

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 27 日現在

機関番号：87301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592002

研究課題名(和文) 脂肪性肝炎における肝再生能、組織修復能の解明

研究課題名(英文) The ability of tissue repair and regeneration in steatohepatic liver

研究代表者

蒲原 行雄 (Kamohara, Yukio)

独立行政法人国立病院機構(長崎医療センター臨床研究センター)・その他部局等・その他

研究者番号：50325643

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：非アルコール性脂肪性肝炎[Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH)]における外科的切除施行症例を用いて肝修復能および再生能を検討した。脂肪含有の高い症例は術後肝障害が生じやすいが再生率は脂肪の少ない症例と同等であった。またNASHを背景に有する症例は血中のアポトーシス関連因子である細胞骨格フラグメントが他疾患より高く、背景肝の細胞死が生じやすい環境にあることが推定された。したがってNASH症例に対する肝切除は細胞死活性の高い背景であることを考慮し切除範囲の縮小や侵襲の低減を講じる必要がある。

研究成果の概要(英文)：We investigated an ability of tissue repair and regeneration in HCC-patients with Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH). In NASH patients with more lipid droplet, postoperative liver dysfunction was increased, but not influenced liver regeneration after liver resection. In those patients, blood cyokeratin fragments (M30, M65) were higher than other viral and alcoholic liver disease, suggesting fragility of background liver status. Thus, in NASH liver resection, severe surgical stress including extended resection should be avoided.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：消化器外科

キーワード：脂肪性肝炎 術後肝障害 細胞死

1. 研究開始当初の背景

アルコール多飲が原因ではないいわゆる単純性脂肪肝の中には好中球やマクロファージなどの細胞浸潤による肝炎が誘導され、それが慢性化し、線維化が進展して肝硬変、さらには肝癌へ至る病態が含まれることが明らかとなり、“非アルコール性脂肪性肝炎 [Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH)]”という疾患概念が確立された。現在、主として症状の早期発見及び進展阻止という観点から、本疾患に関する研究は行なわれている。一方、非ウイルス性肝疾患を起因とする肝細胞癌(非B非C型肝炎細胞癌)は徐々に増加しており、NASHからの発癌もこの主たる要因の一つである。肝細胞癌治療の研究も推進すべき極めて重要な問題である。

非B非C型肝炎細胞癌における肝の潜在的再性能はウイルス性肝疾患におけるそれより良好であることが多く、切除や局所治療などにおいて拡大治療が施行可能であると考えられている。非B非C型肝炎細胞癌のうち原因の明確なアルコール性肝障害や自己免疫疾患の場合は背景肝の状態がよく評価されているが、それ以外のNASH(あるいは非アルコール性脂肪性肝障害; NAFLD)を背景に有する肝臓に侵襲的治療を施した場合、どのように生体が反応するのか、また、肝臓の再生能にどのような影響を与えるのかなどに関する情報はきわめて少ない。

現在、肝細胞癌の最も有効な治療法は癌部の切除であり、治療法の選択は腫瘍の状況と肝予備能評価によって決定される(肝癌診療ガイドライン)。しかし、これまで採用されて来た評価法は肝炎ウイルスベースで作られたものでありNASHを発症した肝臓の予備能評価する時、従来からの評価法を適応することで良いのかどうか疑問が残る。この傍証として、高度脂肪肝は肝移植のドナー肝として機能的に適切でないことが示唆されていることやNASH肝大量切除後の肝不全の報告が散見されるからである。本研究は今後到来するであろうNASH時代に応じた再生能評価の確立が急務と考えら着手した。

2. 研究の目的

本研究ではNASHを背景有する肝臓の外科的侵襲への反応の特性を調べ、肝切除時の注意点および耐術性の限界点を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

臨床症例の解析と分担研究者である河田らのNASHの特徴に極めて近似している動物モデルを用いた切除実験を計画した。

1) 臨床研究

対象と方法; 臨床結果の解析に同意を得た肝切除症例210症例。本解析は長崎医療センター倫理審査委員会からも承認を得てい

る。

検討項目は背景因子(性別、年齢、ウイルス/NASH)術前・術後の肝機能因子の推移(一般肝機能、ビリルビン値、アルブミン値、PT活性、CRP)手術因子(出血量、手術時間、切除範囲、阻血時間)術後合併症、術後3カ月以内の残存肝再生率(1区域切除以上の症例を対象)摘出肝組織内の過酸化脂質(LPO)および血中IL-6、アポトーシス関連因子(M30, M65)をELISAにて測定した。統計評価はStat Mate(ATMS, Japan), JMP11(SAS, USA)を用い5%未満を有意差ありと判定した。

2) 動物実験

対象と方法; ウサギNASHモデルを全身麻酔後に70%肝切除を行い周術期の肝機能変化と残肝の組織学的構築の変化を検討した。

4. 研究成果

臨床研究の成果

1) 背景肝の脂肪化と成因

背景肝の脂肪化はウイルス、非ウイルスによらず一定頻度(20%)で観察され、生活習慣とウイルスの作用(糖尿病など)の両者の介在が示唆された。また、ウイルス感染例では血小板値低下(10万未満)が有意に多く肝硬変も多い傾向にあった。

2) 脂肪化含有量と肝切除周術期の変化

背景肝に肝硬変なく脂肪化を有する脂肪化群(n=64)と非脂肪化群(n=44)を脂肪化の程度(組織学的脂肪含有細胞10%以上20%未満、20%以上30%未満、30%以上)と背景因子、肝機能因子の推移、手術因子について比較検討したところ術後肝逸脱酵素(AST, ALT)の上昇が脂肪化症例で切除範囲や阻血時間によらず有意に多かった(AST/ALT 200IU/L以上86%)。特に脂肪化30%超の症例では小範囲切除であっても逸脱酵素は高値をとる傾向を示した(30%以上を示した6症例で区域未満切除時のALT最高値846IU/L)。一方、炎症反応等の推移は差を認めなかった。30%以上の脂肪化は非ウイルス疾患に多い傾向を示した。このことから脂肪化含有量の多い症例は切除範囲以外にも手術侵襲で肝障害を惹起しうる可能性が示唆された。

3) 背景肝(切除時)の過酸化脂質と周術期炎症性サイトカインの変動

背景肝の過酸化脂質は肝組織の脂肪化、線維化や術中阻血時間との関連を認めなかった。また、血中の炎症性サイトカイン(IL-1, IL-6)の変動には差を認めなかった。

4) 各種肝疾患と背景因子

原因疾患別(B、Cウイルス、NASH、アルコール)の検討において非ウイルス性疾患

症例はC型ウイルス感染例と同様でB型ウイルス感染例に比し高齢であった。背景因子ではNASH症例において糖尿病の合併が有意に多く認められた。手術因子ではNASH症例に1区域以上切除が多い傾向を示した。しかし、周術期合併症には有意な差を認めなかった。

5) NASH 肝切除後の再生

術後3カ月以内の残肝再生率(切除時の残肝容積/切除後残肝容積)は同一の肝予備能、切除範囲の非NASH症例と(NASH 30例、対象42例)同等であった。

6) 術前の背景肝の状況とアポトーシスマーカー

血中アポトーシス関連因子である細胞骨格フラグメントのM30、M65を術前採血より比較したところNASH症例(n=46)、特に肝線維化F2-3でウイルス(n=32)、アルコール常習(60g/day以上)症例(n=26)より高い傾向を示し、NASH関連症例における背景肝の細胞死の亢進状況が類推された。

動物実験の成果

動物実験は肝切除、麻酔侵襲が標準化困難であり、臨床検討の補完となりうる結果は得られなかった。

考察

本研究結果より中等度以上脂肪化を有する肝臓は、手術操作等でも低脂肪化症例に比し、肝障害が増強、遷延する可能性が阿蘇のことが判明した。

その一因として背景肝の線維化や過酸化状態などではなく、肝細胞のポテンシャルがアポトーシスに傾いていることが挙げられた。NASH肝、特にに脂肪化を中等度以上有し、線維化の少ない背景肝であっても、細胞死の亢進した肝では再生障害が生じる可能性があることに留意し、切除範囲の拡大や過大な侵襲を伴う治療計画は避けるべきであると考えられる。

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3件)

1) A novel animal model for *in vivo* study of liver cancer metastasis. Fujiwara S, Fujioka H, Tateno C, Taniguchi K, Ito M, Ohishi H, Utoh R, Ishibashi H, Kanematsu T, Yoshizato K. World J Gastroenterol 2012;18: 3875-3882.

2) The impact of hepatic denervation on the accumulation of hepatic progenitor cells during liver regeneration in rats. Soyama A, Eguchi S, Hamada T, Takatsuki

M, Kamohara Y, Kawashita Y, Hidaka M, Tokai H, Mochizuki S, Nagayoshi S, Kanematsu T. Hepatogastroenterol 2012; 117: 1577-1579.

3) 血中カテコラミン増加を伴わない無症候性巨大褐色細胞腫の1例。古里祐一郎, 和泉泰衛, 権志成, 大野直義, 宮下賜一郎, 木村博典, 蒲原行雄, 藤岡ひかる, 松岡陽治郎, 伊東正博, 江崎宏典. 臨牀と研究 2013; 90: 1105-1108.

[学会発表](計10件)

1) 脂肪肝を背景に有する肝細胞癌切除症例の特徴

釘山統太, 蒲原行雄, 渡邊健人, 町野隆介, 朝長哲生, 野中 隆, 徳永隆幸, 遠山啓亮, 前田茂人, 藤岡ひかる 第112回日本外科学会, 2012.04.11-13. 千葉市

2) 肝細胞癌治療切除後再発危険因子の検討 - 1年未満再発例 -. 藤岡ひかる, 蒲原行雄, 川原大輔, 夏田孔史, 町野隆介, 渡海大隆, 中田哲夫, 遠山啓亮, 前田茂人, 永田康浩, 田川 努 第112回日本外科学会, 2012.04.11-13. 千葉市

3) 肝細胞癌治療切除後5年以上無再発生存のための臨床病理学的因子. 藤岡ひかる, 蒲原行雄, 渡邊健人 第24回日本肝胆膵外科学会学術集会. 2012.05.29-31 大阪市

4) 非B非C型肝細胞癌診断における血中CK-18 fragment およびフェリチンの有用性. 藤岡ひかる, 戸次鎮宗, 阿比留正剛, 小森敦正, 蒲原行雄, 八橋 弘, 石橋大海 第67回日本消化器外科学会総会 2012.07.18-20 富山市

5) 長崎医療センターにおける非B非C型肝細胞癌 - 性別、年代別背景因子の解析 -. 石橋大海, 戸次鎮宗, 阿比留正剛, 小森敦正, 藤岡ひかる, 伊東正博, 八橋 弘. 第29回犬山シンポジウム、犬山、2012.08.02.

6) 非B非C型肝細胞癌の現状と問題点. 蒲原行雄, 戸次鎮宗, 阿比留正剛, 高野弘嗣, 古賀満明, 室 豊吉, 島田昌明, 八橋 弘, 藤岡ひかる. 第49回日本肝癌研究会. 東京, 2013.07.1

7) 肝細胞癌における新治療戦略 - 癌部肝組織 mPGES-1 発現評価の有用性 -. 藤岡ひかる, 蒲原行雄, 平山昂仙, 土肥良一郎, 渡海由貴子, 野中 隆, 徳永隆幸, 遠山啓亮, 北島知夫, 原口正史, 前田茂人, 永田康浩, 田川 努, 伊東正博. 第113回日本外科学会定期学術集会. 福岡, 2013.04.11.

8) 肝切除術後のドレーン排液サーベイランスの有用性. 蒲原行雄, 北島知夫, 藤岡ひかる. 第 25 回日本肝胆膵外科学会・学術集会. 栃木, 2013.06.12.

9) 肝胆膵外科領域の SSI 対策. 蒲原行雄, 平山昂仙, 野中 隆, 徳永隆幸, 遠山啓亮, 北島知夫, 原口正史, 前田茂人, 永田康浩, 藤岡ひかる. 第 68 回日本消化器外科学会総会. 宮崎, 2013.07.19.

10) 白血球増多を伴った原発性肝 Malignant Fibrous Histiocytoma (MFH) の 1 例. 藤田智之, 蒲原行雄, 平山昂仙, 堀川修一, 濱田聖暁, 野中 隆, 永吉茂樹, 渡海由貴子, 徳永隆幸, 北島知夫, 前田茂人, 永田康浩, 黒濱大和, 伊東正博, 藤岡ひかる. 第 102 回日本消化器病学会九州支部例会. 宮崎, 2013.11.08.

11) 集学的治療が奏功し長期生存中の進行肝細胞癌 (stage a) 症例. 蒲原行雄, 平山昂仙, 堀川修一, 濱田聖暁, 野中 隆, 永吉茂樹, 渡海由貴子, 徳永隆幸, 北島知夫, 前田茂人, 永田康浩, 藤岡ひかる. 第 29 回長崎肝・胆道・膵外科研究会. 長崎, 2013.09.28.

〔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 蒲原行雄 国立病院機構
長崎医療センター 臨床研究センター部長
研究者番号: 50325643

(2) 研究分担者 藤岡ひかる 国立病院機構
長崎医療センター (副院長)

研究者番号: 00264226

研究分担者 石橋大海 国立病院機構 長
崎医療センター (研究員)

研究者番号: 80127969

研究分担者 戸次鎮宗 国立病院機構 長
崎医療センター (医師)

研究者番号: 50601431

研究分担者 河田則文 大阪市立大学医学
研究院 (教授)

研究者番号: 30271191

研究分担者 吉里勝利 大阪市立大学医学
研究院 (教授)

研究者番号: 20095516