

●原 著

広範切除肝に対する高圧酸素療法の影響

松田 範子* 恩田 昌彦* 森山 雄吉* 田尻 孝* 金 徳栄*
吉村 成子* 松田 健* 内藤 善哉* 菊池 俊雄*

この研究は肝再生における高圧酸素療法 (OHP) の効果を検討した。58匹の雄性ウィスター系ラットを4群に分類した。

I群: 70%肝切除+OHP 処置21匹
II群: 70%肝切除19匹
III群: 単開腹+OHP 処置 9匹
IV群: 単開腹 9匹

手術後, 肝細胞の再生率は上昇し, I群において術後72時間でピークを迎えた。分裂状態にある肝細胞数 (Mitotic Index) は肝切除後48時間で, II群に比しI群では有意に高値を示した。顕微鏡的には, 特にI群において肝切除後48時間, 72時間で門脈領域に瀰漫性の mitosis や肝再生像がみられた。

以上より, OHP は肝切除後の肝再生を促進させることが示唆された。

キーワード: 高圧酸素療法, 肝切除, 肝再生

The Effect of Hyperbaric Oxygen Therapy on Hepatic Regeneration after Hepatectomy

Noriko Matsuda*, Masahiko Onda*, Yukichi Moriyama*, Deog-Young Kim*, Seiko Yoshimura*, Takeshi Matsuda*, Zenya Naito* and Toshio Kikuchi*.

*The First Department of Surgery, Nippon Medical School

This study was performed to evaluate the effect of hyperbaric oxygen treatment (OHP; 3ATA, 2h) on hepatic regeneration. Fifty eight male Wistar rats were divided into 4 groups.

Group I: Twenty one rats were treated with OHP after 70% hepatectomy.

Group II: Nineteen rats were treated with 70% hepatectomy.

Group III: Nine rats were treated with OHP after sham-operated.

Group IV: Nine rats were sham-operated.

The weight of the liver raised after operation, and reached the maxima at 72th postoperatively

high in Group I than Group II at 48 hours after hepatectomy.

Microscopically diffuse mitosis in periportal area and liver regeneration were found at 48 and 72 hours after hepatectomy in Group I, especially. The results suggest that OHP promotes hepatic regeneration after hepatectomy.

Keywords:

hyperbaric oxygen therapy
hepatectomy
hepatic regeneration

緒 言

昨今, 肝切除術は原発性および転移性肝癌のみならず, 肝内結石など良性疾患に対しても広く日常的に施行されている。しかしながら, 肝切除後の肝機能および全身状態は必ずしも良いとはいえない。肝不全に対しては, 各種血液浄化法などの保存的療法に高圧酸素療法 (OHP) を併用し改善

*日本医科大学第1外科

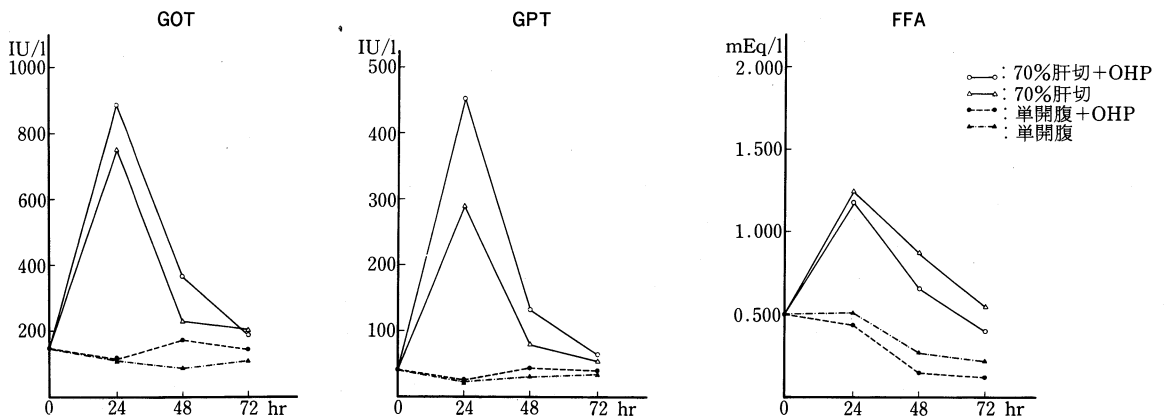


図 1

を得た例が報告されており¹²⁾、また肝硬変症に付随した高ビリルビン血症に OHP が有効であった例も経験している³⁾。実験的には四塩化炭素障害肝に対する OHP の有効性およびメカニズムが解明され⁴⁾、我々も急性および慢性肝障害に対し OHP は障害の軽減、さらには肝再生の促進に寄与することを報告してきた⁵⁾⁶⁾。

今回、我々は切除肝に対する OHP の影響を実験的に観察した。肝再生については、growth inhibitor 説⁷⁾や growth stimulator 説⁸⁾⁹⁾など諸説があり、肝再生因子の化学的解明がなされているが、OHP は肝細胞膜における酸素供給を促し、DNA 合成能を高め、肝再生の促進に寄与することが予想できる。我々は、主に形態学および病理組織学的側面から検討を加えた。

材料と方法

1. 実験方法

7 週齢、体重 200g 前後の Wistar 系雄性ラット 58 匹を以下の 4 群に分類した。

I 群：70%肝切除+OHP 処置 ……………21 匹

II 群：70%肝切除 ……………19 匹

III 群：単開腹+OHP 処置 ……………9 匹

IV 群：単開腹 ……………9 匹

70%肝切除は、エーテル麻酔下で Higgins ら¹⁰⁾の方法に準じて行った。また OHP 処置は 3ATA で 2 時間、空気加圧下、純酸素吸入し、1 日 1 回施行した。各群とも肝切除または単開腹後、24、48、72 時間にて経時的に屠殺し、実験に供した。

2. 血液生化学的検査

屠殺前にエーテル麻酔下にて開腹し、下大静脈より採血した。GOT、GPT、free fatty acid(FFA) に関してオートアナライザー (日立 736-50E) にて測定し、比較検討した。

3. 肝再生率

70%切除肝および屠殺時摘出した肝の湿重量を用いて以下の如く算出した。

$$\text{肝切除時推定全肝重量} = \text{切除肝重量} \times \frac{10}{7}$$

$$\frac{\text{屠殺時肝重量}}{\text{肝切除時推定全肝重量}} \times 100 = \text{再生率} (\%)$$

4. Mitotic Index (M.I.)

70%肝切除群において経時的に屠殺解剖し摘出した再生肝を、10%ホルマリン固定後、常法に従って H-E 染色した。無作為に数視野から肝細胞の総数を 1,000 個数え; そのうち分裂状態にある細胞数を M.I. とした。分裂期にある細胞は、Tuczek ら¹¹⁾に従って S 期細胞 (late-prophase から early-telophase までのもの) を算定した。

5. 病理組織学的検査

各群とも経時的に屠殺解剖し、肝の組織切片を作成した。H-E 染色および鍍銀染色を施し、光顕的に観察した。

結 果

1. 血液生化学値

血清中の GOT、GPT、Free fatty acid(FFA) の経時的变化を図 1 に示した。GOT、GPT、FFA

表1 肝再生率

時間	70%肝切+OHP(%)	70%肝切(%)
24hr	46.0±5.1	46.3±5.4
48hr	72.1±10.3	65.8±8.0
72hr	84.0±10.8	78.5±10.9

表2 Mitotic Index

時間	70%肝切+OHP	70%肝切	単開腹+OHP	単開腹
24hr	71.2±7.3	62.9±10.3	6.0±1.6	1.7±0.5
48hr	87.4±4.5*	72.6±7.5*	5.7±0.5	2.0±0.8
72hr	51.0±10.3	44.2±8.4	6.0±1.6	2.0±0

*P<0.01 Control 2.3±0.5

ともに同様な傾向で推移した。すなわち70%肝切除群では、GOT, GPT, FFAともに24時間でピークを来し、その後時間の経過と共に低下、72時間では単開腹群の値に近付いた。GOT, GPTはOHP処置を加えた方が若干高い値を示したのに対し、FFAは逆に低い値に抑えられていたが、何れも統計的な有意差はなかった。

2. 肝再生率

70%肝切除後の肝再生率は表1に示した如く、OHP処置群(I群)・無処置群(II群)とも時間の経過に伴い高値を示した。24時間では両群間に差はみられなかったが、I群では48時間で72.1%、72時間で84.0%と、II群に比し高い再生率を示した。

3. Mitotic Index

分裂状態にある肝細胞数(M.I.)から、肝再生状況を調べたのが表2である。70%肝切除群では、切除後24時間から多くの分裂像が認められ、48時間で分裂のピークを来した。特にOHP処置群のM.I.は87.4±4.5となり、同時間のOHP無処置群に比し有意(P<0.01)に高値を示した。その後、分裂像は減少し、72時間では24時間よりも低値を示した。

4. 病理組織学的検索

70%肝切除後24時間ではI群・II群間に差は認められなかった。48時間後のI群(OHP処置群)では、中心帯に脂肪変性がみられ、門脈領域から

中心帯にかけ著明な mitosis および巣状の再生像が認められた(図2a)。さらに鍍銀染色でも、門脈領域から中心帯にかけて巣状に肝細胞の再生像がみられた(図2b)。一方、OHP無処置群(II群)では、中心静脈領域の細胞浸潤と肝再生像がみられ、門脈領域中心に脂肪変性が認められた(図3)。72時間後になると、OHP処置群では瀰漫性に再生細胞がみられ、同群の48時間後(図2a)に比し、核分裂像は著明に減少した(図4)。

考 察

近年、様々な肝疾患に対し肝切除術が積極的に行われるようになってきている。ところで、肝再生に関しては growth stimulator 説が一般的に認められている。すなわち肝部分切除後、肝再生促進因子が血中に分泌され、肝再生が開始されると考えられている。Leffertら⁹⁾は、Insulin, Glucagon, Epidermal Growth Factor (EGF)などが肝再生を促進する血中成分であると考えた。これらのホルモンは細胞内のNa⁺レベルを上げたり、Na⁺イオンの濃度の調整に関与しているものと考えられる。つまり、Na⁺イオンの細胞内への流入が抑制されると、蛋白やRNAの合成が抑制され、結果的にはDNA合成が妨げられるからである。しかしながらDNA合成過程については、いまだにその詳細は解明されていない。

ところで、肝再生を広義に細胞再生という見地



図 2a 70%肝切除後48時間の OHP 処置群。
門脈領域から中心帯にかけて著明な mitosis と巣状の再生像がみられる。(H. E., ×40)

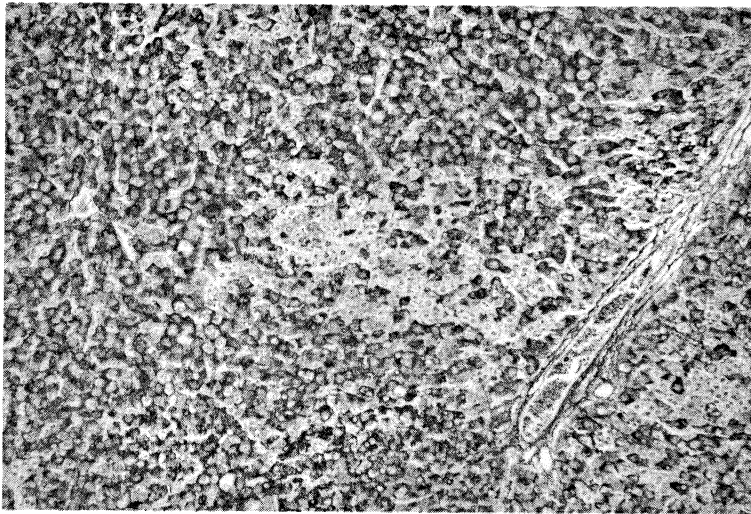


図 2b 70%肝切除後48時間の OHP 処置群。
門脈領域から中心帯にかけて巣状に肝細胞の再生像がみられる。(鍍銀染色, ×100)

で捉えると、酸素は細胞の成長に効果的に働くものと考えられる。ラットの肝細胞の培養において、酸素消費量の増加は分裂や蛋白合成などのエネルギー依存過程を刺激する因子の存在をしめすとの報告もある¹²⁾。

そこでわれわれは正常ラットの70%肝切除後に OHP を施行し、肝再生への影響を形態学的に調べた。肝再生率は経時的に上昇し、70%肝切除後48時間、72時間では OHP 処置群の方が無処置群

に比し再生が促進された。また肝細胞の分裂増殖過程を、M.I.を指標としてみると、70%肝切除後48時間でピークを来し、OHP 処置群では無処置群に比し有意に増加していた。さらに病理組織学的所見も M.I.と一致し、肝切除後48時間の OHP 処置群では、門脈領域から中心帯にかけての著明な mitosis および巣状の再生像がみられた。以上の所見より OHP 処置の肝再生促進効果が示唆された。

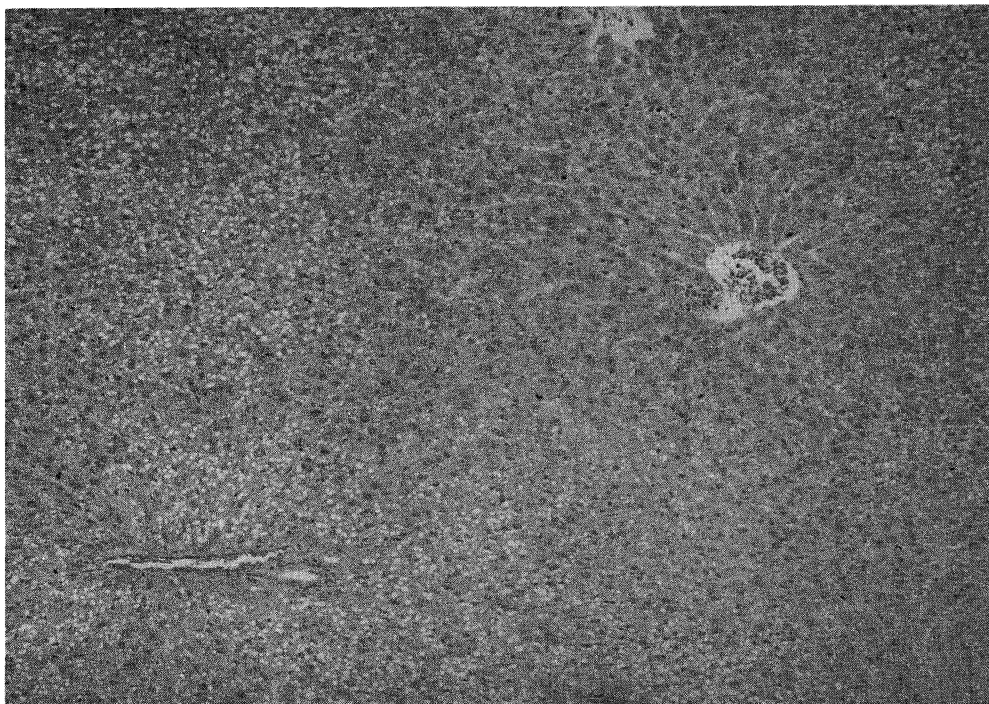


図3 70%肝切除後48時間のOHP無処置群。
中心静脈領域の細胞浸潤と肝再生像がみられた。(H.E., ×40)

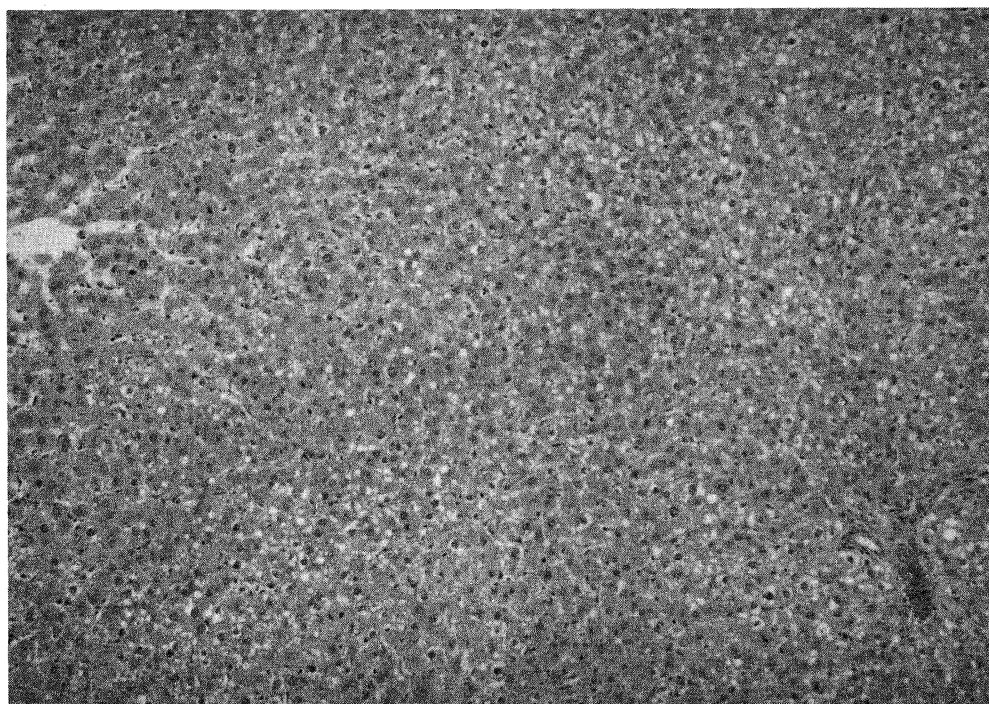


図4 70%肝切除後72時間のOHP処置群。
瀰漫性に再生細胞がみられ、核分裂像は著明に減少した。(H.E., ×40)

ところで以前われわれが行った障害肝の再生過程においても OHP は再生促進に効果的であった。すなわち、急性肝障害において、DNA 量は OHP 無処置群は control 値の約 3 倍であったのに対し、OHP 処置群では、約 4 倍と有意の差をもって増加した⁵⁾。また、慢性肝障害においても、DNA 量は OHP を最初から施行した群、途中から施行した群、全く施行しなかった群の順で増加していた⁶⁾。このように OHP は障害肝の再生に対して促進効果があることが認められている。さらに OHP は細胞再生、増殖あるいは創傷治癒過程に対して有効であると報告されてきている^{13)~15)}。Nilsson ら¹³⁾は OHP は骨形成を著しく増加させ、その基本的メカニズムは酸素分圧 (PO₂) の上昇にあり、コラーゲンや ATP 合成の増加なども PO₂ 上昇によるものと報告している。また、ヒトの角化細胞の培養で、細胞増殖の至適条件は、PO₂ 133mmHg (18% O₂) であり、それ以下では成長は遅くなるとの報告もある¹⁴⁾。また、伊坪ら¹⁵⁾は、創傷治癒に対して OHP が有効であると報告している。

なお、血液生化学値は GOT, GPT, FFA とも 70% 肝切除後 24 時間で一過性に上昇し、その後は元の値に復した。これは肝の障害のピークが肝切除後 24 時間であるのに対し、肝細胞分裂の指標となる M.I. のピークが 48 時間後であることから裏付けられる。また、血清トランスアミナーゼ値は共に OHP 処置群 (I 群および III 群) が高値を示し、特に GOT より GPT の上昇が著しいが、有意差は認められなかった。佐藤ら¹⁶⁾は、突発性難聴の患者の治療に星状神経節ブロックのみと OHP を併用している患者を比較すると、OHP 併用群において GPT の上昇がみられたと報告した。そして高圧酸素下における活性酸素の発生、肝臓での脂質過酸化反応、free radical formation などの問題と関連付けると OHP の影響も否定できないと述べている。しかしその点に関しては今後検討したい。

以上より、OHP 施行により肝再生が促進されることが示唆された。形態学的検討のみでは詳細なメカニズムまでは解明し得ず、今後更に生化学的な検索が必要と思われる。ところで、肝切除後肝機能障害さらには肝不全の出現をみる症例を経験することもある。OHP は肝不全に対し、各種血

液浄化法との併用により改善を得たという報告や、また肝硬変症に付随した高ビリルビン血症に有効であったという報告もあることから、肝障害を伴う症例や発症が危惧される症例に対し、臨床的に応用し得るものと考えられた。

結 語

①70%肝切除後の肝再生率は経時的に上昇し、OHP 処置群では OHP 無処置群に比し、48時間、72時間で高い値を示した。

② Mitotic Index は肝切除後 48 時間でピークを迎え、OHP 処置群は OHP 無処置群より有意に高かった。

③病理組織学的には、48時間後は細胞分裂が瀰慢性にみられるが、72時間後は分裂像が減少し再生肝細胞の増加が認められた。

以上の実験的事実より、OHP の肝再生促進効果が示唆された。

【参 考 文 献】

- 1) 中山幸一, 八木博司, 北野正剛, 兼松隆之, 坂口正剛, 奥村 恂: 肝硬変末期にみられる肝不全に対する高気圧酸素 (OHP) 療法の効果, 日高圧医誌, 21: 113-119, 1986
- 2) 天川和彦, 寺沢明夫, 杉生隆直, 田村 章, 八田俊治, 藤原久子, 藤原恒弘: 肝不全に対する高気圧治療の応用, 日高圧医誌, 16: 209-211, 1981
- 3) 沖浜裕司, 梅原松臣, 内藤善哉, 松田 健, 山田和人, 松倉則夫, 鄭 淳, 金 徳栄, 滝沢隆雄, 田尻 孝, 森山雄吉, 山下精彦, 恩田昌彦: 肝硬変症に随伴した高ビリルビン血症に高圧酸素療法が有効であった一例, 日高圧医誌, 22: 77-82, 1987
- 4) Burk RF, Reiter R, Lane JM: Hyperbaric oxygen protection against carbon tetrachloride hepatotoxicity in the rat. *Gastroenterology*, 90: 812-818, 1986
- 5) 小島範子, 恩田昌彦, 森山雄吉, 田中宣威, 田尻孝, 徳永 昭, 笹島耕二, 滝沢隆雄, 吉安正行, 古川清憲, 金 徳栄, 内藤善哉, 阿部靖子: 実験的四塩化炭素肝障害に対する高圧酸素療法の影響, 日高圧医誌, 22: 153-161, 1987
- 6) 松田範子, 恩田昌彦, 森山雄吉, 田中宣威, 田尻孝, 徳永 昭, 笹島耕二, 滝沢隆雄, 吉安正行, 金 徳栄, 内藤善哉, 阿部靖子: 実験的慢性四塩化炭素肝障害に対する高圧酸素療法の影響, 日高圧医誌, 23: 155-162, 1988
- 7) Sekas G, Owen WG, Cook RT: Fractionation and preliminary characterization of a low molecular weight bovine hepatic inhibitor of

- DNA synthesis in regeneration rat liver. *Exp. Cell. Res.* 122:47-54, 1979
- 8) Leong, GF, Grisham JW, Hole BV, Albright ML: Effect of partial hepatectomy on DNA synthesis and mitosis in heterotopic partial autografts of rat liver. *Cancer Res*, 24:1496-1501, 1964
 - 9) Leffert HL, Koch KS, Moran T, Rubalcava B: Hormonal control of rat liver regeneration. *Gastroenterology*, 76:1470-1482, 1979
 - 10) Higgins GM, Anderson RM: Experimental pathology of the liver— I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch. Pathol.* 12:186-202, 1931
 - 11) Tuzek HV, Fritz P, Wagner T, Braun U, Grau A, Wegner G: Synthesis of alfafetoprotein (AFP) and cell proliferation in regenerating livers of NMRI mice after partial hepatectomy. *Virchows Arch B*, 38:229-237, 1981
 - 12) Craciun O, Protase A, Copreanu D. Ciupercescu D, Socaciu C: Changes of the respiratory coefficient in cultures of rat liver cells. *Morphol. Embryol.* 35:53-58, 1989
 - 13) Nilsson P, Albrektsson T, Granstrom G, Rockert H.O.E: The effect of hyperbaric oxygen treatment on bone regeneration: An experimental study using the bone harvest chamber in the rabbit. *Int-J-Oral-Maxillofac-Implants*, 3:43-48, 1988
 - 14) Horikoshi T, Balin A.K, Carter D.M: Effect of oxygen on the growth of human epidermal keratinocytes. *J-Invest-Dermatol*, 86:424-427, 1986
 - 15) 伊坪喜八郎, 小室恵二, 長山 英, 平沢正典, 半沢 隆, 石田 孝, 桜井雅夫: 創傷の治癒過程からみた高圧酸素療法の有用性. *最新医学*, 41:300-307, 1986
 - 16) 佐藤裕信, 朝倉康夫, 後藤文夫, 木谷泰治, 藤田達士: 高圧酸素療法の血清 GOT および GPT への影響. *日高圧医誌*, 12:78-79, 1977