

論文要旨

Porcine Model of Auxiliary Partial Orthotopic Liver Transplantation for Acute Liver Failure

〔 ブタを用いた急性肝不全に対する同所性補助的部分肝移植 (APOLT) モデルの作成団に及ぼす影響 〕

福枝 幹雄

【序論および目的】

APOLT (同所性補助的部分肝移植) は、急性肝不全に対する有効な移植手技の一つである。しかし、術前に自己肝が再生するかどうかの判定が難しいことや、術後の移植肝と自己肝との門脈血流競合の問題など解決すべき問題が多い。これらの問題を解明する実験モデルとして、ブタを用いた急性肝不全に対する APOLT モデルの開発を試みた。

【材料および方法】

実験 1 : 急性肝不全モデルの作製 : 90 分間の全肝血行遮断 (THVE) で肝臓に虚血を加え、さらに、THVE 中に 70% 肝切除を行うことで急性肝不全を誘発した。肝障害度、生存率から適切な急性肝不全モデルであることを証明した。

実験 2 : APOLT モデルの作製 : 90 分間の THVE 中に 70% 肝切除を行い、引き続き、肝切除スペースに同所性部分肝移植 (全肝重量の 50%) を行った。肝血行動態、血液生化学所見、病理組織学的所見、生存率から有用性を検討した。

【結果】

実験 1 : 術後早期にビリルビンの上昇、PT の低下がみられた。7 頭中 6 頭が 3 日以内に黄疸、腹水を伴い死亡した。病理組織学的に肝細胞壊死を認め急性肝不全モデルとして適切であると証明された。

実験 2 : 7 頭中 6 頭が 4 日以上生存した。術後、有意にビリルビンの上昇を抑えられた。生存例において、自己肝は肥大し、病理組織学的所見 (H.E.、Ki67、PAS) でも肝再生の所見を認めた。

【結論及び考察】

急性肝不全モデルに APOLT を行うことで急性期死亡を回避でき、補助的機能を果たすことができた。また、温存自己肝の再生も確認できた。本モデルは、APOLT における自己肝再生の過程や門脈血行動態が自己肝に与える影響などについて検討するうえで有用なモデルであると思われた。

(Transplantation 82 (10): 1312-1318, 2006 年 掲載)

論文審査の要旨

報告番号	医論第	1475	号	氏名	福枝 幹雄
審査委員	主査	坪内 博仁			
	副査	夏越 祥次		松藤 凡	

Porcine Model of Auxiliary Partial Orthotopic Liver Transplantation for Acute Liver Failure

(ブタを用いた急性肝不全に対する同所性補助的部分肝移植 (APOLT) モデルの作成)

急性肝不全に対する肝移植は有効な治療手段の一つである。しかし、急性期を乗り切れば障害肝が再生し回復する可能性のある急性肝不全に対して、通常同所性肝移植を適応することにはいくつかの問題点が指摘されている。それらを解決する方法の一つに、障害肝を部分切除し、同所性に部分肝移植を行う同所性補助的部分肝移植 (auxiliary partial orthotopic liver transplantation; APOLT) がある。急性期は移植肝で肝機能を維持し、温存した自己障害肝が再生した場合には、移植肝を摘出することにより免疫抑制剤の継続から離脱できる。

APOLT は理想的な手術方法であるが、適応や手術手技、門脈血流競合、温存自己肝の再生の評価などの問題があり、標準治療にはなっていない。これらの問題を検討するための実験モデルとして、急性肝不全のブタを用いて APOLT モデルの作成を試みた。

本研究で得られた知見は次のごとくである。

1. ブタモデルで 90 分間の全肝虚血 + 70% の肝切除を行うと、総ビリルビンの上昇およびプロトロンビン時間の延長など肝不全に特徴的な検査所見に加えて、3 日以内に 6/7 頭 (86%) のブタが死亡したことから、このブタモデルは適切な急性肝不全モデルである。
2. 急性肝不全ブタモデルに APOLT を行うと、総ビリルビンの上昇およびヘパラチンテストの低下が改善し、6/7 頭 (86%) が 4 日以上生存した。また、APOLT により生存したブタでは組織学的にも肝細胞の再生が確認された。

以上の結果は、本研究で作製された APOLT モデルが、自己肝の再生過程、移植肝の自己肝への影響などについて検討するうえで有用なモデルであることを示している。よって、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

試験（学力確認）の結果の要旨

報告番号	医論第	1475	号	氏名	福枝 幹雄
審査委員	主査	坪内 博仁			
	副査	夏越 祥次		松藤 凡	

主査および副査の3名は、平成22年11月30日、学位請求者 福枝幹雄君に面接し、学位請求論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) 本モデルでは胆管を外胆汁瘻としているが、その理由は何か。

(回答) 理由は二つある。一つは、肝移植後には胆管吻合の狭窄や縫合不全が多いことがあげられる。手技上の安定性を目的として、胆管吻合は行わずに外胆汁瘻とした。もう一つは、胆汁をサンプリングしやすくすることで、移植肝の機能評価などが行える可能性を残した。

質問2) 肝移植の際に、肝動脈吻合は苦労したと思うが、手技的に特別な工夫をしたか。

(回答) ルーペを用いて行ったが、吻合する動脈が細い場合は、パッチ様に形成して吻合した。経験を重ねることにより手技の安定が得られた。

質問3) APOLTモデルの死亡原因は拒絶反応ということだが、実際の臨床でAPOLTを行った場合、免疫抑制剤の投与期間はどのくらいか。

(回答) 温存自己肝が十分に再生したと思われる時点で、免疫抑制剤の中止のタイミングである。中止すると、移植肝が拒絶反応で萎縮するので、その後摘出する。温存肝の再生の状況によって、免疫抑制剤の使用期間や中止のタイミングは異なる。

質問4) 温存自己肝や移植肝から発生するサイトカインなどの物質が、それぞれの肝臓に与える悪影響なども考えられるか。

(回答) 悪影響の可能性が考えられるが、何がどの程度の影響を与えるのかについての一定の見解はない。

質問5) 急性肝不全に対する通常の肝移植の成績は満足した結果が得られているようだが、APOLTという手技は、実際の臨床では、急性肝不全のどのような病態が適応になるのか。

(回答) 基本的にはすべての急性肝不全において適応となるが、明確な適応基準は施設により異なる。また、急性肝不全以外にも、代謝性肝疾患の一部も適応とされている。

質問6) 手術手技の中で脾摘を行っているが、その理由は何か。

(回答) 全肝虚血中はバイオポンプで補助循環を行うが、門脈からの脱血ルートとして、脾静脈の使用が必須であったので、やむを得ず脾摘を行った。

質問7) APOLT後に温存自己肝が再生して、もう十分に再生したであろうと判断する指標は何か。

(回答) 肝再生とともに自己肝への門脈の血流が増加していくことが指標となる。また、機能評価として肝シンチグラフィなどが有用とされている。

質問8) 移植肝が存在したために、自己肝の再生が抑制される可能性があるか。

(回答) 移植肝へ門脈血流が流れすぎたために温存自己肝への血流が少なくなる例が報告されている。その場合、開腹して移植肝への門脈をbandingして血流量を調節する必要がある。移植した時点で、それぞれの肝臓に門脈血流をどの程度維持すべきか、また、自己肝再生の過程で門脈血流分布がどのように変化するかについては今のところわかっていない。

質問 9) 自己肝再生を促すために HGF を投与することは有用か。

(回答) 大動物のモデル作成が主な目的だったので、今回は HGF の測定や製剤投与は行っていない。HGF の性質を考えれば自己肝再生を促す方向に働くと思われる。

質問 10) 急性肝不全モデルを作製する方法には、肝虚血、肝切除、薬物投与などがあって、それぞれに利点、欠点があるが、今回の急性肝不全モデルの特性や利点は何か。

(回答) 今回の急性肝不全モデルは、APOLT を行うことを想定して作成した。ブタの肝切除、肝移植の手技が、スムーズに行えるような急性肝不全モデルが必要であった。そのような理由から、薬物投与ではなく、肝切除と肝虚血を組み合わせた急性肝不全モデルとした。

質問 11) 今回の急性肝不全モデルの総ビリルビン値は、ヒトの急性肝不全患者ほど高値ではないが、どうしてか。

(回答) 確かに総ビリルビンの最高値は 3mg/dl 前後であった。ブタの急性肝不全でどのくらいまで上昇するかは不明だが、死亡例の腹水は黄疸が強く、ブタにとってはかなり高値と推測される。

質問 12) APOLT モデル群とコントロール群との総ビリルビン値には有意差があるが、肝不全状態を最も反映するとされるプロトロンビン (PT) 値に有意差がないのはどのように考えるか。

(回答) PT に有意差がない理由については不明である。APOLT 群で肝移植直後より移植肝の胆汁瘻から胆汁が流出してくるが、胆汁およびビリルビンの排泄については即座に反応すると思われる。

質問 13) 急性肝不全状態では、肝臓の微小循環障害がおこると言われているが、内皮細胞レベルで障害を受けたことを組織学的に証明すれば、急性肝不全モデルの妥当性についてより説明しやすくなると思うがどうか。

(回答) 今回は、肝細胞壊死、肝再生のみの評価を行ったが、内皮細胞の組織学的検討などにより、肝障害度がさらにわかりやすいものになったと思われる。

質問 14) Ki67 で肝再生を評価しているが、急性肝不全モデルでは Ki67 の発現はどうだったか。

(回答) 急性肝不全モデルでは Ki67 の発現は認められなかった。

質問 15) 本実験で、門脈血中や肝細胞中の肝細胞増殖因子などの測定は行わなかったか。

(回答) 今回は、実験モデルを作成することが目的だったので、増殖因子の測定までは行わなかった。本モデルの有用性が証明されて、手技が安定すれば、そのような測定まで行うことは可能である。

質問 16) APOLT は当初ほど注目されてないようだが、現況はどうか。

(回答) APOLT が主流になり得ない理由の一つに、手術手技が非常に難しいことがあげられる。その他の課題も多く、以前ほどまとまった数の症例報告はされていないのが現状である。

質問 17) 日本では、急性肝不全に対して強力な内科的治療が行われ、肝再生の可能性のある症例は移植に至らずに内科的治療により救命しているという背景もある。日本の移植適応症例の多くは肝再生不全の症例なので、欧米と状況が少し異なると思うがどうか。

(回答) 確かに肝再生を期待して APOLT を行う症例自体が少なくなっているのかもしれない。しかし、この手技自体はメリットがあるので今後の検討は必要と考える。

以上の結果から、3名の審査員は本人が大学院博士課程修了者と同等あるいはそれ以上の学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有しているものと認定した。