

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月15日現在

機関番号：12301
研究種目：挑戦的萌芽研究
研究期間：2011～2012
課題番号：23659636
研究課題名（和文） 有茎腸管グラフト内肝組織片移植法を発展させた生体内人工補助肝臓の
開発
研究課題名（英文） Development of an auxiliary liver using a small intestinal segment
packed together with liver microfragments and greater omentum
研究代表者
小暮 公孝（KOGURE KIMITAKA）
群馬大学・生体調節研究所・研究員
研究者番号：20125850

研究成果の概要（和文）：本研究では既に基本術式を確立してあった腸管グラフト内肝組織片充填式補助肝臓（原法）に様々な改良を加えて有効な体内型補助肝臓の開発を目指した。原法では術30日後には充填した肝組織片はその殆どが壊死、融解に陥ってしまったが、本研究ではグラフト内の肝組織片に血流を付加するために大網と肝組織片を共充填するという工夫を行った結果、原法では完全に壊死に陥ってしまった肝組織片が充填90日後でも部分的に遺残していて、組織学的にも肝の細胞索構造が維持されているという成果が得られた。本法は有効な補助肝臓開発につながる可能性を示すものと考えられた

研究成果の概要（英文）：This study was conducted to improve the survival of the auxiliary liver using a small intestinal segment packed with liver microfragments by co-insertion of greater omentum. The engrafted liver microfragments were reorganized in the segmental intestine and exhibited an almost normal hepatic architecture even after the 60 or 90 days although these became completely necrotic when these were grafted without greater omentum. This method showed the possibility to develop an effective auxiliary liver.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：再生医学

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：有茎分節腸管、肝組織移植、肝細胞移植、補助肝臓、肝不全、肝移植

1. 研究開始当初の背景

同所性全肝移植、あるいは生体部分肝移植は、現在のところ、肝不全を治療するのに最も効果的な方法である。しかし、ドナー不足の現状は相変わらず続いており、何らかの補助肝臓の開発が求められている。実験的には採取した肝細胞を様々な部位に移植して補助肝臓の働きを担わせる研究が行われてきているが肝不全患者の肝機能を十分に補填するところまでは至っていない。近年、Guputa 等はラットの有茎分節腸管内にミンチした肝組織を充填するという画期的な補助肝臓の作成法を報告した*。本法は肝細胞移植に比較してより大量の肝組織片を移植できる利点があり、また、移植された肝組織片は肝の基本構造を再構成して増殖し、移植後42日後も viable な状態を維持していたとされる。我々も Guputa 等の方法に従い有茎分節腸管内に肝組織片を充填して補助肝臓の作成を試みたが、充填した肝組織片は移植後10日前後までは順調に増殖するが、それ以降は次第に壊死融解する部分が増してくることが確認されている。これは増殖、増大した肝組織片を維持することの出来る血流が十分に補填されなかったことに起因するものと考えられた。本法に対し様々な改良を加えて移植片の生着延長を計ることができれば有効な補助肝臓の作成が期待できる。

* Nat. Med. 2004;10(7):749-753.

2. 研究の目的

大網は太い胃大網動静脈により栄養されており、従来から食道胃管吻合部や気管支形成部などに大網をあてがい、死腔の発生あるいは虚血による縫合不全の発生を予防するのに用いられてきた。本研究ではこの血流の豊

富な大網を肝組織片と共に腸管グラフト内に共充填して有茎分節腸管内に充填した肝組織片への血流を増やすことにより腸管グラフト内の肝組織片の増大とその生着延長を試みた。

3. 研究の方法

雄性ウイスター系ラットを用いた。長さ2-3cm 空腸を上腸間膜動静脈枝を付けたまま遊離し、その粘膜を剥いでおく。同一ラットの肝左葉を摘出しメスでミンチする。大網の先端を腸管グラフトに引き込み腸管グラフト端に固定する。ミンチした肝組織片を腸管グラフト内に充填しグラフトを閉鎖する。術後、20日以上経ってから犠牲死させ組織学的に検討する(図1)。

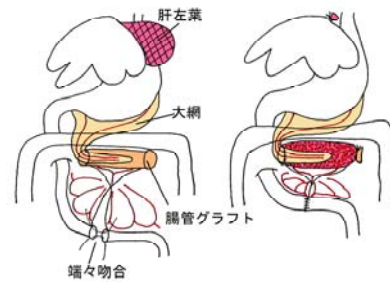


図1

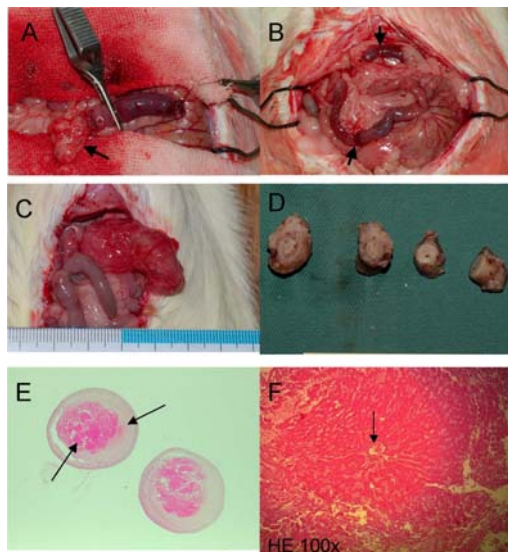
4. 研究成果

Guputa 等による有茎分節腸管内にミンチした肝組織片を充填して補助肝臓を作成する原法に対して、新たに大網を肝組織片と共に共充填することで肝組織移植片への血流を補助した結果、予想通り充填した肝組織片の増大と生着の延長が認められた。

以下、典型例を提示する。

4-1. 有茎分節腸管内肝組織片大網共充填後25日例(図2)

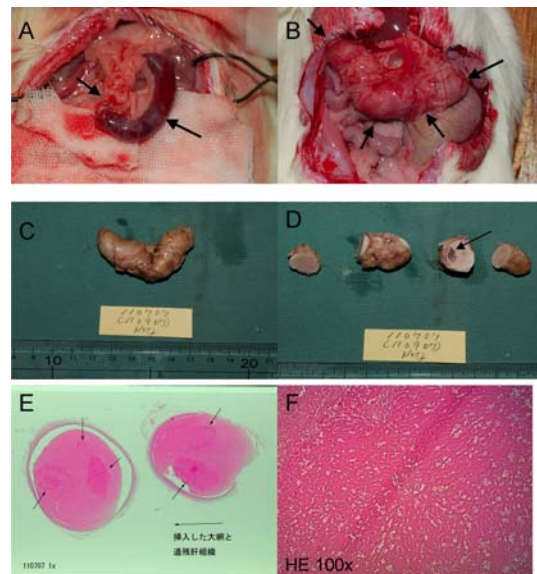
原法では充填肝組織片の一部が壊死におちいってしまう 25 日後でも充填した肝組織片には壊死部分が全く認められなかった。



図説名：A: 腸管グラフトに大網を充填（矢印）した後、大網が脱出しないようにブルドッグ鉗子をかけて肝組織片を充填する。B: 大網、肝組織片を共充填した腸管グラフト（矢印）と遺残空腸の端々吻合（矢印）。C: 術後 25 日目の肝組織片大網を共充填した腸管グラフト。腫大したグラフト周囲に血管が増生している。D: フォルマリン固定後のグラフト断面。内腔には肌色をした肝組織が充満し壊死組織は認められない。E: 断面のルーペ像、中心の好酸性の部分が充填肝組織片（矢印）、周囲の淡く染まっている部分は共充填した大網（矢印）。HE 1x. F: 中心静脈を思わせる管腔（矢印）に向かって肝細胞板と類洞を思わせる細かな管腔が収斂している。HE 100x.

4-2. 有茎分節腸管内肝組織片大網共充填後 60 日例（図 3）

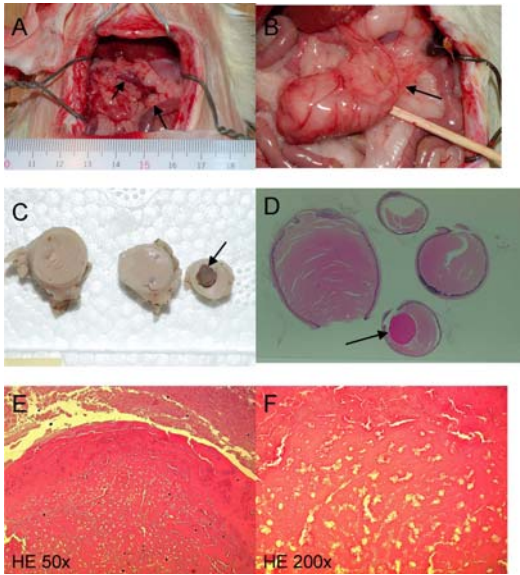
原法では充填した肝組織片の殆どが壊死におちいってしまう 60 日後でも部分的に充填肝組織片の生着が認められた。



図説名：A: 大網（矢印）と肝組織片を共充填した腸管グラフト（矢印）。B: 大きく腫大した腸管グラフト（矢印）。周囲に血管が増生している。C: フォルマリン固定後の腸管グラフト。D: フォルマリン固定後の腸管グラフトの断面。肌色の壊死部分と茶褐色の遺残肝組織（矢印）。E: 断面のルーペ像。強好酸性の部分が遺残充填肝組織片（矢印）、共充填した大網（矢印）。弱好酸性の部分は壊死部分。HE 1x. F: 中心静脈を思わせる管腔は認められないものの肝細胞板と類洞を思わせる細かな管腔が中心に向かって収斂している。HE 100x.

4-3. 有茎分節腸管内肝組織片大網共充填後 90 日例（図 4）

原法では充填肝組織片が完全に壊死におちいってしまう 90 日後でも部分的に充填肝組織片の生着が認められた。



図説名：A:大網（矢印）と肝組織片を共充填した腸管グラフト（矢印）。本例では腸管グラフトの左側から大網を充填してある。B:周囲に血管が増生し大きく腫大した腸管グラフト。矢印は左側に充填した大網。C:ホルマリン固定後の腸管グラフトの断面。肌色の壊死部分と茶褐色の遺残肝組織（矢印）。D:断面のルーペ像。強好酸性の部分が遺残充填肝組織（矢印）。HE 1x. E:遺残組織の組織像。周囲を層状の組織が囲み内部に多数の不整形の管状構造が散在している。HE 50x. F:多数の不整形の管状構造は互いに連絡しているが中心静脈を思わせる管腔は認められない。細かな管腔が中心に向かって収斂しているように見える。HE 200x.

4-4. 結語

有茎腸管グラフト内に肝組織片とともに大網を共充填することで充填肝組織片の増大と生着延長が認められた。これは大網による有茎腸管と充填肝組織片に対する血流補助効果によるものと考えられた。

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）

①小暮公孝、石崎政利、根本雅明、桑野博行、小島 至、磯村寛樹、星野洪郎、幕内雅敏、有茎分節腸管内肝組織片充填式補助肝臓の開発—第1報、北関東医学、査読有、vol. 63, No2, 2013, pp133-140.

〔学会発表〕（計3件）

①小暮公孝、小島 至、久保憲生、新木健一郎、持田 泰、鈴木秀樹、桑野博行、磯村寛樹、星野洪郎、幕内雅敏、門脈血流を考慮した肝組織片充填有茎小腸グラフトの開発、Development of the small intestinal graft filled with the liver tissue in consideration of portal venous blood flow. 第113回日本外科学会総会、2013.4.11-13、福岡国際会議場（福岡市）

②小暮公孝、小島 至、石崎政利、根本雅明、和田 涉、鈴木秀樹、桑野博行、依藤 宏、松崎利行、幕内雅敏、Appendix fibrosa hepatitis（肝線維性付属物）の肉眼的、組織学的検討、第67回日本消化器外科学会、2012.7.18-20、富山国際会議場（富山市）

③小暮公孝、小島 至、久保憲生、新木健一郎、佐々木 滋、鈴木秀樹、桑野博行、ホク・エスケー・アリフル、星野洪郎、幕内雅敏、大網を利用した肝組織片充填有茎小腸グラフトの驚異的増殖法の開発、Simultaneous insertion of the great omentum accelerates the growth of the intestinal graft packed with liver tissue. 第112回日本外科学会総会、2012.4.12-14、幕張メッセ（千葉市）

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小暮 公孝 (KOGURE KIMITAKA)

群馬大学・生体調節研究所・研究員

研究者番号：20125850

(2) 研究分担者

小島 至 (KOJIMA ITARU)

群馬大学・生体調節研究所・教授

研究者番号：60143492

星野 洪郎 (HOSHINO HIROO)

群馬大学・名誉教授

研究者番号：00107434

(3) 連携研究者

無し