

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 1日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791269

研究課題名（和文） 成人間生体部分肝移植におけるうっ血を伴うグラフト肝再生の改善

研究課題名（英文） Improvement of graft regeneration with partial congestion in living donor liver transplantation

研究代表者

木村 真樹（KIMURA MASAKI）

岐阜大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20422727

研究成果の概要（和文）：

生体部分肝移植において大きな問題となっているうっ血を伴ったグラフトの再生を検討するために、ラット間での生体部分肝移植モデルの確立から開始した。今までにラット間での全肝移植モデルは報告されているが、生体部分肝移植の報告は検索し得ずモデルの作成に難渋した。われわれの検討ではラットの60%肝切除でうっ血を伴う40%の残肝でも、G-CSF投与により有意に再生が促進されることが確認されていたので、まずは40%肝グラフトの移植を目指した。しかし40%グラフトの移植では生存が得られなかった。そのため全肝の移植からモデルの作成を開始して、その後一部にうっ血を伴う全肝グラフトの移植を検討することとした。全肝の移植モデルは従来報告通りに作成できて、全肝にうっ血を伴うグラフトでのラットの肝移植を継続している。

研究成果の概要（英文）：

Hepatic venous congestion after living donor liver transplantation can cause primary non function. We evaluated the effectiveness of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) for regeneration of remnant liver with venous congestion after hepatectomy in the past. But we were distressed to be established the model of living donor partial liver transplantation between rats. There were no living rats after 40% weight graft after transplantation. We have been making a model of living donor whole liver transplantation with partial congestion between rats. And we prepare for living donor liver transplantation in porcine model.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,700,000 | 510,000 | 2,210,000 |
| 2011年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 2,300,000 | 690,000 | 2,990,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：生体肝移植、うっ血肝、肝再生

1. 研究開始当初の背景

生体肝移植において何より優先されるのはドナーの安全性である。しかしグラフト採取後にドナーの死亡例は、まれではあるが報告されており、グラフト肝、残肝ともに再生においてうっ血が大きな問題となっている。今日の臨床の間では、グラフト採取に際してグラフトおよび残肝にうっ血をきたさないような採取を CT にもとづきイメージするソフトの開発や、ある程度の太い径を有する肝静脈は再建するなどの工夫はされている。

しかしうっ血を伴うグラフトや残肝は不可避であるとも考えられ、うっ血を伴う場合でも肝再生を改善させる試みは、成果が上げられれば有用であり、生体部分肝移植の安全性が向上し、適応疾患が拡大して肝細胞癌などに対しても標準的な治療となり症例数が増加していく可能性がある。

2. 研究の目的

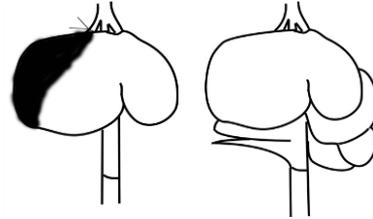
うっ血を伴うグラフト肝の再生を改善させる手段を開発することである。具体的にはラットを用いて生体部分肝移植モデルを確立し、これにうっ血を伴わせる。その後 G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) を投与して、うっ血を伴ったグラフト肝の再生を検討する。

3. 研究の方法

うっ血を伴う肝臓の再生が、G-CSF の投与で改善されることを確認する。その後生体肝移植モデルを作成して以下のステップで検証をおこなう。

- (1) 肝切除モデルでのうっ血を伴う残肝の再生が G-CSF 投与で改善されることの確認
- (2) ラット間生体部分肝移植モデルを確立すること。その後グラフトの一部をうっ血させて、(1)と同様に G-CSF を投与してグラフト肝の再生を改善させる。
- (3) ブタ (Porcine) モデルで生体部分肝移植を施行する。(3)と同様にうっ血肝の再生を検討する。

- (1) 約 250~300g の wister 雄性 rat に対して 60% 肝切除を施行する。右葉、尾状葉、左葉を切除して、残る中葉の中肝静脈右枝を結紮して右葉の一部にうっ血領域を作成する。術前から G-CSF を投与したラットに同様の肝切除を施行してうっ血を伴う残肝の再生を検討する。



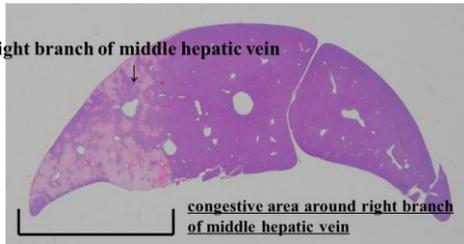
左は中葉とうっ血領域(黒塗り部分)

G-CSF を術前から 5 日間連続で $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 投与して、肝切除を施行する。その後の残肝重量の回復と、残肝摘出し PCNA (proliferating cell nuclear antigen) labeling index と mitotic index を測定して肝再生を評価する。同時に血液生化学検査も施行する。

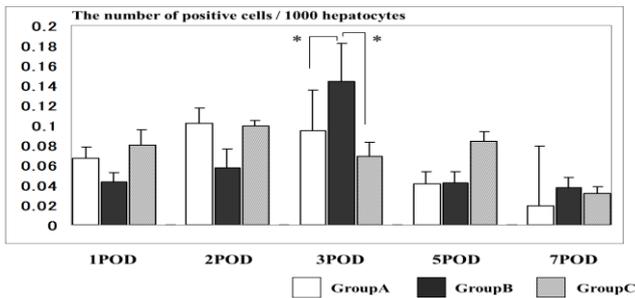
- (2) ラット間での生体肝移植を施行する。ドナーを 300g 程度、レシピエントを 250g 程度の重量で生体肝移植を施行する (cuff technique) を用いて門脈、胆管、静脈を再建する。全肝を使用しての移植が成功したら、300g ラットに対して中葉以外の 60% 肝切除を施行して、中葉の中間静脈右枝を結紮してうっ血グラフトを作成して、生体間部分肝移植を施行する。この 40% のグラフトで生存が得られたら、G-CSF を術前から投与してさらにグラフトの再生を改善させる試みを施行する。グラフトの再生が得られたら、G-CSF の指摘投与量と、指摘投与方法を検討する。
- (3) ブタ (porcine) を使用して生体肝移植を施行する。手術の侵襲を軽減するために、当院の動物実験施設に留置されている内視鏡手術システムも使用しておこなう。

4. 研究成果

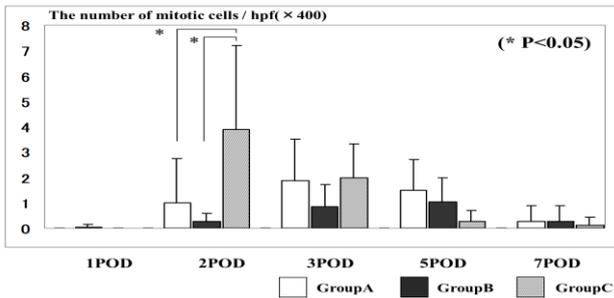
(1)



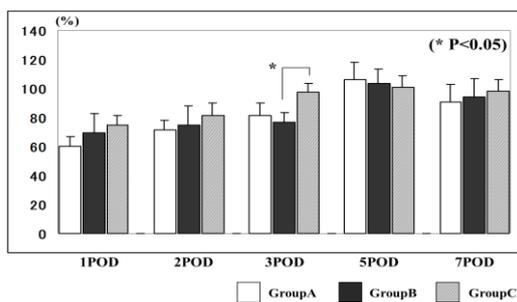
PCNA labeling index in the congestive area in the liver with hepatic venous congestion



Mitotic Index in congestive area



Regeneration rate of the remnant liver weight

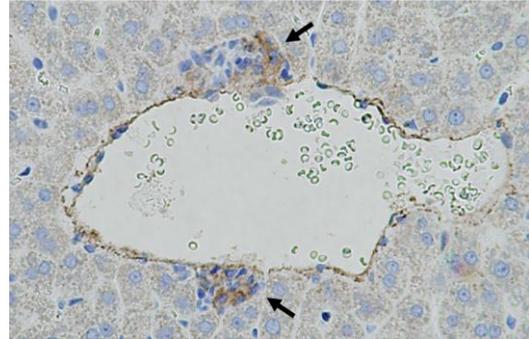


Wister 雄性ラットを使用して 60%肝切除を施行して、GroupA:60%肝切除群、GroupB:60%肝切除+うっ血群、GroupC:60%肝切除+うっ血に G-CSF 術前投与群の 3 群で比較検討して、うっ血を伴った肝切除でも G-CSF の術前投与で有

意 ($p < 0.05$) に肝再生が改善されることを確認した。

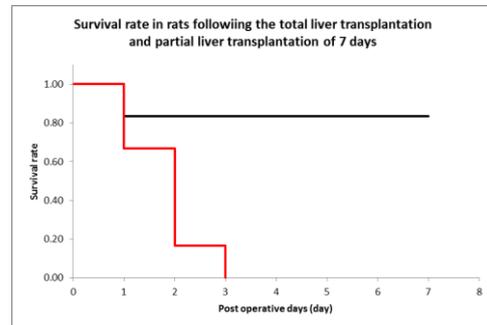
血液生化学検査としては、AST、ALT、T-Bil を測定したが、経時的に観察しても 3 群間で有意差を認めなかった。ただし G-CSF 投与群にのみ肝切除の際に CD34 陽性細胞の集塊が確認された。

The colony of CD34 positive cells in the liver



(2) 全肝移植

1973 年に報告された Lee らの手技に準じて、ラット間同所性肝移植(カフ法)を施行した。



全肝移植では生存を得ることができるようになった。しかし、生体間部分肝移植を施行すると 3 日目までに全例死亡が確認された。

そのため、現在は全肝移植モデルでの 100% の生存率を得るための手技の改良を重ねつつ、部分肝移植モデルの作成を継続しているところであるが成果は得られていない。

(3) 大動物であるブタ (porcine) の取り扱いに習熟するべく、他県に赴きブタの手術の研修や、ブタの全身麻酔方法 (全身麻酔導入、気管内挿管、全身麻酔管理) の手技を習得する研修をおこなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ①Kimura M, Yamada T, Iwata H, Sekino T, Shirahashi K, Yoshida N, Kiyama S, Takemura H. Preoperative granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) treatment improves congested liver regeneration. J Surg Res. 査読有, 158(1), 2010, 132-137.

[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)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村 真樹 (KIMURA MASAKI)

岐阜大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20422727

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：