術前門脈枝塞栓術後の肝再生—特に部分胆管結紮下での 効果に関する実験的検討

山形大学第1外科

田中 丈二 石山 秀一 布施 明 塚本 長

門脈枝塞栓術(以下、PE)の効果と肝再生、胆汁うっ滞下でのPEの効果につき検討した。家兎を用い、部分肝切除、PE、胆管結紮切離(以下、BL)、PE 兼 BL の各モデルを作成して検討した。肥大葉の³H-thymidine 摂取率(in vitro)はPE 施行後は第 $1 \sim 7$ 日に軽度上昇(第 7 日:229.1±72.0%)したが、胆汁うっ滞による障害はなかった($205.4\pm52.5\%$)。胆汁うっ滞下 PE 後の塞栓葉の萎縮は強く、第14日非塞栓葉重量($2.18\pm0.06\%$;対体重比)は胆汁非うっ滞下 PE 後($1.14\pm0.04\%$)より高値だった。門脈枝塞栓および胆汁うっ滞のある部の in vitro での DNA 合成能は第 5 日に上昇($356.2\pm68.2\%$)し、この部での再生の potential は高まっていると思われたが、bromodeoxy-uridine標識率(in vivo)では再生は認めなかった。以上より部分胆管閉塞下でも PE の効果が期待でき、塞栓巣の胆道ドレナージは非塞栓葉の再生の点からは、むしろ行わないほうが効果的である可能性が示唆された。

Key words: transcatheter portal embolization, partial cholestasis, regeneration of the liver, carcinoma of the hepatic hilus

緒 言

近年,術前門脈枝塞栓術(transcatheter portal embolization:以下,PE)が開発され,肝切除の適応は拡大されてきたり。PEの効果について,教室ではイヌを用いた実験的検討からその有用性を証明しむ,臨床的にも応用してきた。しかし,PEによる塞栓薬の萎縮,残存肝の再生についての基礎的な研究は少なく,PEの最も効果的な施行法や適切な施行時期など,不明な点が多いのが現状である。

さらに,胆道系悪性腫瘍では術前に閉塞性黄疸を合併することがほとんどであるが,この黄疸下でのPEの効果についても不明なことが多い。

そこで、われわれは、家兎を用いた実験的 PE モデルを作成するとともに、これを用いて PE 後の非塞栓葉の肝再生について詳細な検討を加えた。さらに、部分胆管結紮下で PE を施行したモデルを作成して、胆管閉塞下での PE の効果および影響についても検討を加えた。

<1996年6月12日受理>別刷請求先:田中 丈二〒990-23 山形市飯田西2丁目2-2 山形大学医学部第1外科

実験材料および方法

1) 実験材料

体重2~3kg の家兎を使用した. 術前12時間前より絶食とした.

- 2) 実験方法および実験群
- A) 実験方法
- (1) 麻酔: pentobarbital 30mg/kg 投与にて静脈麻酔後,必要に応じて diethylether にて追加麻酔を行った.
- (2) 基礎実験: 5 羽の家兎を犠牲死させ、肝の分葉 状況、門脈走行について検討した(Fig. 1)。肝葉は、 外側左葉、内側左葉、右側右葉(内側部、外側部)、左 右の尾状葉よりなり、尾状葉を除く肝葉は全体の 74.3±2.0% (Mean±SE) であった。したがって尾状 葉を除く肝実質を肝全体の75%として扱った(Fig. 2)。
- (3) PE の施行法: 盲腸静脈第 1 分枝より18G シリコンチューブを挿入, その先端を門脈左葉内側・外側枝分岐部まで進めて約10ml の生理的食塩水に懸濁したゼラチン粉末 (Gelfoam Powder®) を注入した。注入は逆流によって左尾状葉の末梢部が変色をはじめるまでとした。Gelfoam Powder®の使用量は 1 羽あた

Fig. 1 Anatomy of the rabbit liver

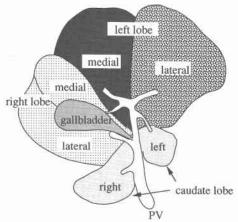
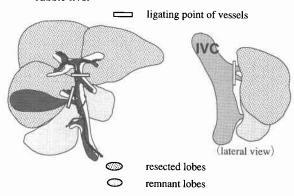


Fig. 2 Schema of partial (75%) resection of the rabbit liver



り平均 0.09 ± 0.02 g であった。また,この場合の塞栓葉は左葉と右葉の内側部であり,これらの肝全体に対する重量比は $58.6\pm2.5\%$ で,全肝の60%領域として扱った(Fig. 3)。

(4) 部分胆管結紮の方法:肝管左枝の根部にて,4-0 絹糸を用いて約3mm の間隔をおいて2重結紮し,その 間を切離した(**Fig. 4**).

B) 実験群

- (1) 対照群 (n=48);開腹し、左尾状葉周囲および 肝門部の漿膜を切開したのみの群。
 - (2) 肝切除群 (n=48); 肝75%領域を切除した群。
- (3) PE 群 (n=48); 肝60%領域 (左葉+右葉内側部) に対して PE を行った群.
- (4) PE+BL 群 (n=48);FE+60%領域に対して PEを行うとともに, 肝管左枝根部で胆管を結紮切離した 群.

Fig. 3 Embolization of the portal branch (schema)

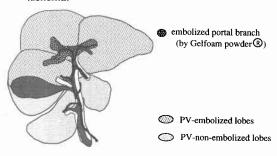
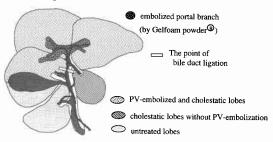


Fig. 4 Embolization of the portal branch with bile duct ligation



(5) BL群 (n=48);肝管左枝根部で胆管を結紮切離した群.

以上の5群について術後1,3,5,7,10,14日 目に屠殺,材料(肝臓,血液)を採取した。

- 3) 測定項目
- A) 臨床的検討
- a) 術後状態の観察
- b) 血液生化学的検討

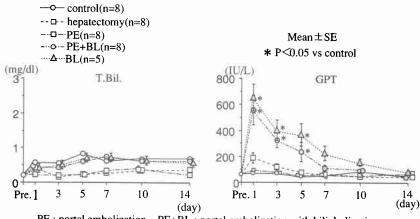
未処置群,および各群の術後各日における血清総ビリルビン (T-Bil) 値, GPT 値, ALP 値, LDH 値を測定した。

なお、未処置群 (n=5) の各測定値を各群の術前値 とした。

- B) 肝臓の再生肥大に関する検討
- a) 右尾状葉の in vitro での DNA 合成能

PE の非塞栓葉,または75%肝切除の残存肝となる右尾状葉の再生を DNA 合成の面から検討するために,肝組織中への 3 H-thymidine 取り込み能を Verly らの方法 3 に準じて測定した。すなわち右尾状葉の0.5 mm 薄切スライスを作成し, 20μ Ci の 3 H-thymidine を含む Hanks 液5ml 内で 2 時間振盪培養(37°C, O_2 ;95%, CO_2 ;5%)した。組織を10%trichloroacetic acid(TCA),および95%ethanol にて処理し,5%TCA

Fig. 5 Postoperative changes in the values of serum bililubin and GPT



PE; portal embolization, PE+BL; portal embolization with bilialy ligation,

BL; bilialy ligation

にて熱加水分解して DNA を抽出した. 得られた溶液1 ml 中の radioactivity を液体シンチレーションカウンターにて測定 (dpm/min) した。次いで溶液1ml 中に抽出された DNA を diphenylamine 法 (Dische 法)を用いて600nm における吸光度 (OD600) を測定した。この OD600値に1,000を乗じた数値で前述の radioactivity を除した数値を, 未処置群の平均値を100%として算出し,各群間で比較した。

b) 各部の肝重量

未処置群および各群の屠殺時(術後1,3,5,7,10,14日目)の体重ならびに左右尾状葉重量,肝切除群以外の群では塞栓葉,非塞栓葉の肝各部重量を測定し,体重に対する百分率を算出し各群間で比較した。なお,肝各部重量は摘出後,氷冷 Hanks 液内で洗浄脱血(約10分間)してから測定した。

c) PE+BL 群の肝各部における in vivo および in vitro での DNA 合成能の比較

in vivo での DNA 合成能を検討するために、PE+BL 群に対し、屠殺 1 時間前に5-bromodeoxyuridine (BrdU: WAKO chemicals) 30 mg/kg を経静脈的に投与した。屠殺後、肝臓の内側左葉(胆汁うっ滞かつ支配門脈塞栓葉)と右尾状葉(非胆汁うっ滞かつ門脈非塞栓葉)をおのおの70%ethanol にて24時間固定後、パラフィン包埋ブロックとし 5μ m の切片を作成した。これを脱パラフィンし,内因性 peroxydase をブロックした後、2N 塩酸で室温30%間,DNA 変性処理し、抗BrdU モノクローナル抗体(DAKO Inc. $\times 50$)にて4°C 1 昼夜反応させた。次いでビオチン化マウス IgG

抗体(Vector Lab.)で1時間反応させた後,ABC complex(Vector Lab.)で30分間反応させた。3,3′-diaminobenzidine 溶液にて発色させ、水洗後、ヘマトキシリンにて対比核染色を行い、陽性肝実質細胞数をカウントした。BrdU 標識率(BrdU L.I.)は肝実質細胞1,000個あたりの陽性細胞数で表した。さらに in vitro における各部の DNA 合成能について、組織中への³H-thymidine 取り込み能を前述の方法を用いて測定し、in vivo での DNA 合成能の指標である BrdU L. I.との相関を調べた.

2 群間の結果の有意差検定には Mann-Whitney 検定を用い, 危険率 5 %以下をもって有意差ありとした。

成 績

A-a) 術後状態

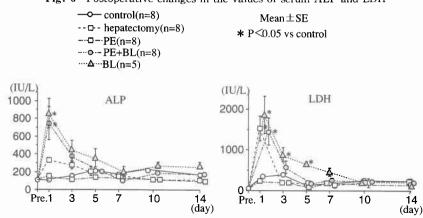
術後体重をみると、BL 群以外の群では一過性の減少の後、すみやかに緩やかな増加に転じているのに対し、BL 群では術後の減少が長引き、増加に転じるまで時間を要した。

BL 群では31% (15/48) に術後肉眼的肝膿瘍を形成し,うち9例 (19%) が死亡した。その他の群では肉眼的肝膿瘍形成例や死亡例はなかった。死亡例と肉眼的肝膿瘍形成例は以後の検討から除外し,BL 群の例数が各日でn=5となるよう実験を追加した。

A-b) 血液生化学的検討

T-Bil 値は各群ともに処置後も上昇せず,左肝管根部での部分胆管結紮では高ビリルビン血症はおこらなかったが,屠殺後の肝臓の肉眼的所見,組織学的検討では結紮胆管の再疎通を思わせる所見はなかった。

Fig. 6 Postoperative changes in the values of serum ALP and LDH



PE; portal embolization, PE+BL; portal embolization with bilialy ligation,

BL; bilialy ligation

GPT 値は BL 群, PE+BL 群において有意な上昇を認め、ピーク値は BL 群で 633 ± 125 IU/L, PE+BL 群では 554 ± 11 IIU/L であった。しかし、PE+BL 群では 7日目には正常化したのに対し、BL 群では回復が遅れる傾向がみられた(Fig. 5)。ALP、LDH においては肝切除群、BL 群と PE+BL 群で術後早期に有意な上昇を示したが、3 群ともに 7日目には正常化した(Fig. 6)。

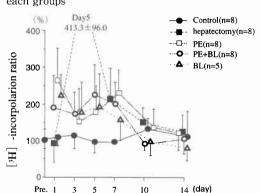
B-a) 右尾状葉の in vitro での DNA 合成能

肝切除群における 3 H-thymidine 摂取率は,術後 3 から5日目にかけてピークを形成し、ピーク値は術前値の約 4 倍(5日目; 4 13.3 \pm 96.0%)であった。一方、PE を施行した群 (PE 群、PE+BL 群) でははっきりとしたピークを作らず、 1 日目から 7 日目にかけて、対照群の約 2 2 倍の値(7 1日目;PE 群 2 29.1 2 72.0%,PE+BL 群 2 205.4 2 52.5%)で推移した。また BL 群においても PE 群、PE+BL 群とほぼ同レベルかつ同様のパターンを示した (**Fig. 7**).

B-b) 尾状葉重量の変化

肝切除群では術後すみやかに尾状葉の肥大再生がおこり、対体重比で術前値 $0.64\pm0.20\%$ から7日目には $1.77\pm0.19\%$ 、14日目には $1.90\pm0.17\%$ と未処置群総肝重量の $2.32\pm0.10\%$ と比較して約82%の重量まで回復していた。対照群では術前と比較しても全く重量の増加は認められなかった。一方、PE 群と PE+BL 群ではそれぞれ14日目で $0.93\pm0.20\%$ 、 $1.13\pm0.12\%$ と、肝切除群と比較すれば緩徐ではあるが重量の増加を認めた。この両群間では有意差はないものの PE+BL 群

Fig. 7 Changes in the [3H]-thymidine uptake in each groups



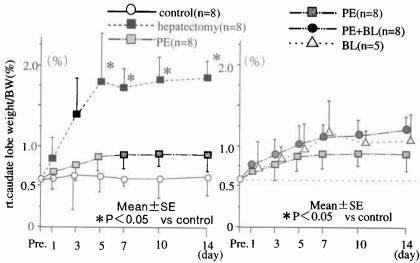
PE; portal embolization, PE+BL; portal embolization with bilialy ligation, BL; bilialy ligation

のほうが重量の増加は早い傾向が認められ,BL群は両者の中間の値を示した(Fig. 8).

また、PE 群と PE+BL 群について、尾状葉重量の増加率という点で比較すると PE 群では術前値に対して7日目で44%、14日目で46%の増量であるのに対し、PE+BL 群ではそれぞれ74%、76%の増量であり、後者で重量増加がすみやかである傾向がみられた(Fig. 9).

さらに塞栓葉と非塞栓葉の重量について, PE 群と PE+BL 群の間で比較すると, 14日目において, 塞栓 葉重量は PE 群で1.25±0.07%, PE+BL 群で0.63± 0.06%と後者において有意に低値であり, 非塞栓葉重 量は逆に PE 群で1.14±0.04%, PE+BL 群で2.18±

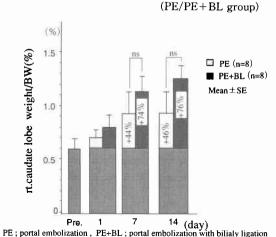
Fig. 8 Changes in the rt. caudate lobe weights in each groups



PE; portal embolization, PE+BL; portal embolization with bilialy ligation,

BL; bilialy ligation

Fig. 9 Increasing rate of the rt. caudate lobe weights

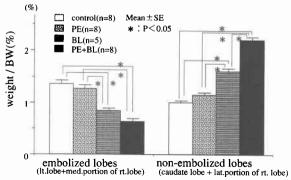


0.06%と後者において有意に高値であった。また, BL 群では,塞栓葉重量0.84±0.05%,非塞栓葉重量1.59± 0.05%で、PE 群と PE+BL 群の中間の値を示した (Fig. 10).

B-c) PE+BL 群の肝各部における in vivo および in vitro での DNA 合成能の比較

外側左葉と右尾状葉の各部における組織中への3Hthymidine 取り込み能は、ともに5日目にピークを形

Fig. 10 Comparison of the weights between the lobes with/without portal embolization on day 14



PE; portal embolization, PE+BL; portal embolization with bilialy ligation, BL : bilialy ligation

成し,5日目における値は前値と比較して前者で 356.2±68.2%, 後者で205.4±52.4%と in vitro での 値は有意差はないものの前者において高値であった。 一方, BrdU L.I.は、後者については7日目にピークを 形成し, 68.7±15.5/1,000であり, 前値から変化を認 めなかった前者と比較して有意に高値を示した(Fig. 11),

胆道系悪性腫瘍、特に肝門部胆管癌に対する外科治 療においては,根治手術として病変部を包含した広範 1996年11月 35(2103)

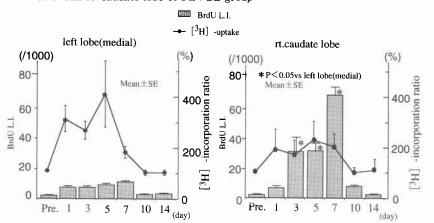


Fig. 11 Relationships between BrdU L.I. and [3H]-thymidine uptake in left medial and rt. caudate lobe of PE+BL group

PE+BL; portal embolization with bilialy ligation

肝切除術を必要とすることが多い^{4/5}. そこで、術後肝不全などの重篤な合併症の発生率を下げる工夫が求められた.

これに対し術前門脈枝塞栓術が幕内ら"によって臨床の場に導入され、以来、広範肝切除術による術後肝不全予防のために術前門脈枝塞栓術が行われるようになり、臨床的な立場からの報告が散見されるようになった^{6)~8)}。

一方,閉塞性黄疸症例に対する術前の減黄処置は術後合併症予防に極めて重要である⁹⁾¹⁹.閉塞性黄疸下では種々の細胞障害や循環動態の悪化が引き起こされ,黄疸肝においてはその再生能も低下することが報告されている^{11)~15}〕.

しかし、区域胆管枝がバラバラに閉塞し、術前減黄処置と、残存肝予備能増強のための PE の双方を必要とする肝門部胆管癌における胆道ドレナージについては論議が多い、すなわち残存予定肝の機能保持のためにはたとえ切除予定領域といえども胆汁うっ滞を早期に解除すべきであり、PE による塞栓予定領域であってもすべての胆管のドレナージを行ったほうが良いという説16)と、胆道閉塞による肝萎縮を期待して、塞栓予定領域、つまり切除予定領域の胆道ドレナージは行わないほうが良いとする説10がある。著者らと後者の立場から、胆管炎の合併がない限り切除予定領域の胆道ドレナージは原則として行わず、良好な成績を得ている。

本研究の主眼はこれらの論争について実験的検証を 行うことにあった。その結果,塞栓予定領域の部分胆 管結紮下に PE を施行しても,胆管結紮による GPT などの上昇がみられるものの,非塞栓葉の再生は障害を受けず,PE のみ施行した場合と同等の肝再生促進効果が得られることが DNA 合成能の経時的観察から証明された.一方,非塞栓葉の重量増加は,塞栓予定領域の部分胆管結紮下に PE を施行した群のほうが,非胆管結紮下に PE を施行した群よりも有意に速やかかつ高度であることが明らかになった. すなわち塞栓予定領域の胆道ドレナージは行わずに PE を施行したほうが,ドレナージ十分な非塞栓領域の再生肥大には有利であると考えられた.

このことは PE+BL 群の肝各部における DNA 合 成能についての検討からも明らかであった。すなわち, 萎縮してゆく過程にある内側左葉(胆汁うっ滞葉かつ 塞栓葉)が、in vitro では高い DNA 合成能を有するの に対し, in vivo では DNA 合成は促進していなかっ た. これは in vitro に移されることで肝組織が高い胆 道内圧から解放されることによるものと思われる。つ まり, 胆汁うっ滞下では肝細胞の再生のポテンシャル はかなり上昇しているので, 胆汁うっ滞を除去する胆 道ドレナージはそれだけけで胆汁うっ滞肝葉の再生を 促す可能性が示唆される。PE 後の非塞栓葉の代償性 肥大が塞栓葉の萎縮を補うかたちで発現することを考 えると, 塞栓葉の胆道ドレナージは塞栓葉の萎縮を妨 げる方向に働き, ひいては非塞栓葉の代償性肥大の妨 げになる可能性がある。なお、PE+BL 群において、 胆汁うっ滞葉かつ非塞栓葉となった左尾状葉について は、組織学的に肝細胞の変性が高度であったが、容積 が肝臓全体の約1%と小さく肝臓全体におよぼす影響は無視しうると判断し、今回の検討から除外した.

さらに、PE の効果の面からみると、塞栓予定領域の部分胆管結紮下に PE を施行した際、代償性肥大を期待するためには不十分とされる60%領域の PE でも塞栓葉の萎縮は高度で、かつ非塞栓葉の代償性肥大も十分であったことから、部分的な胆道閉塞下では PE の効果が増強される可能性があると考えられた。

また、胆道閉塞による合併症という点からみても、BL群の術後肝膿瘍発生頻度が高度であったのに対し、PE+BL群では肉眼的肝膿瘍を認めなかったことから、PE はむしろ胆道閉塞による合併症の発生を防いでいる可能性が示唆された。これは、1 つには PE により塞栓葉の胆汁産生が減少するためであると思われた。

以上のことから,塞栓葉の胆道ドレナージは施行しないほうが非塞栓葉の代償性肥大の点からみて有利であり,可能な症例では省略すべきであると考えられる.

本論文の要旨は第95回日本外科学会総会(1995年4月,名 古屋)にて発表した。

本研究は平成5年度,厚生省がん研究会助成金の援助を うけた。

文 献

- 1) 幕内雅敏,高安賢一,宅間哲雄ほか:胆管癌に対する肝切除前肝内門脈枝塞栓術。日臨外医会誌 45:1558-1564, 1984
- 2) 坂井庸祐,石山秀一,幕内雅敏ほか:広範肝切除術 に対する術前門脈枝塞栓術の有効性に関する実験 的検討一第1報.日外会誌 93:716-722, 1992
- 3) Verly WG: The hepatic chalone. Natl Cancer Inst Monogr 38: 175-184, 1973
- Bengmark S, Ekbergh H, Evander A et al: Major liver resection for hilar cholangiocarcinoma. Ann Surg 207: 120-125, 1988
- 5) Mizumoto R, Kawarada Y, Suzuki H: Surgical treatment of hilar carcinoma of the bile duct. Surg Gynecol Obstet 162: 153—158, 1986
- 6) 木下博明, 酒井克治, 広橋一裕ほか:肝細胞癌に対 する術前経皮経肝門脈枝塞栓術とその意義。 日消

- 外会誌 18:2329-2335, 1985
- 7) 田中 宏,木下博明,広橋一裕ほか:術前経皮経肝 門脈枝塞栓術による肝切除の適応拡大と安全性の 向上. 日外会誌 93:1317-1323, 1992
- 8) 広橋一裕, 木下博明, 岩佐隆太郎ほか:肝細胞癌に 対する肝切除前 PTPE の意義。日外会誌 92: 1316-1319, 1991
- Mcpherson GAD, Benjamin IS, Hodgson HJF et al: Preoperative percutaneous transhepatic biliary drainage: the results of a controlled trial. Br J Surg 71: 371-375, 1984
- 10) Denning D, Ellison EC, Carey LC: Preoperative percutaneous transhepatic biliary decompression lower operative morbidity in patients with obstructive jaundice. Am J Surg 141: 61—65, 1981
- 11) 石川正志, 余喜多史郎, 幕内雅敏ほか: 閉塞性黄疸 下における門脈塞栓術後の肝再生に関する実験的 研究. 日消外会誌 **22**:2615-2621, 1989
- 12) 大東誠司, 肝外閉塞性黄疸時における肝血行遮断 に関する実験的研究-全身ならびに肝血行動態, 酸素需給動態におよぼす影響について。日外会誌 93:842-849, 1992
- 13) Dawson JL: Acute post-operative renal failure in obstructive jaundice. Ann R Coll Surg Engl 42: 163-181, 1968
- 14) Katz S, Grosfeld JL, JL, Weber TR et al: Imjpared bacterial clearance and trapping in obstructive jaundice. Ann Surg 199:14-20, 1984
- 15) Green J, Bayer R, Sideman S et al: The 'jaun-diced heart': A possible explanation for postoperative shock in obstructive jaundice. Surgery 100: 14-20, 1986
- 16) Nimura Y, Hayakawa N, Kamiya J et al: Hepatic segmentectomy with caudate lobe resection for bile duct carcinoma of the hepatic hilus. World J Surg 14:535—544, 1990
- 17) Makuuchi M, Bao LT, Takayasu K et al: Preoperative portal embolization to increase safety of major hepatectomy for hilar bile duct carcinoma: A preliminary report. Surgery 107:521-527, 1990

Regeneration of Liver after Transcatheter Portal Embolization —Especially under the Condition with Partial Cholestasis

Joji Tanaka, Shuichi Ishiyama, Akira Fuse and Masaru Tsukamoto First Department of Surgery, Yamagata University School of Medicine

We studied the effect of portal embolization (PE) on compensatory hypetrophy, especially under the condition of cholestasis. For this study, we developed a rabbit model of partial hepatectomy, PE, bile duct ligation (BL) and PE + BL. 3 H-thymidine incorporation (in vitro) into the untreated lobe after PE was enhanced mildly but continuously from Day 1 to 7, (Day 7; 229.1 \pm 72.0%) and this enhancement was not suppressed by partial biliary retention in the embolized lobe (205.4 \pm 52.5). Atrophy of the embolized lobe after PE was greater under the condition of cholestasis, and the Day 14 weight of the untreated lobe was heavier with partial cholestasis (2.18 \pm 0.06%/body weight) than without cholestasis (1.14 \pm 0.04%). In the embolized and cholestatic lobe, DNA synthesis in vitro showed a peak at Day 5 (Peak value; 356.2 \pm 68.2%), which was thought to indicated a high regeneration potential. But in vivo, actual regeneration (bromodeoxyuridine labelling index) was strongly suppressed. Therefore, we concluded that the effect of PE was not suppressed by the biliary retention in the embolized lobe. And the biliary drainage of the embolized lobe was thought not to be an advantage for regeneration of the untreated lobe.

Reprint requests: Joji Tanaka First Department of Surgery, Yamagata University School of Medicine

2-2-2 Iida-Nishi, Yamagata, 990-23 JAPAN