# 肝組織の肝特異的機能発現と肝構造に対する 持続的ずり応力負荷の影響

# <sup>埼玉医科大学消化器一般外科</sup> 鳥井 孝宏 宮澤 光男 小山 勇

目的・方法:大量肝切除後あるいは肝移植後の移植肝においては肝内の血流は急激に変化し、その血流により生じるずり応力の変化が術後経過の良否を左右する可能性がある.そこで、回転式ラジアルフロー型バイオリアクター(RRFB)というずり応力を段階的に負荷できる装置で直接,肝組織にずり応力を負荷し,ずり応力負荷変化による肝組織の肝特異的機能発現の変化,肝構造の変化,肝組織のアポトーシスの進行の変化を観察し,肝組織のずり応力負荷に対する影響を評価した.結果:肝組織にRRFBで中等度の持続的ずり応力(30RPM)を負荷した培養では,肝特異的機能発現は長期維持され,肝構造破壊も抑制される傾向にあった.しかし,ずり応力を負荷しない培養(0RPM),あるいは過度のずり応力負荷(120RPM)では,肝組織の肝特異的機能発現は短期間で低下し,肝組織構造も培養早期に破壊された.肝組織培養における肝組織のアポトーシス進行においても,ずり応力を負荷しない(0RPM),あるいは高度のずり応力負荷培養(120RPM)に比較し,中等度の持続的ずり応力負荷(30RPM)によって最もアポトーシスの進行が抑制された.結語:適度な持続的ずり応力負荷(30RPM)によって最もアポトーシスの進行が抑制された.結語:適度な持続的ずり応力負荷は,肝組織の肝特異的機能発現を長期に維持し,肝組織保護に働くことが示唆された.

#### 緒言

大量肝切除後の残存肝あるいは肝移植時の虚血 再灌流など,急激に門脈内の血流が増加する状態 においては,その血流によって通常よりも高度の ずり応力が肝の類洞内で生じている.このずり応 力によって肝細胞,肝非実質細胞は直接的,ある いは間接的に影響をうけていると考えられ,この ずり応力の程度により肝切除後あるいは肝移植後 の術後経過の良否が左右されている可能性があ る.近年,このようなずり応力の重要性が血管内 皮細胞などの細胞では報告されてきており,いく つかの細胞では細胞特異的機能あるいは細胞構造 を維持するためには適度な物理的刺激(ずり応力 負荷)が必要不可欠であると考えられるように なってきた<sup>1)</sup>.肝臓においての血管内皮細胞は類 洞内皮細胞であるが,この細胞には小孔があり, その小孔を介して直接的にあるいは間接的に肝細 胞にずり応力が負荷されていると考えられる2). そして、そのずり応力の強度によって肝細胞障害。 肝組織障害がおこり,血流変化後の肝特異的機能 発現の程度が規定されている可能性がある、この ことは,肝切除後のずり応力の変化した状況にお ける肝再生において,ずり応力は非常に重要な役 割をはたしている可能性があると考えられる、こ のように,ずり応力は肝組織の機能維持にとって 重要と考えられるが、過去においては、わずかに 肝細胞にずり応力を負荷した実験があるのみ で3)~5), 肝組織に対する直接的なずり応力がどの ように肝特異的機能発現に影響するかという検討 はない.そこで我々は,直接的に肝組織にずり応 力が負荷できる装置を用い,ずり応力の程度によ る肝組織構造の変化,肝特異的機能発現の変化を 検討した、さらに、どのようなずり応力負荷が最 も肝組織培養のアポトーシスの進行を抑制できる かを検討した。

<sup>&</sup>lt; 2003 年 3 月 26 日受理 > 別刷請求先:鳥井 孝宏 〒350 0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38 埼 玉医科大学消化器一般外科

Fig. 1 Rotating radial flow-bioreactor (RRFB). A stainless made disk rotates on the stirrer. Liver tissue slices are evenly spaced between two sheets of gauze directly placed on the disk. Centrifugal force due to rotation of the disk is applied to the liver tissue slices. When the culture fluid flows from the center of the disk, an almost radial outward flow of the fluid from the center to the periphery of the disk is seen. Shear stress generated by the centrifugal force and flow of the culture fluid is applied to the liver tissue.





# 方 法

1. 使用動物

使用動物としては,200~250gの雄性 Fisher ラット(Charles River, Japan)を用いた.また, すべての実験は,埼玉医科大学動物実験指針を尊 守して行った.

2. 肝組織片の作製

本実験では、ずり応力負荷をかける肝組織とし てラット肝組織小片を用いた.200~250gの雄性 Fisher ラット(Charles River, Japan)にエーテル 吸入による全身麻酔を施行後,素早く肝臓を摘出 し、冷却した培養液中(William's E)に保存した. Fig. 2 Calculated value of shear stress. Shear stress was applied to the liver tissue by rotating a rotational radial flow bioreactor at 0 revolutions per minute (RPM <u>)</u> in static culture <u>)</u> 30 RPM and 120 RPM. Applied shear stress at 30 RPM was calculated approximately at 0.5 to 20 dyne/cm<sup>2</sup>.



Where ( $\tau$  =shear stress,  $\mu$  =Viscosity, Q=Flow rate(1ml/min), H=height of the flow circuit (0.5 cm) and r=radius of the flow circuit(3.0cm))

この肝臓を挫滅しないようにメスを用いて細片化 し,0.5×0.5×0.2cmの組織片とした.本実験にお いてはすべてこのラット肝組織片を用いた.

3.回転式ラジアルフロー型バイオリアクター

本実験におけるずり応力負荷装置として,回転 式ラジアルフロー型バイオリアクター(Able,Japan)を用いた(Fig.1).同リアクターについては すでに報告済みであるが<sup>6)</sup>,簡単に説明すると,こ の装置はスターラーの上でステンレス製の円盤が 回転する仕組みとなっている.この円盤上に2枚 のガーゼを乗せ,そのガーゼ間に肝組織を均等に 配置した.ここで円盤を回転させると肝組織に遠 心力が加わる.また,中心方向より培養液が流れ ることにより,中心方向から辺縁方向にほぼラジ アルな培養液の流れができる.この遠心力と培養 液の流れにより肝組織にずり応力が負荷される.

4. ずり応力の計算値

本実験で肝組織に負荷されるずり応力は Fig.2 の式により概算値が求められる<sup>7)</sup>. 肝組織に負荷 されるずり応力には回転の中心部と遠位部では差 があるため採取する肝組織は円盤の一定の部位よ り採取した. 肝組織に対するずり応力は,回転式 ラジアルフロー型バイオリアクターの回転数を変 化させ,静置培養(0RPM), 30RPM, 120RPM の3条件で行った.ずり応力は30RPM で約0.5~ 20dyne/cm<sup>2</sup>負荷される計算となる.

5. 肝組織培養システム

本実験ではラジアルフロー型バイオリアクター を組み込んだ回路を作製し(Fig.3), すべての実 Fig. 3 Liver tissue culture system. We incorporated a radial flow bioreactor into the circuit prior to experiments, and used it for all experiments. Reservoir (SCHOTDURAN, Germany), pump (Coleparmer instrument Co.,USA) and reactor(Able, Japan) were designed to be mounted on the circuit. The reactor was constantly supplied with 95% O2 and 5% CO2. All experiments were carried out in an incubator at 37.



験でこの回路を使用した.この回路にはリザー バー (SCHOTTDURAN, Germany), ポンプ (Cole-parmer instrument Co., USA), リアクター (Able, Japan)が組み込まれており, リアクター 内には95%O<sub>2</sub>, 5%CO<sub>2</sub>が供給されている.すべ ての実験は37 のインキュベーター内で施行し た.

#### 6. 培養法

肝組織小片 20 片をガーゼ間に均等に配置し、リアクターを回転させることで肝組織にずり応力を 負荷しながら培養した.回転数は、0RPM(静置培 養),30RPM,120RPMの3条件とした.培養液は William's E medium(GIBCO,Invitrogen Corporation,USA)120mlを回路内に充填し、1ml/min の流速で灌流した.培養はインキュベーター内 (37 ,95%O<sub>2</sub>,5%CO<sub>2</sub>)で施行した.

7. 測定項目

(1)ずり応力負荷による肝組織の形態学的変 化:肝組織に回転式ラジアルフロー型バイオリア クターでずり応力を負荷し(0,30,120RPM),培 養12時間後肝組織を採取し,位相差電子顕微鏡で ずり応力負荷の変化による形態学的変化を比較検 討した.また,各ずり応力負荷培養3時間後の肝 組織を採取し,透過電子顕微鏡を用い微細構造を 観察した. (2) 肝組織のアルブミン産生,LDH逸脱の測 定:ずり応力変化による肝組織よりのLDH逸脱 の変化,アルブミン産生の変化を経時的に測定し た.バイオリアクターの回転数は,0,30,120 RPM とした(各群 n = 6).リアクターの培養液流 出部より培養液を経時的に採取し,アルブミンは ネフエロメトリー法<sup>®)</sup>,LDH は JSCC 標準化対応 法<sup>®</sup>にて測定した.

(3) 肝組織内のアポトーシス細胞の検出:ずり 応力負荷の変化(0,30,120RPM)による肝組織 のアポトーシス進行の変化を,肝組織培養3時間 後の肝組織を用い,TUNEL法にてアポトーシス 細胞を検討した.

8. TUNEL法

TUNEL 法 は In Situ Cell Death Kit (Roche Diagnostic Corporation, Indianapolis, USA)を用 いて行った"). ラットより摘出した肝組織は 10% ホルマリン溶液に固定後パラフィン包埋した.こ れを脱パラフィンし,エタノール配列により親水 処理後, PBS で洗浄した. Proteinase K(20µg/ml) で処理後,PBSで洗浄し,3%過酸化水素水に5分 間浸して内因性ペルオキシダーゼをブロックし た. TUNEL 反応液 (TdT・ターミナルトランス フェラーゼ)を滴下し,37,60分間反応させ, 断片化 DNA の遊離3 OH 末端にフルオレセイ ン dUTP を高感度かつ特異的に標識し, PBS で 洗浄した.ペルオキシダーゼ標識ヒツジ抗フルオ レセイン抗体を 37 , 30 分間反応させ PBS で洗 浄した. 発色基質溶液(DAB)で発色し, ヘマト キシリンで対比染色した後,光学顕微鏡で観察し た.

9. 統計学的解析

持続的ずり応力負荷の変化(0,30,120RP-M)による肝組織よりのLDH逸脱,アルプミン産 生の値は平均値±標準偏差(SD)で示し,各群間 の有意差検定にはKruskal Wallis rank test を用 いた.p<0.05 未満を有意差ありとした.

## 結 果

1. ずり応力負荷の変化に対する肝組織構造の 変化

a 位相差電顕像

- Fig. 4 Changes in the liver 's structure depending on the intensity of shear stress. Scanning electron microscope image.
- Small pores were well maintained in the sinusoidal endothelial cells in the control liver tissue at the start of incubation(0 hr (A) Large pores were evidently noted within the sinusoid in the liver tissue after 12 hr incubation at 0 RPM (in static culture) (B) but were not noted at 30 RPM (C) They were noted within the sinusoid in the liver tissue at 120 RPM, similar to 0 RPM (D)



培養0時における肝組織のコントロールでは, 肝類洞内皮細胞の小孔の構造はよく保たれてい た.培養12時間後の0RPM(静置培養)の肝組織 内の類洞内には大きな孔が目立ち破壊が高度で あった.30RPMの回転培養では,肝組織内の類洞 内にあまり大きな孔は認められなかった.120 RPMの培養においては,0RPMの培養と同様に類 洞内に大きな孔が認められた(Fig.4).

## b 透過電顕像

培養0時間のコントロールにおいては、肝細胞, 肝非実質細胞の破壊は認められなかった.0RPM 培養3時間後の肝組織では,肝非実質細胞の破壊 が高度であり、肝細胞も細胞質に空洞が目立った. 肝細胞の核内構造物は核膜の辺縁に偏在している 所見であった.120RPM の培養においても同様の 所見であった.30RPM の回転培養においては,肝 非実質細胞の破壊は高度であったが,肝実質細胞 の細胞質内の空洞は少数であり,核内構造物の辺 縁への偏在は軽度であった(Fig.5).

2. 肝組織よりの LDH 逸脱

ずり応力負荷の変化(0,30,120RPM)に対す る肝組織よりのLDH逸脱を経時的に測定した. 肝組織よりのLDH逸脱は,30RPMで回転させた 培養が,すべての培養時間で最低値をとり,120 RPMが次に低値であった.0RPMの静置培養では LDH逸脱がすべての培養時間で有意差を持ち最 も高値であった(Fig.6). Fig. 5 Changes in the liver s structure depending on the intensity of shear stress. Transmission electron microscope image.

Hepatocyte or non-parenchymal hepatocyte destruction was not noted in the control liver tissue at the start of incubation (0 hr  $\chi$  A). Severe destruction of non-parenchymal hepatocyte was noted in the liver tissue after 3 hr incubation at 0 RPM; voids were evidently seen within the hepatocyte cytoplasm, and intranuclear structures in hepatocyte were localized at the periphery of nuclear membrane (arrows  $\chi$  B) Similar findings were noted in the liver tissue at 120 RPM(arrows  $\chi$  D) Severe destruction of non-parenchymal hepatocyte was noted after 3 hr incubation at 30 RPM, however a small number of voids were noted within the parenchymal hepatocyte were not localized at the periphery of nuclear membrane (C)



3. 肝組織のアルブミン産生

ずり応力負荷の変化(0,30,120RPM)に対す る肝組織のアルブミン産生を経時的に測定した. 培養すべての時間において30RPM が有意に産生 良好であった.120RPM の回転培養では,アルブ ミン産生は低値であり,0RPM の静置培養では, すべての培養時間において測定限度以下であった (Fig.7).

4.肝組織内のアポトーシス細胞

ずり応力負荷を変化(0,30,120RPM)させた

肝組織培養において肝組織内のアポトーシス細胞 を検出し,肝組織のアポトーシスの進行程度を観 察した.肝組織採取直後のコントロールの肝組織 内ではアポトーシス細胞は検出されなかった.培 養3時間後の肝組織において,30RPMの回転培養 ではアポトーシス細胞はほとんど確認されなかっ たが,0RPM(静置培養)および120RPM回転培 養ではほとんどの細胞がアポトーシスに陥ってい た(Fig.8).

Fig. 6 The time course of changes in LDH release from the liver tissue.



Fig. 7 The time course of changes in albumin production of the liver.



#### 考察

大量肝切除後あるいは肝移植時の虚血再灌流な どにおいては、門脈圧の急激な増加により生ずる 高度のずり応力が類洞内皮細胞に負荷される.こ の高度のずり応力負荷が肝臓にとって過度のずり 応力負荷となり、不可逆的な肝障害をおこす可能 性がある<sup>10,11)</sup>.一方、障害のない肝臓においても、 ほぼ一定の類洞内血流のため、常にほぼ一定のず り応力が類洞内皮細胞あるいは肝細胞に負荷され ていると考えられる.その一定のずり応力が変化 し、過度になりすぎた場合、あるいは全くない場 合に肝組織構造、肝特異的機能発現にどのような 変化がおこるか、直接的にずり応力を肝組織に負 荷した報告はない.そこで、回転式ラジアルフロー 型バイオリアクターという段階的にずり応力負荷 可能な装置を用い,肝組織に直接的にずり応力を 負荷し,どのようなずり応力が最も肝組織の機能, 構造保持に働くか検討した.

実験の条件についてであるが,本研究において は,肝組織をリアクター内にて培養し,その肝組 織にずり応力を負荷するという形になっている. しかし, 培養液に血清, 増殖因子などの培養に有 利と思われる因子は添加していないため, 培養条 件としては最適な状態とはなっていない.つまり, 本研究はずり応力という観点から,肝組織の培養 条件を設定することはある程度可能であるが,最 適条件を設定する実験ではなく,ずり応力負荷が 肝組織の機能,構造保持にどのように働いている かの検討である.この実験モデルにおいては,培 養液の流れとリアクターの回転で肝組織にずり応 力が負荷される.このずり応力により,培養液が 肝組織内の脈管内を流れることは想像できるが、 実際の肝臓内の類洞内血流動態とは異なっている であろう.しかし,ずり応力が肝細胞,肝組織に 働いていることは同様であり,ずり応力の強弱に 対する肝組織の影響を検討するモデルとしてこの 実験を施行した。

肝組織構造維持にずり応力負荷がどのように働 くか,肝組織にずり応力を負荷後,肝組織の構造 を電顕にて観察することにより検討した.全くず り応力を負荷しない場合,中等度,高度のずり応 力負荷した場合を比較検討した,ずり応力を負荷 しない培養と高度のずり応力負荷培養は中等度の ずり応力負荷培養と比較すると類洞内構造の破壊 が著しかった(Fig. 4,5). 肝組織破壊は, 肝スライ ス内の表面と内部によって差異はなく,各群にお けるずり応力の強弱によってのみ差異が認められ た.この結果は,適度な持続的ずり応力負荷は, 肝組織培養における肝組織の構造維持に優位に働 くことを示していると考えられた.また,全くず り応力を負荷しない培養,あるいは高度にずり応 力負荷は,肝組織構造維持には不適であり,肝組 織構造保持には,適度な量のずり応力負荷が存在 することが考えられた.このことは,肝移植の場 合のドナー肝の長期保存においての灌流保存のよ

Fig. 8 Apoptosis progression was observed on the liver tissue cultured depending on the intensity of shear stress. Apoptosis was not noted in the control liver tissue immediately after the liver tissue was excised (A ¥ × 400) and it was not virtually noted in the liver tissue after 3 hr incubation at 30 RPM (C ¥ × 400) Most cells in the liver tissue cultured at 0 RPM( in static culture X B X × 400) and 120 RPM went into apoptosis (arrows ¥ D ¥ × 400).



うに,ある程度のずり応力が働いている方が肝保存に有利であるという報告<sup>12)</sup>と同様の現象を証明していると思われた.また,高度のずり応力負荷が肝組織保護に不利に働くということは,大量肝切除後の残存肝の門脈圧が過度に上昇することが術後の肝不全を招くことにつながりかねないことを示していると思われる.さらに,成人生体肝移植時の移植肝のグラフトサイズが小さい場合,小さなグラフトに対して,再灌流後に過剰な門脈血流が生じ,移植後の予後が悪いと報告されている<sup>13)(4)</sup>.このことも同様に,過度のずり応力負荷が移植肝の肝組織破壊に働いている可能性があると言えるであろう.

肝組織破壊の生化学的パラメーターとして LDH release を測定した.この値も肝組織破壊を 電顕において観察したのと同様に,肝組織への中 等度の持続的ずり応力負荷において最も LDH release 値が低値であった(Fig. 6). このことは,肝 組織破壊と同様に,持続的に適度のずり応力を負 荷することにより,細胞膜の破壊が抑制され,逸 脱酵素としての LDH の上昇を抑制したと考え られた.

持続的ずり応力負荷が肝特異的機能発現の維持 にどのように作用するか検討するため,肝組織に ずり応力を負荷した培養において,アルブミン産 生を測定した.中等度の持続的ずり応力負荷にお いて最もアルブミン産生は維持された(Fig.7). 高度のずり応力負荷あるいはずり応力負荷なしの 培養においては,アルブミン産生は低値であり, 肝特異的機能発現を長期維持するためにも,肝組 織に対し,適度な持続的ずり応力が必要と考えら れた.

肝組織は長期培養することが困難であり,早期 に肝細胞,肝非実質細胞はアポトーシスに陥って しまう<sup>15 )16)</sup>. ずり応力負荷により 肝組織内の細胞 のアポトーシスがどのように影響をうけるか検討 した.肝組織内の細胞のアポトーシス進行は,中 等度の持続的ずり応力負荷によって最もその進行 が抑制された.しかし,ずり応力負荷なし,ある いは高度の持続的ずり応力負荷においては, 培養 3時間で肝細胞のアポトーシスは高度であった. 各群の肝スライス内の細胞局在においては,アポ トーシスに差異はなく,ずり応力の強弱によって のみアポトーシス細胞の程度に差異が認められ た これらの結果より 肝組織内の細胞のアポトー シスを長期抑制するためには,適度な持続的ずり 応力を負荷することも1つの方法であることが示 された.しかし,培養開始後6時間には,この適 度と考えられるずり応力負荷によっても肝細胞は アポトーシスに陥ってしまっていた.この結果よ リ,肝組織の長期培養のためには,適度な持続的 ずり応力負荷は有利に働くが, さらに他の有利と なる条件を整えることが必要と考えられた.

本研究の結語として,適度な持続的ずり応力負 荷は,ずり応力負荷なし,あるいは過度のずり応 力負荷よりも,肝組織の肝特異的機能維持,構造 維持のためには有利であることが示された.この ことから大量肝切除後あるいは肝移植時の虚血再 灌流時など,肝組織に高度のずり応力負荷が予想 される場合には,ずり応力負荷が過度にならない ような周術期管理が術後成績向上につながる可能 性が示唆された.

稿を終えるに当たり,実験にご協力いただきました消化 器一般外科,秋元尚枝様に深謝の意を表意します.

本論文の要旨は第 102 回日本外科学会総会(2002 年 4 月 京都)にて発表した.

### 文 献

 Yamamoto K, Korenaga R, Kamiya A et al : Fluid shear stress activates Ca2 + influx into human endothelial cells via P2X4 purinoceptors. Circ Res 87 : 385 391, 2000

- Kamegaya Y, Oda M, Yokomori H et al : Role of endothelin receptors in endothelin-1-induced morphological changes of hepatic sinusoidal endotherial fenestrae : morphometric evaluation with scanning electron microscopy. Hepatol Res 22 : 89 101, 2002
- 3) Powers MJ, Janigian DM, Wack KE et al : Functional behavior of primary rat liver cells in a three-dimensional perfused microarray bioreactor. Tissue Eng 8 : 499 513, 2002
- 4) Miyazawa M, Ueda M, Kitajima M et al : Effect of shear stress imposition on co-culture of hepatocyte and nonparenchymal cells : possibility of stimulating production of regenerating factor ; hepatocyte growth factor (HGF). Hepatology 34 : A658, 2000
- 5) Kan P, Miyoshi H, Yanagi K et al : Effects of shear stress on metabolic function of the coculture system of hepatocyte/nonparenchymal cells for a bioartificial liver. ASAIO J 44 : M441 444, 1998
- 6) Miyazawa M, Ueda M, Shimazu M et al : Development of bioartificial liver for the treatment of liver failure - Effect of shear stress on hepatic parenchymal and nonparenchymal cell cocluture. Acta Hepatol Jpn 41 : 687 688, 2000
- 7) Ledezma GA, Folch A, Bhalis UJ et al : Numerical model of fluid flow and oxygen transport in a radial-flow microchannel containing hepatocytes. J Biomech Eng 121 : 58 64, 1999
- 8) Spencer K, Price CP : Kinetic immunoturbidimetry : the estimation of albumin. Clin Chem Acta 95 : 263 276, 1979
- 9)日本臨床化学会:ヒト血清中酵素活性測定法の 勧告法.臨化 19:233 246,1990
- 10 ) Sato Y, Koyama S, Tsukada K et al : Acute portal hypertension reflecting shear stress is a triger of liver regeneration following partial hepatectomy. Surg Today 27 : 518 526, 1997
- 11 ) Helmlinger G, Berk BC, Nerem RM : Calcium responses of endothelial cell monolayers subjected to pulsatile and steady laminar flow differ. Am J Physiol 269 : C367 375, 1995
- 12) Lee CY, Zhang JX, Jones JW Jr et al : Functional recovery of preserved livers following warm ischemia : improvement by machine perfusion preservation. Transplantation 74 : 944 951, 2002
- 13) Sato Y, Yamamoto S, Oya H et al : Splenectomy for reduction of excessive portal hypertension after adult living-related donor liver transplantation. Hepatogastroenterology 49 : 1652 1655,

- 14) Sugawara Y, Makuuchi M, Takayama T et al : Small-for-size grafts in living-related liver transplantation. J Am Coll Surg 192 : 510 513, 2001
- 15) Shigematsu A, Motoji N, Momose Y et al : Viability of liver slices exhibiting absorption, metabolism, and elimination of substrates in culture me-

dium. Exp Mol Pathol 69: 119 143, 2000

16) Toutain HJ, Moronvalle-Halley V, Sarsat JP et al : Morphological and functional integrity of precision-cut rat liver slices in rotating organ culture and multiwell plate culture : effect of oxygen tension. Cell Biol Toxicol 14 : 175 190, 1998

## Effect of Continuous Aplication of Shear Stress on Liver-specific Function and Structure of Liver Tissue

Takahiro Torii, Mitsuo Miyazawa and Isamu Koyama Department of Digestive and General Surgery, Saitama Medical School

Objectives and Methods : Rapid blood flow changes occur in the liver following massive liver resection or in the grafted liver following liver transplantation, under which shear stress change induced by flow change may determine postoperative results. We observed changes in liver tissue structure and liver-specific function, and the extent of apoptosis progression in cultured rat liver tissue to which shear stress was applied, and consequently assessed shear stress effect on liver tissue. Results : Cultured liver tissue exposed to continuous application of moderate shear stress expressed and maintained long-term liver-specific function. Evidence also indicated that destruction of the liver structure was inhibited. Cultured liver tissue not exposed to shear stress or exposed to high shear stress was shown to lose liver-specific function soon after expression. The liver structure was destroyed in early incubation. Apoptosis progression in the cultured liver tissue not exposed to shear stress or exposed to high shear stress. Conclusion : These results suggested that continuous application of appropriate shear stress has advantages over other types of stress in protecting liver tissue. Key words : liver tissue, shear stress, apoptosis, liver-specific function, liver-structure

[Jpn J Gastroenterol Surg 36: 1249 1257, 2003]

Reprint requests: Takahiro Torii Department of Digestive and General Surgery, Saitama Medical School 38 Morohongou, Moroyama, Iruma-gun, Saitama, 350 0495 JAPAN