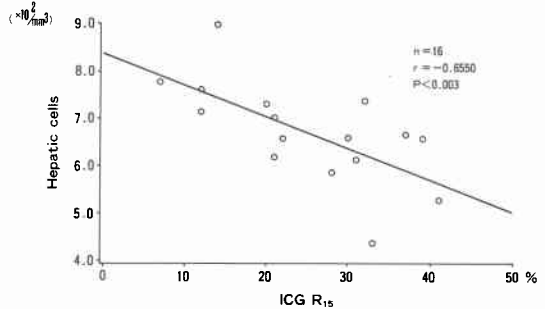
2. 肝の形態的指標とICGR15および一般肝機能検査との比較

ICGR15は、肝実質比と $r = -0.506$  ( $p < 0.01$ )、単位体積当りの肝細胞数とは、 $r = -0.655$  ( $p < 0.003$ )、および肝細胞量とは、 $r = -0.620$  ( $p < 0.01$ )と、それぞれ相関した。しかし肝容積や肝実質細胞総量とは、相関しなかった (Table 2, Fig. 2)。

**Table 2** Correlation between liver function tests and morphometrical parameters in liver cirrhosis

	ICGR15(%)	ALB, BIL, PT
Hepatic volume	ns	ns
Ratio of hepatic parenchymal area	-0.506 $p < 0.01$	ns
Hepatic cells per unit area	-0.655 $p < 0.003$	ns
Hepatic parenchymal volume	ns	ns
Hepatic cells volume	-0.620 $p < 0.01$	ns
Total hepatic cells volume	ns	ns

**Fig. 2** Correlation between ICG R15(%) and hepatic cells per unit area ( $\times 10^{-2}/\text{mm}^3$ ) in liver cirrhosis



またALBやBILおよびPTはすべての指標との間に相関を認めなかった。

### 考 察

肝硬変併存肝癌例に対する肝切除の治癒度を上げるために、癌腫の占居部位から出来るだけ離して肝実質を大きく切除することは、術後の肝機能の点よりみるとマイナス要因となり、過大な肝実質切除は術後肝不全の発症にもつながる。そこで癌腫の大きさやその占居部位で異なってくる肝実質切除量の大小と術前の肝機能障害の程度より、あらかじめ術後の残存肝機能総量を推定して耐術評価をする必要がある。それには、慢性障害肝のいかなる形態的所見が肝機能検査に反映されているか、すなわち肝全体や単位肝実質当たりの肝機能が、いかなる形態的所見と関連をもっているかを検討する必要がある。

肝硬変の病理形態的所見をもとに肝機能の評価するには、それらの所見を3次元でとらえて検討する必要がある。諏訪ら<sup>10)</sup>や高橋ら<sup>11)</sup>は、空間中に一様に分布する構造物の大きさを推定する理論をもとに、肝の連続切片を用いて肝硬変の組織計測的研究を行った。

それによると、肝硬変やその先行病変では肝実質域の3次元ネットワークが形態学的骨格をなしており、それらの組織計測上の指標が肝硬変の病型の判定に有用であった。しかし諏訪<sup>12)</sup>も指摘しているように、その解析は煩雑であり、この計測法からみた肝硬変の臨床的重症度の評価や、形態的指標を定量化した肝機能評価の報告は少ない。

画像解析法は諏訪<sup>12)</sup>の指摘のように組織所見を質的なもので分類するのではなく、量的な連続する変数をもとに解析する際には、より客観性を持つと考えられる。そこでわれわれは肝硬変の病理形態所見を3次元

でとらえるために、画像解析装置を用いて肝実質比と肝実質の単位体積あたりの肝細胞数を測定した。これらと、CT像から求めた肝容積とを組み合わせ、肝細胞量や肝実質量および肝実質細胞総量を算出した。そして、これらの指標をもとに形態的所見の定量化を試みた。

肝実質比について、宮内ら<sup>13)</sup>は平均71%、西山ら<sup>14)</sup>は68%と報告しており、諏訪ら<sup>11)</sup>の報告でも、それは80%~85%にピークをもち、45%~95%に分布していた。われわれの検討によると肝実質比は、 $74.8 \pm 7.3\%$  (61.4%~88.9%)であり、諸家の報告とほぼ同様の値であった。

今回の検討ではALBやBILおよびPTと肝の形態的指標との間に相関はなかった。一方、ICGR15は、実際の肝細胞の総数を最も反映していると考えられる肝実質細胞総量とは相関しなかったが、肝実質比や単位体積あたりの肝細胞数および肝細胞量とは、 $r = -0.507$  ( $p < 0.01$ )、 $r = -0.655$  ( $p < 0.003$ )、および  $r = -0.620$  ( $p < 0.01$ ) とそれぞれ相関した。またICG負荷試験と肝組織像とを検討した報告では、KICGは肝の炎症性変化には影響されなかったが、肝の形態的障害程度、例えば小葉改築の程度をよく反映した<sup>15)</sup>。肝硬変では門脈域と中心静脈域を結ぶ線維隔壁形成があり、この隔壁形成のために類洞レベルで門脈圧が上昇する。そのために門脈血は、一部は肝外で、一部は類洞を経由して肝実質細胞と十分に接触することなく大循環系へ流入して有効肝血流量は減少する。こうした肝内の循環動態の変化が、単位体積あたりの肝細胞数や肝細胞量、ひいては肝細胞の代謝にも影響を与える。それが、ICGR15と形態的指標が相関した一因と考えられた。

以上のように、肝硬変の形態的特徴を定量化することにより、肝実質比や単位体積あたりの肝細胞数および肝細胞量などの組織形態所見から、肝硬変例の肝機能のある程度、推測することが可能であった。

#### 文 献

- 1) 日本肝癌研究会：原発性肝癌に関する追跡調査—第9報—。肝臓 32：1138—1147, 1991
- 2) 石川詔雄, 辻 勝久, 深尾 立ほか：肝癌切除例におけるトリメタジオン不荷試験と肝実質の病理組織学的所見の対比について。日消外会誌 26：2155—2159, 1993

- 3) 三宅 仁：肝臓の病理—肝硬変を中心とて—。日病理会誌 49：589—632, 1960
- 4) Kiuchi T, Shimahara Y, Wakashiri S et al: Reduced arterial ketone 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
- 5) 山本祐二, 石川詔雄, 長田 明ほか：肝硬変例に対するカフェインを用いた肝ミクロゾーム (P4501 A2) 機能の測定。日消外会誌 26：2584—2588, 1993
- 6) Okamoto E, Kyo A, Yamanaka N et al: Prediction of the safe limits of hepatectomy by combined volumetric and functional measurements in patients with impaired hepatic function. Surgery 95: 586—592, 1984
- 7) Ishikawa A, Fukao K, Tsuji K et al: Trimethadione tolerance tests for the assessment of feasible size of hepatic resection in patients with hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol Hepatol 8: 426—432, 1993
- 8) Pugh RNH, Murray-Lyon IM, Dawson JL et al: Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. Br J Surg 60: 646—649, 1973
- 9) Van Thiel DH, Hagler NG, Schade RR et al: In vivo hepatic volume determination using sonography and computed tomography. Gastroenterology 88: 1812—1817, 1985
- 10) 諏訪紀夫, 高橋 徹, 佐々木康彦：肝硬変症の甲型乙型分類の基礎的検討。最新医 19：2756—2765, 1964
- 11) 高橋 徹, 松本 純：肝硬変症ならびに近縁肝病変の三次元形態学。肝臓 18：303—313, 1977
- 12) 諏訪紀夫：器官病理学。朝倉書店、東京、1968, p371—414
- 13) 宮内聡一郎, 赤松興一, 佐藤公平ほか：CT スキャンと肝生検から計測した肝細胞容積と残存肝機能との関連について。薬理と臨 14：249—254, 1986
- 14) 西山裕康, 具 英成, 藤原澄夫ほか：肝硬変の病理形態学的特徴の新しい定量評価法。日消病会誌 85：1672—1680, 1988
- 15) 金城謙一郎：Indocyanine green 試験と Brom-sulfalein 試験の異同に関する臨床研究。日消病会誌 70：1—15, 1973

### Correlations between Liver Function Tests and Morphometric Cytological Parameters in Liver Cirrhosis

Katsuhisa Tsuji<sup>1)</sup>, Akio Ishikawa<sup>1)</sup>, Mikio Doi<sup>2)</sup>, Akira Osada<sup>1)</sup>, Yuuki Yamamoto<sup>1)</sup>,  
Katashi Fukao<sup>1)</sup>, Einosuke Tanaka<sup>3)</sup> and Masayuki Nakano<sup>4)</sup>

Department of Surgery, Institute of Clinical Medicine<sup>1)</sup> and Institute of Community Medicine<sup>3)</sup>,  
University of Tsukuba, Department of Pathology, Tsukuba Medical Center Hospital<sup>2)</sup> and  
The Research Center for Pathologic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University<sup>4)</sup>

Significance of morphometric cytological study using computerized color image analyzer was attempted by comparing conventional liver function tests including indocyanine green clearance test (ICGR15). Multiple biopsies were taken from the noncancerous portion of the liver during hepatectomy in 16 cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma. The morphological study of the liver, based on various parameters which are characteristic of liver cirrhosis, such as Ratio of hepatic parenchymal area and Hepatic cells per unit area including Hepatic volume, Hepatic parenchymal volume, Hepatic cell volume and Total hepatic cell volume, was performed. Hepatic volume was calculated by Ct scans of the liver. Total hepatic cells volume was calculated by multiplying these parameters. We compared these morphometric cytological parameters with the levels of ICGR15 and the liver function test (albumin, total bilirubin and prothrombin time). A significant correlation was found between ICGR15 and Ratio of hepatic parenchymal area ( $r = -0.506$ ,  $p < 0.01$ ), Hepatic cells per unit area ( $r = -0.655$ ,  $p < 0.003$ ) and Hepatic cells volume ( $r = -0.620$ ,  $p < 0.01$ ). Total hepatic cells volume, which is the good index of the normal parenchymal cells volume in the liver, did not show a significant relationship with ICGR15 or liver function tests. Therefore, we thought that the morphological changes of hepatic parenchyma by using computerized color image analyzer can be reflected in ICGR15 which is considered as one of the test for the function volume of the liver.

**Reprint requests:** Akio Ishikawa Department of Surgery, University of Tsukuba  
2-1-1 Amakubo, Tsukuba, 305 JAPAN

---