

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861254

研究課題名(和文)肝切除術臓器障害改善の試み

研究課題名(英文)An attempt to improve liver disorder after hepatectomy

研究代表者

濱崎 真一 (HAMASAKI, Shinichi)

近畿大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60642890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：プリングル法として知られている間欠的な肝血流の閉塞は、肝部分切除の術中出血を制御し安全性を高めるために行われる。しかし、長時間の虚血は遅発性肝障害を引き起こし、再生障害に關与している。申請者らは、脳卒中モデルラットで、voluntary exercise (VE) が生存率と脳神経再生を誘導するという知見を得た。運動が肝臓切除術の成績向上を促すことが知られており、VEが生存率と肝臓再生を誘導するかを検討した。肝再生は、切除後3日で約60%の増加がみられた。Sed群とVE群で肝再生率に有意な差は見られなかった。現時点で差は見られないが、今後VE群での長期予後や生存率なども検討していく。

研究成果の概要(英文)：Intermittent hepatic blood flow obstruction, known as the Plingle method, is performed to control the intraoperative bleeding during partial hepatectomy and to increase safety. However, long-term ischemia causes delayed liver injury and is involved in regenerative disorders. The authors obtained the finding that voluntary exercise (VE) induces survival rate and cranial nerve regeneration in rats with stroke. Exercise is known to promote improvement of liver resection surgery, and it was examined whether VE induces survival rate and liver regeneration. Liver regeneration increased by approximately 60% 3 days after resection. There was no significant difference in liver regeneration rate between Sed group and VE group. Although there is no difference at the present time, we are investigating whether improvement of long-term prognosis and survival rate in the VE group is expected.

研究分野：集中治療

キーワード：肝臓切除 voluntary exercise 再生障害 肝虚血

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 肝部分切除は、原発性および転移性肝臓腫瘍を治療するための一つのアプローチである。プリングル法として知られている間欠的な肝血流の閉塞は、肝部分切除の術中出血を制御し、安全性を高めるために行われている。しかし、長期の虚血は遅発性肝障害に関与している。実験的研究による肝部分切除での 30-90 分の肝虚血は術後の肝機能障害につながり、肝再生を抑制する。さらに、肝臓切除症例は、糖尿病、高血圧、動脈硬化症、虚血性心疾患などの生活習慣病を合併する割合が高く、術後の肝機能障害が起こりやすくなる。近年、慢性炎症の原因因子は、damage associated molecular pattern molecules (DAMPs) であると考えられている (Immunological Reviews 2012, 249: 158-75)。生活習慣病は慢性炎症であり、DAMPs が重要な役割を果たしている。DAMPs は、虚血後再還流後の肝機能や再生に関与していると考えられているが、その役割は未だに不明な点がある。

(2) DAMPs で最も研究されている HMGB1 は、本来核内で DNA の修復などに役割を果たしているが、壊死組織や刺激を受けたマクロファージから放出され、サイトカイン様に作用して、炎症反応誘導効果を持つ。HMGB1 を標的とした治療法確立の研究が活発である。申請者らは、生活習慣病の動脈硬化症 (Kanellakis, Takahashi, et al. Arterioscl Throm Vas. 2011) や脳梗塞 (Liu, Takahashi, et al. FASEB J. 2007) で、HMGB1 が組織障害を誘導し、病態形成することを見出した。一方、近年、HMGB1 の組織修復誘導作用が報告された (Clin Cancer Res 2007;13:2836-48)。

(3) 運動が肝臓切除術の成績向上を促すことが知られている。申請者らは、脳卒中モデルラットで、voluntary exercise (VE) が生存率と脳神経再生を誘導し、その機序に

HMGB1 が関与するという知見を得た。

## 2. 研究の目的

国内外における研究では、肝臓切除術後の肝臓再生誘導機序は未だ不明な点が多い。HMGB1 が再生誘導因子であるといわれているが、肝臓切除術後の再生と肝機能への関与は解明されていない。再生機序を解明するための再生活性増進モデル動物は未だ開発されていない。我々は、予備研究で肝臓の温阻血再灌流 + 肝切除の動物モデルにおいて、HMGB1 が肝細胞から放出され、温虚血再灌流による肝機能障害の増悪因子として働くと共に、修復過程においては肝再生への関与を示唆する結果を得た。さらに、HMGB1 の肝機能や再生における役割を明らかにする必要がある。これまでの予備実験から、VE により肝再生を促進し、HMGB1 が関与すると考えた。肝再生誘導効果の誘因を明らかにし、VE が困難である状態の悪い症例にも対応できることを目標とする。

## 3. 研究の方法

(1) 動物実験モデルでは、肝臓切除術直後に臓器障害がみられる。肝臓の虚血再灌流 + 肝切除は、Wister ラット 12 週齢の時点で、肝臓を 20-30 分虚血し、70% 肝切除 (右葉と尾状葉を残す) 後、再灌流を行う。HMGB-1 の臓器障害への関与を、リコンビナント体 HMGB-1 と抗 HMGB-1 抗体を投与して検討する。また、HMGB-1 による臓器障害が、臓器再生に及ぼす影響を検討する。両群における、HMGB-1 による再生誘導を、リコンビナント体 HMGB-1 と抗 HMGB-1 抗体で検討する。

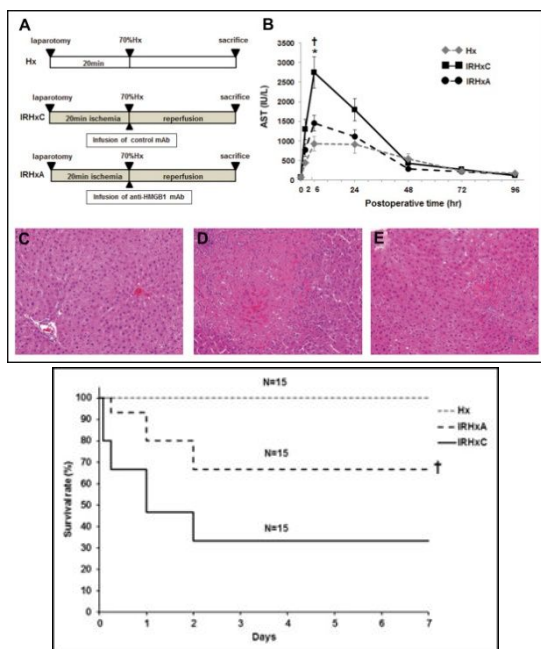
(2) VE は脳卒中モデルラットを使用する。生後 5 週齢から 12 週齢までローターを用いて、VE をさせる。VE が生存率と臓器再生を誘導するか確認する。

(3) VE は脳卒中モデルラットと Wister ラットを使用する。肝臓切除術前から VE を

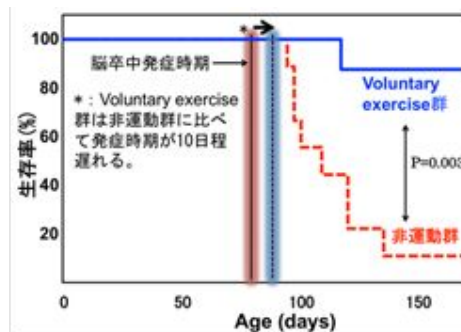
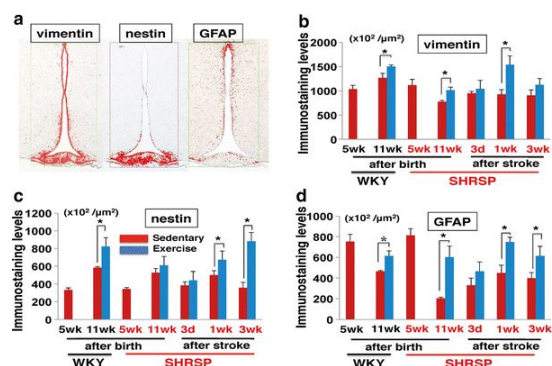
行い、温阻血再灌流 + 肝切除術後に、肝障害を抑制し、活発な肝再生を誘導することを証明する。ローターを用いた VE 群と非運動群ラットに分けて、肝臓の虚血再灌流 + 肝切除を行い、生存率と肝組織の変化を検討する。VE 群ラットにおける生存率と肝組織の変化への HMGB-1 関与を検討する。

#### 4. 研究成果

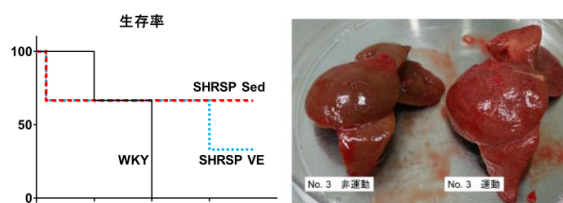
(1) 虚血再灌流障害を伴った肝切除ラットに対する抗 HMGB1 抗体投与の効果を確認した。抗 HMGB1 抗体投与によりラットの虚血再灌流障害は改善し、虚血再灌流後の肝再生の改善、生存率の改善がみられた。



(2) VE により脳卒中ラットの生存率の改善がみられた。また、視床下部の神経成熟・再生、骨髄機能の改善をすることが分かった。



(3) 肝再生は、切除後 3 日で約 60% の増加がみられた。Sed 群と VE 群で肝再生率に有意な差は見られなかった。WKY と SHRSP の比較では、SHRSP の肝再生がより増加した。現時点では、術後 3 日の短期間では差が見られない。虚血再灌流 + 肝切除ラットでは、肝肥大やリモデリングがみられ、その後、肝前駆細胞や肝芽細胞による肝臓再生が起こると考えられる。今後、術後 3 日以降の肝臓の質的变化、肝臓再生に差がないか、VE 群での長期予後や生存率など検討していく。



脳卒中モデルラットである SHRSP ラットの肝臓は、脂肪肝になりやすいが線維化や肝硬変への進行は起こりにくい。また、肝臓での炎症は生じにくく、肝臓が 20~30% 残っていれば、生存できるといわれている。ラットの肝臓は、再生しやすいことから再生率の差は出にくい。しかし、脳卒中モデルラットで VE が生存率と脳神経再生を誘導していることから、他臓器の再生や予後改善の効果が期待できると考えられ、今回 SHRSP も使用した。今後、肝前駆細胞や肝芽細胞による肝臓再生に関する実験も検討していきたい。

#### 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 7 件)

Niwa A, Nishibori M, Hamasaki S, Kobori T, Liu K, Wake H, Mori S, Yoshino T, Takahashi H.、 Voluntary exercise induces neurogenesis in the hypothalamus and ependymal lining of the third ventricle.、 Brain Structure and Function、 査読有、 221(3)、 2016、 1653-66

DOI: 10.1007/s00429-015-0995-x

Fuyuta M, Nakao S, Kitaura A, Iwamoto T, Hamasaki S, Iwasaki S, Kurita T.、 Preoperative Prevalence of J-Wave Syndrome Electrocardiographic Patterns and Their Association With Perioperative Cardiac Events.、 J Cardiothorac Vasc Anesth、 査読有、 29(6)、 2015、 1533-6

DOI: 10.1053/j.jvca.2015.07.003

〔学会発表〕(計 20 件)

濱崎 真一、終末糖化産物 (AGEs) はマクロファージによる血管内皮細胞の管腔形成を促進する、第 89 回日本薬理学会年会、2016/3/11、パシフィコ横浜 (神奈川)

濱崎 真一、HMGB1 によるヒスタミン誘導性免疫応答調節効果、第 125 回日本薬理学会近畿部会、2014/6/20、岡山コンベンションセンター (岡山)

〔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

近畿大学医学部 麻酔科学講座

<http://www.med.kindai.ac.jp/anes/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

濱崎 真一 (HAMASAKI, Shinichi)

近畿大学・医学部附属病院・助教

研究者番号： 60642890

### (2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者 なし