

主論文の要旨

**Liver regeneration following experimental major
hepatectomy with choledochojejunostomy**

〔 胆管空腸吻合を伴う肝切除術後の肝再生 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態外科学講座 腫瘍外科学分野

(指導：椰野 正人 教授)

高木 健裕

【背景】

胆管癌患者は肝外胆管切除を伴う肝切除と胆管空腸吻合による再建術を要することが多い。胆管空腸吻合を併施した肝切除では術後肝不全の発生率も高い。その一因として肝再生の遅延による残肝 volume の不足が考えられるが、胆管空腸吻合が肝切除後の肝再生に及ぼす影響はいまだに不明である。そこで本研究では胆管空腸吻合が肝切除術後の肝再生に及ぼす影響とその機序の解明を目的とした。

【方法】

250-300g の雄ラットをランダムに二群に分け、肝外胆管切除を伴う 70%肝切除及び胆管空腸吻合のモデル (Hx+CJ group) と、70%肝切除のみのモデル (CJ group) を作成した。胆管空腸吻合は、胆管内に内径 0.3mm のポリエチレンカテーテルを挿入し、空腸にいわゆるタバコ縫合をかけてカテーテルを空腸内に挿入して作成した。ラットは 1、2、4、7 日後に血液と残肝のサンプリングを施行し各群を比較した。各タイムポイントで n = 6-8 匹使用した。以下の項目について比較検討を施行した。

血液検査：血清 AST、ALT、total bilirubin。

組織学的検査：残肝の組織像 (HE 染色)。

術後肝再生率：初回手術時の切除肝重量から予測残肝を推定し、サンプリング時の残肝重量と比較して再生率を計算した。

炎症系サイトカインである interleukin6 (IL6)、tumour necrosis factor α (TNF α)、toll-like receptor-4 (TLR-4)、肝再生促進サイトカインである hepatocyte growth factor (HGF) と epidermal growth factor (EGF)、線維芽細胞の α -smooth muscle actin (α -SMA) の残肝実質内 mRNA 量と免疫組織学的検査について比較した。残肝実質内の各種 mRNA 発現量同定には Applied Biosystems 社の Prism™ 7300 sequence detection system® を用いて RT-PCR を施行した。免疫組織学的検査は Ventana Medical Systems 社の automated slide preparation system Discovery® XT を使用した。

統計は正規分布を確認し student's t 検定を用いて二群間の比較を行った。非正規分布の場合は Mann-Whitney U 検定を用いた。P < 0.05 を有意差ありとし、解析には IBM 社の SPSS® を用いた。

【結果】

肝胆道系酵素の血清 AST、ALT、総ビリルビン値は術後 4、7 日後の Hx+CJ group で有意に上昇していた (Fig.1a-c)。Hx+CJ group の組織像では、単純肝切除後の 1、4、7 日後と比較して、門脈周囲に炎症細胞の浸潤が漸増していた (Fig.1d)。炎症系サイトカイン IL6、TNF α の残肝実質内の mRNA 量は術後 4、7 日後の Hx+CJ group で著明に有意に上昇していた (Fig.2a、b)。エンドトキシン受容体である TLR4 の Hx+CJ group の術後 4 日目の残肝実質内 mRNA 発現量は有意に高く、免疫染色でも TLR4 の発現は増加していた (Fig.2c、d)。

Hx+CJ group の 2、4 日目の術後肝再生率は CJ group と比べ有意に抑制されていた

(14.2±6.3 vs 21.4±2.6%、p=0.013)、(32.4±5.3 vs 41.3±4.4%、p=0.004) (Fig.3a)。

また肝再生促進サイトカインである HGF、EGF の残肝実質内 mRNA 量は Hx+CJ group で有意に低下していた(Fig.3b)。Hx+CJ group の HGF の発現量低下は免疫染色でも確認された(Fig.3c)。肝実質内で HGF を産生する肝星細胞は活性化する際に α -SMA の発現量が増加することが知られている。本研究で α SMA は術後 4 日目に Hx+CJ group で mRNA 発現量が増加していた(Fig.4a)。また免疫染色では CJ を加えた群で炎症細胞の広がりによって α -SMA 発現の上昇を認めた(Fig.4b)。

【結語】

胆管空腸吻合を伴う肝切除モデルを作成し検討したところ、胆管空腸吻合は肝切除術後の初期の肝再生は抑制された。そのメカニズムとして逆行性胆管炎に伴う過剰な炎症反応と肝星細胞の活性化、肝再生促進因子の発現低下が関与していると考えられた。