

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 24日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591594

研究課題名（和文） 血小板機能を用いた門脈塞栓後肝再生促進に関する研究

研究課題名（英文） promote liver regeneration after portal vein embolization using platelet administration

研究代表者

村岡 紀昭（NORIAKI MURAOKA）

福井大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70397248

研究成果の概要（和文）：臨床現場においては、肝手術前の残肝容積増加目的に術前門脈塞栓術が施行されることがある。その効果を高めるため、豚を用いて、門脈塞栓術中と術後に血小板投与を行った。その結果、肝容積増加は見られたが、コントロールと血小板投与群に有意差はなかった。病理組織学的検討（MIB1 index と 2 核化肝細胞の測定）でも有意差はみられなかった。

研究成果の概要（英文） To investigate the effect of platelets administration for liver volume increase, portal vein embolization was performed using pig with or without platelets administration. For volume increase of non-embolized liver, no significant difference was found between the group of administration of platelets and control. There were no significant differences in histopathological investigation of non-embolized liver (count of hepatocyte of two nuclei and MIB1 index).

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：放射線

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：放射線、IVR、肝容積増加、門脈塞栓術、血小板

1. 研究開始当初の背景

門脈塞栓術（以下PVE）は拡大肝切除前に行われ、非塞栓側の肝容積を増大させ、術後の肝不全を予防するた

め临床上重要である。しかしながら、非塞栓側の増大には2週間以上の期間が必要で、しかも十分な増大が得られない症例も経験される。また、非塞

栓側の増大を待つ間に腫瘍が増大する危険性があり、早期の増大が望まれる。

過去の報告によると invitro において、血小板が IGF-1 (insulin like growth factor) や HGF (hepatic growth factor) の存在下で肝細胞の分化を誘導し、in vivo ではマウスにおいて、血小板が肝切除の早期に肝再生を促す安全で強力な因子であることが証明されている。そこで、PVE 直後に血小板を直接門脈内に投与或いは末梢から投与し、血中の血小板濃度を増加させる、或いは血小板の機能をサイトカインで活性化させた上で、PVE を行えば、従来の PVE 単独よりも早期に十分な非塞栓側の肝容積増大が得られ、安全に肝切除が行える可能性が予想される。

2. 研究の目的

(1) 本研究は、拡大肝切除前に非塞栓側（非切除側）肝容積増加の目的で行われる門脈塞栓術において、門脈塞栓前に血小板製剤を門脈内に直接或いは末梢血中に投与することで、早期に非塞栓側における肝細胞の増殖および肝容積の増大がより促されるか否かを検討するものである。

(2) さらに病理組織学的に肝臓の摘出標本において肝細胞の増殖が促されているかどうかを検討した。

3. 研究の方法

(1) 肝容積の増大に関する検討方法

対象は 4 匹の♀豚、体重は平均 41.6 ± 1.82kg で血小板投与群 (A, B) と非投与群 (C, D) に分けた。

・PVE: 全身麻酔下で経皮経肝的に門脈左枝を穿刺し、門脈造影を行った後、門脈左枝塞栓した。塞栓物質はリピオドール 10cc と スポンゼル 3 枚分の細片を混合し、門脈左枝の血流が完全に消失するまで注入した。その後 4 匹とも 2 週間の飼育移管後、再び造影し、屠殺した。

・血小板作成: 対象すべてにおいて門脈穿刺前に動脈ルートから 2 単位ずつの採血、遠心分離を行い、濃縮血小板製剤を合計 8 単位作成した。

・血小板投与と血小板数測定: 血小板投与群には PVE 直後、右枝内に非自己血小板 2 単位を 20 分かけて注入。抜管後に自己血小板 1 単位を末梢から投与。翌日朝に自己血小板 1 単位点滴 (合計 4 単位投与)。非投与群には同じ量の輸液を門脈内、末梢から投与した。PVE 前後、翌日及び 2 週間後に血小板数の測定を行った。

・肝容積測定: PVE 前と 2 週間後に動脈ルートから上腸間膜動脈経由の門脈造影下に conebeam CT を用いて肝全体を撮影した (以下 CTAP)。肝容積測定用のソフトウェアとして WinRoof を使用し、冠状断像にて (1 症例 40 枚) 右葉&内側区と左葉に分けて容積測定を行い、両群間で有意差検定を行った。

(2) 病理組織学的検討方法

摘出標本の非塞栓側 (右葉) の 2 箇所 (頭側と尾側) で病理組織標本を MIB1 染色と HE 染色を行った。その後、MIB1 染色での濃染核の数と 2 核化の肝細胞数をそれぞれ測定し、2 群間で、肝細胞の再生状態に有意差があるか否かを検討した。

① MIB1 index に関しては MIB1 染色した標本を 20 倍の視野でそれぞれ 5 視野選択し、画像を保存。その後 1 視野 200 個の核 (合計 1000 個の核) の中で濃染している核をカウントし、有意差検定を行った。

② 2 核化肝細胞に関しては HE 染色標本を 20 倍の視野で 2 視野選択し、画像保存し、それぞれ合計 200 個の核 (合計 400 個の核) の中で 2 核化細胞数をカウントし、有意差検定を行った。

4. 研究成果

(1) PVE 前後でいずれの症例も非塞栓側の肝容積は増大 (図 1a, b) し、塞栓状態は概

ね良好であった。血小板投与群 (C, D) の増加率はそれぞれ 19.7%, 33.6%、でコントロール群 (A, B) の増加率 (17.6%, 32%) と比較して若干高かった (図 2) が、有意差は見られなかった。どちらも 2 例目に行った方が大きくなっていた。2 週間後の造影で塞栓門脈枝に部分的に再開通が見られた。血小板数は PVE 直後から減少し 2 週間後にさらに減少していた (図 3)。投与群では塞栓後と翌日には減少しなかったが、2 週間後には非投与群と同様に減少していた。

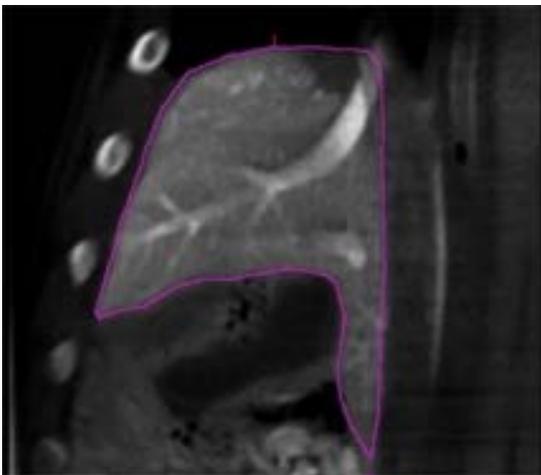


図 1a 塞栓前の CTAP 像

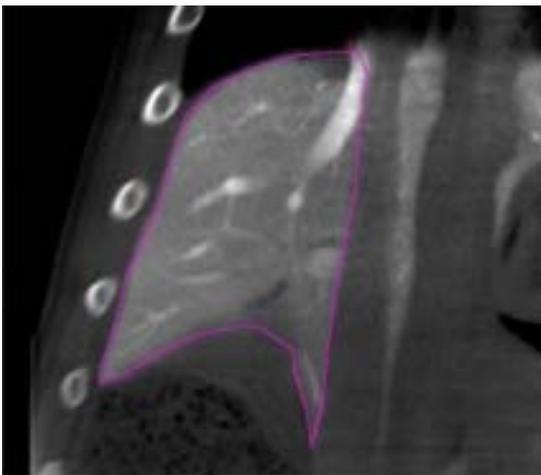


図 1b 塞栓 2 週間後の CTAP 像

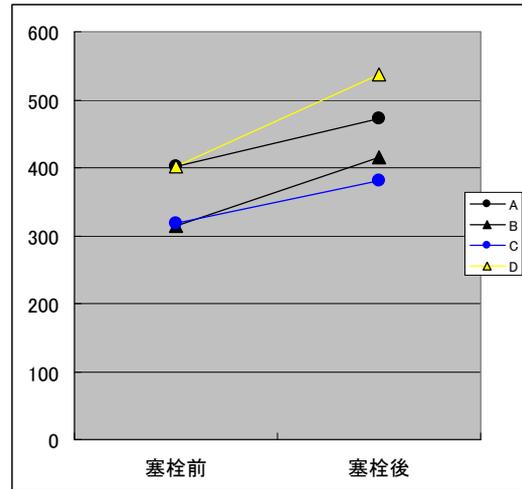


図 2 肝容積の変化 (縦軸は mL)

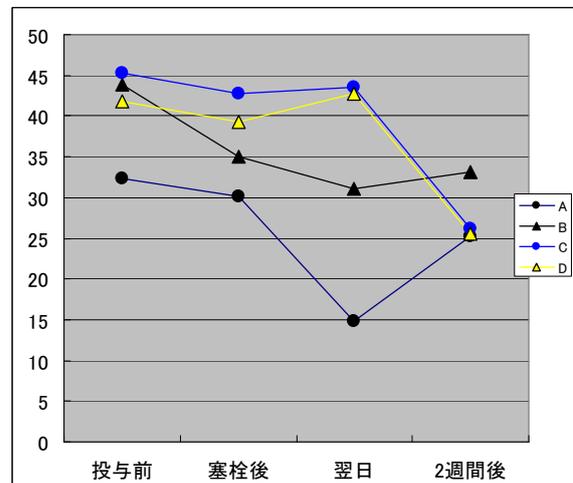


図 3 血小板数の変化 (縦軸は万/μL)

(2)

① 血小板投与群 (C, D) での MIB1 染色 5 視野平均濃染核個数 (頭側: C 6.4 個、D 11.6 個、尾側: C 2.6 個、D 10 個) (図 4) はコントロール群 (頭側: A 5.7 個、B 4.2 個、尾側: A 1 個、B 3.6 個) と比較してやや多い傾向がみられたが、有意差は見られなかった。

② 2 核化肝細胞数についても血小板投与群 (C, D) での 2 視野平均 2 核化細胞数 (頭側: C 20.5 個、D 22.5 個、尾側: C 22 個、D 24 個) はコントロール群 (頭側: A 11 個 B 14.5 個、尾側: A 8.5 個、B 11.5 個)

と比較して多い傾向が見られたが、有意差は見られなかった。

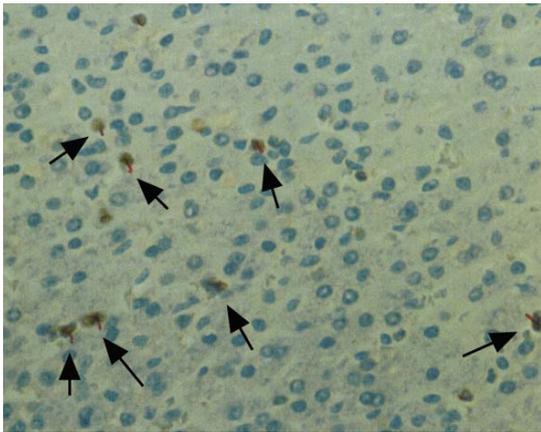


図4 血小板投与群(D) MIB1染色濃染肝細胞(黒矢印)

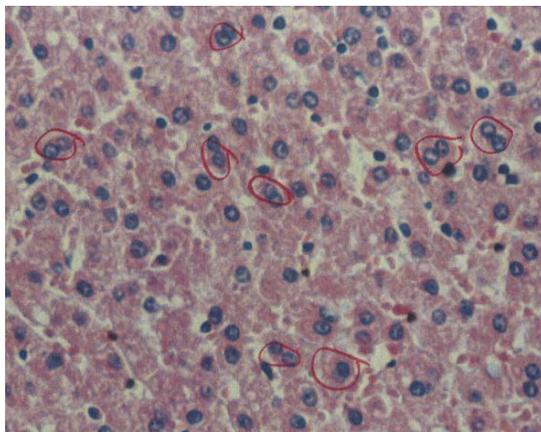


図5 血小板投与群(D)の2核化肝細胞(赤で囲まれた核)

(3) 結論

① PVE時とPVE後に血小板投与を行ったが、肝容積増加に明らかな促進効果はみられなかった。塞栓が十分で無かった可能性が考えられた。血小板は投与群で塞栓前後で減少しなかったが、2週間後には全例減少した。

② 病理組織学的にも有意差はみられなかったが、血小板投与群の方が、肝細胞の再生をより促進されている可能性が示唆された。

(4) 問題点と今後の展望

① 門脈塞栓には今回スポンゼルとリピオドールを使用し、やや不十分であった。再開通しないようにするにはさらに強い塞栓物質(エタノールやNBCA-lipiodol)の使用や塞栓程度の評価方法(門脈圧測定)を考慮する必要があると考えられた。

② CTAP像において、豚の肝臓は人とは違い均一に造影されず、随所に肝外供血による陰影欠損が認められた。その陰影欠損は容積測定の際の妨げになったため、通常の経静脈的造影剤投与のCTも同時に撮影されることが望ましいと考えられた。また、実験時に得られたcone beam CTのデータがDICOM対応ではなかったため、容積測定が困難を極めた。装置が更新されればその問題は解消される。

③ 血小板投与による肝容積増加率は有意差がでるほどではなかった。肝容積増加をより促すにはさらに強い増強因子(サイトカイン)やより多くの血小板投与が必要と考えられた。しかし、その際の副作用も検討しなければならないと考えられた。

④ 有意差検定を十分に行うには実験症例数を増やし、上記を十分検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村岡 紀昭 (MURAOKA NORIAKI)
福井大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：70397248

(2) 研究分担者

坂井 豊彦 (SAKAI TOYOHICO)
福井大学・医学部・講師
研究者番号：40283189

木下 一之 (KINOSHITA KAZUYUKI)
福井大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：00467127

今村 好章 (IMAMURA YOSHIAKI)
福井大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：40223341

(3) 連携研究者

なし。