

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461865

研究課題名(和文)ウサギ脂肪肝モデルを用いた門脈塞栓術の検討

研究課題名(英文) Experimental study of selective portal vein embolization for nonalcoholic steatohepatitis in rabbit model

研究代表者

林 完勇 (hayashi, sadao)

鹿児島大学・医歯学域附属病院・助教

研究者番号：10549918

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：門脈塞栓後、脂肪肝モデルにおいては非塞栓葉において正常肝との比較において類同拡張が優位に増悪することが示された $P=0.008$ 。非塞栓葉と塞栓葉の比較では繊維化を示唆するSMAの沈着が脂肪肝モデル、正常肝モデルいずれにおいても認めており、塞栓による炎症からの繊維化が示唆されたと考えられた。

以上より、脂肪肝症例における門脈塞栓の肝障害が高度に生じている可能性が示唆された。特に、門脈塞栓後の sinusoid obstruction syndromeの原因の一つに脂肪肝などもその原因のひとつとなっている可能性も示唆された。

研究成果の概要(英文)：After portal embolization, sinusoidal obstruction grade was significantly worsen in remnant liver lobe of rabbit NAFLD model. SMA staining area was significantly larger in each remnant liver lobe compared with normal control liver and NAFLD control liver, which means Portal vein embolization(PVE) induced the fibrotic change in not only embolized liver lobe and remnant lobe.

These findings suggest that PVE induce the liver damage in remnant lobe, particular in fatty change liver, it was considered that fatty change and PVE induce sinusoid obstruction. We think sinusoid obstruction and liver fibrosis in future remnant liver would be the risk of unexpected fatal liver damage cannot be excluded in the patients with NAFLD after PVE.

研究分野：IVR

キーワード：門脈塞栓術 脂肪肝

## 1. 研究開始当初の背景

1990年の幕内らの報告以降、門脈塞栓術は残肝容積を拡大し、肝切除を可能とする目的に広く拡大肝切除に際して使用されている。申請者らは2007年に塞栓葉における腫瘍の増大速度が塞栓術の前後で加速することを示している(Hayashi et al. Acta radiol 2007)。このことから、門脈塞栓を施行する際には塞栓前後の十分な肝容積の増大が期待される症例を選択する必要がある、選択が不十分であれば手術以外での治療介入の遅延を招くことで予後の悪化をまねく可能性もあることから慎重な適応が要される。

昨今は肝転移についても、切除することで予後が改善することが知られており、原発性肝がんのみならず転移性肝がんに対しても門脈塞栓術の適応は拡大の方向にあるが、十分に肝予備能があるとおもわれた症例の中で門脈塞栓術を施行することで予想以上の肝障害ましてや肝不全を発症する例が存在することも事実である。特に、肝転移症例の肝切除症例においては術前化学療法を施行された症例が多く存在しており、化学療法に伴う脂肪肝が肝切除において問題となっているが、同様に今後門脈塞栓術においても問題となると思われる。

実臨床における実際の塞栓術では、術前の採血データでは十分な肝予備能があると評価された脂肪肝症例の中で、一部で特に強い肝障害が発生し、中には肝不全を発症するなどの症例を経験する。脂肪肝の原因として化学療法などを指摘した論文はあるものの、その原因を明らかにした報告はこれまでのところなかった。

## 2. 研究の目的

以上の背景から、研究者らは脂肪肝症例において門脈塞栓術が正常肝に比較して肝障害

を増悪している可能性を仮説した。

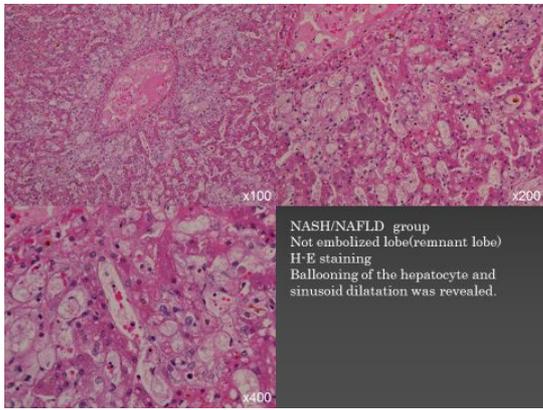
本研究は、ウサギの脂肪肝モデルを用いて脂肪肝における門脈塞栓術の影響の評価と、門脈塞栓術の最適化についての基礎研究を行うこととした。

## 3. 研究の方法

高脂肪食(標準食餌+10%Lard+2%コレステロール)を4週間食餌として投与したウサギ脂肪肝モデルを作成した。ドミトールとケタミンにて麻酔を行い、開腹下にて回結腸静脈を露出した。脂肪肝モデルと正常肝モデルに対して門脈塞栓術を行い、正常肝と脂肪肝のコントロール群と比較することで、その影響を病理学的に評価した。評価においてはHE染色の他、SMA, CD31, MIB1, HSPなどの免疫染色を評価した。

## 4. 研究成果

脂肪肝モデルにおいてはNASH grade, NASH scoreがいずれも正常肝モデルに比較して増悪しており、脂肪肝モデルが作成されていた。門脈塞栓後、非塞栓葉においてはSMAの沈着を多く認め、塞栓後の塞栓葉の繊維化が脂肪肝モデルにおいても正常肝モデルにおいても生じていることが示され、塞栓葉のみならず、非塞栓葉においても門脈塞栓の炎症に伴う繊維化が起こっていることが示され、同時に塞栓後の繊維化が予想された塞栓葉よりも非塞栓葉に多く存在することが示された。



Heat shock protein が非塞栓葉に多く発現することが過去の論文でしめされていることから本研究でも評価を行った (hepatogastroenterology 2003;50 2084-7)。本研究では Heat shock protein の有意な発現は塞栓と非塞栓葉との比較においても脂肪肝と正常肝との比較においてもみられなかった。また、我々の研究からは脂肪肝モデルにおいては非塞栓葉における sinusoid obstruction grading により類洞障害が強くなっていることを示すことが研究結果から示唆された。

類洞障害が肝再生を障害、また術後肝不全を生じる原因となっていることは過去の論文でもしめされており、本研究はそれらをうらづけるものと考えられた。

一方で脂肪肝症例の非塞栓葉において CD31 の発現を多く認めていた。これは脂肪肝において繊維化の進行がある上に脂肪肝における非塞栓葉と塞栓葉の間で有意に CD31 が発現していたことから類洞生涯の発生している脂肪肝でさらに非塞栓葉での血流の増加が血管新生を助長している可能性が考えられた。

### Normal vs NAFLD liver

		normal liver	NASH liver	
in remnant lobe	NASH stage	1.00±0.00	1.83±0.41	0.005
	NASH grade	1.00±0.00	1.83±0.41	0.005
	HSP	3.33±8.17	1.67±4.08	0.902
	SOS	0.33±0.52	1.33±0.52	0.014
	CD31	0.98±0.71	6.34±4.20	0.010
	SMA	7.73±2.09	12.42±2.66	0.016
	MIB1	15.32±8.05	10.72±5.07	0.262
in embolized lobe	NASH stage	1.00±0.00	2.33±0.52	0.002
	NASH grade	1.00±0.00	2.83±0.41	0.001
	HSP	13.33±12.11	4.17±3.76	0.216
	SOS	1.50±1.05	1.50±0.55	1.0
	CD31	0.73±0.74	2.79±1.65	0.016
	SMA	12.19±4.62	24.31±6.31	0.01
	MIB1	8.67±7.00	12.63±8.37	0.262

Mean ± SD *Man whitney* test P<0.05  
Department of Radiology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Science

### Remnant lobe vs embolized lobe

	Normal diet group			NAFLD (fat diet) group		
	Remnant lobe	Embolized lobe	P value	Remnant lobe	Embolized lobe	P value
NASH stage	1.00±0.00	1.00±0.00	1	NASH stage 1.83±0.41	2.33±0.52	0.83
NASH grade	1.00±0.00	1.00±0.00	1	NASH grade 1.83±0.41	2.83±0.41	0.034
HSP	3.33±8.17	13.33±12.11	0.11	HSP 1.67±4.08	4.17±3.76	0.26
SOG	0.33±0.52	1.50±1.05	0.10	SOG 1.33±0.52	1.50±0.55	0.32
CD31	0.98±0.71	0.73±0.74	0.46	CD31 6.34±4.20	2.79±1.65	0.046
SMA	7.73±2.09	12.19±4.62	0.046	SMA 12.42±2.66	24.31±6.31	0.028
MIB1	15.32±8.05	8.67±7.00	0.12	MIB1 10.72±5.07	12.63±8.37	0.6

Mean ± SD *Wilcoxon* signed-rank test P<0.05  
Department of Radiology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Science

### Normal, NAFLD remnant lobe vs each control

Normal liver	Remnant vs control			NASH/NAFLD liver	Remnant vs control		
	Remnant lobe	Normal control	P value		Remnant lobe	NAFLD control	P value
NASH stage	1.00±0.00	1.00±0.00	1	NASH stage 1.83±0.41	2.00±0.00	0.28	
NASH grade	1.00±0.00	1.00±0.00	1	NASH grade 1.83±0.41	2.00±0.00	0.28	
HSP	3.33±8.17	0±0	0.32	HSP 1.67±4.08	1.43±2.44	0.77	
SOG	0.33±0.52	0±0	0.14	SOG 1.33±0.52	0.29±0.49	0.008	
CD31	0.98±0.71	1.34±0.70	0.34	CD31 6.34±4.20	4.80±2.96	0.48	
SMA	7.73±2.09	1.67±0.50	0.04	SMA 12.42±2.66	6.75±1.72	0.04	
MIB1	15.32±8.05	7.26±5.92	0.08	MIB1 10.72±5.07	11.15±3.07	0.87	

Mean ± SD *Man whitney* test P<0.05  
Department of Radiology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Science

Normal liver	NAFLD		1	2	3		
	Remnant lobe	Normal control				Remnant lobe	NAFLD control
NASH stage	1.00±0.00	1.00±0.00	1.83±0.41	2.00±0.00	0	0	0.02
NASH grade	1.00±0.00	1.00±0.00	1.83±0.41	2.00±0.00	0	0	0.02
HSP	3.33±8.17	0±0	1.67±4.08	1.43±2.44	0.648		
SOG	0.33±0.52	0±0	1.33±0.52	0.29±0.49	0.03	0.51	0.04
CD31	0.98±0.71	1.34±0.70	6.34±4.20	4.80±2.96	0.01	0.02	0.03
SMA	7.73±2.09	1.67±0.50	12.42±2.66	6.75±1.72	0.00	0.02	0.03
MIB1	15.32±8.05	7.26±5.92	10.72±5.07	11.15±3.07	0.21		

1:Kruskal-Wallis test was used to compare the 4 category. 2,3: Two pairwise comparison were carried out using Man whitney U test. To control the significance level of 5%, the adjusted p-values according to the Shaffer method were used. 2:normal control vs NASH/NAFLD control 3: normal remnant liver vs NASH/NAFLD remnant liver P<0.05  
Department of Radiology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Science

上記の結果から脂肪肝における門脈塞栓が非塞栓葉における類洞障害を増悪している

ことが示されたことより、脂肪肝症例への門脈塞栓の危険性を示すことができたと考えている。

この結果を元に、さらに脂肪肝 grade に応じた門脈塞栓の影響評価を検討したが、脂肪肝モデル内での食餌の変更による軽度脂肪肝および重症脂肪肝モデルの層別化の安定的な作成は困難であった。また、塞栓物質の変更なども検討されたが、塞栓物質の差異による障害度の違いなどは特に示すことはできなかった。これより、脂肪肝モデルにおける門脈塞栓術の功罪については示すことができたと思われるが、その改善策についての研究を進めることができなかった。

#### 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 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)

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

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者  
林 完勇 (HAYASHI, Sadao)  
鹿児島大学 医歯学域附属病院・助教  
研究者番号：10549918

(2)研究分担者  
東 美智代 (HIGASHI, Michiyo)  
鹿児島大学 医歯学域医学系・准教授  
研究者番号：60315405

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：

(4)研究協力者  
( )