

## 肝葉切除モデルラット術後経過に関する臨床検査学的考察

大館 紗那<sup>1)</sup> 加藤 涼咲<sup>1)</sup> 河部 風<sup>1)</sup> 加藤 妃南<sup>1)</sup>  
古川 琴菜<sup>1)</sup> 平田 朱彌<sup>1)</sup> 松岡 涼太<sup>1)</sup> 中川 泰久<sup>1)</sup>

1) 岐阜医療科学大学 保健科学部 臨床検査学科

肝臓は約 70% 切除しても元に再生するが切除術後に合併症や肝機能低下で死亡する場合もある。そこで肝葉部分切除モデルラットの術後変化を臨床検査学的データと解剖所見を併せて考察した。

対象は 9 週齢ラット雄 24 匹を肝葉部分切除群 (HR:  $n=12$ ) と開閉腹のみ行う対照群 (SH:  $n=12$ ) に分け手術した。さらに、この 2 群を各 4 匹ずつ直後 (HR 0, SH 0), 1 週間後 (HR 1, SH 1) および 2 週間後に解剖を行う群 (HR 2, SH 2) に分けた。4, 11 日後に腹部超音波検査を施行、解剖時に血液・生化学検査および摘出肝の病理検査を行った。超音波検査では 4 日目で肝肥大化を認めたが、ラット肝構造は複雑で詳細な判断は困難であった。肝は切除後 1-2 週間で元の重量に増加した。血液・生化学検査では一部上昇する有意所見を認めなかった。一方 ICG 試験は HR 0 および 1 で有意な血中残存を認めた。すなわち術後 1 週間では肝重量増加にも関わらず肝機能は回復しなかった。病理検査では細胆管増生や肝線維化等は認めなかったが、HR 1 で有意な肝細胞の核数増加と小葉間胆管と中心静脈間距離の延長を認めた。一方 HR 2 では距離延長は認めなかった。したがって肝細胞と脈管系分化には時間差がある可能性があり、超音波検査や一般的な血液および生化学的検査のみでの予後判断は潜在的リスクを秘めるため、術後の肝再生評価には ICG 試験が有用ではないかと考える。

キーワード：肝葉切除、ラット、臨床検査、ICG 試験

### I. 序論

肝臓は再生能の高い臓器であり<sup>1</sup>、70% 切除をしても元の大きさに再生すると言われている。一般的に肝部分切除は肝細胞がんや生体肝移植で行われる<sup>2-5</sup>。一方で疾患肝や脂肪肝が存在する場合、切除割合の決定に難渋することもある<sup>6</sup>。また、切除後には胆汁漏、胸水および腹水など予期せぬ合併症や肝機能低下による肝不全から死に至る場合がある。このような合併症は、肝疾患治療患者や生体肝移植のドナーにとってもリスクを秘めており<sup>7,8</sup>、基礎疾患のある患者や臓器機能が低下する高齢者においてはさらにそのリスクは増大する<sup>9</sup>。加えて、

70 歳以上の高齢者に対する肝部分切除は術中出血や術後合併症を増加させるとの報告もある<sup>10</sup>。高齢化が進む現代において、高齢者の肝部分切除症例も増加すると考えられる<sup>11,12</sup>。このような背景から、臨床検査をはじめとする迅速な術後評価が重要であり、患者の予後向上化につながる。現在、肝部分切除術後の評価検査として、CT や超音波等の画像検査が行われている。これらは癒着や出血等から生じる臓器の器質的变化を捉えるには有効であるが、放射線曝露の危険性を伴うことや、肝機能そのものを直接評価することは不可能である。また一般的な血液・生化学検査である PT-INR 値やビリル

(2024 年 11 月 5 日受付・2024 年 11 月 7 日受理)

ビン値などは経時的スパンでの肝機能評価の指標であるが、リモデリングの速い肝細胞の変化をリアルタイムで捉えることは困難だと考える。一方で肝機能評価、特に解毒機能評価に用いられているインドシアニングリーン (ICG) 色素は血漿タンパク質に結合する水溶性アニオン化合物であり、肝細胞内に取り込まれ胆汁中に排泄されることで、安全かつ迅速で再現性も高く生体にも比較的侵襲性が少ない<sup>2</sup>。そのため肝部分切除において肝処理予備能を測定し、切除割合決定の術前評価として用いられることが多い。そこで、術後も肝機能評価として ICG 試験を用いればリアルタイムな検索に有用ではないかと考えた。したがって、術後の病態変化を臨床検査手法にて得るため肝葉部分切除モデルラットを用いて検討した。

## II. 方 法

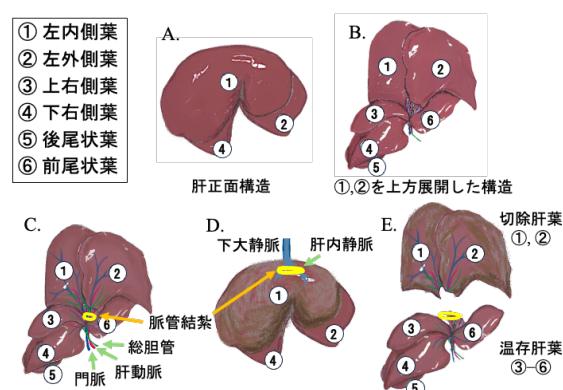
ラット肝葉は分類上ヒトの肝葉とは異なり、左内側葉、左外側葉、上右側葉、下右側葉および尾状葉の 5 葉に分けられるが<sup>13</sup>、我々はさらに詳細な肝臓リモデリング過程を検討するため尾状葉を後尾状葉および前尾状葉に分け、6 葉とした。手術は最も大きな左内側葉および左外側葉の脈管を外科的に結紮・切除することで約 70% の肝葉の切除に相当する (Figure 1)。本検討では、外科的肝葉部分切除および健常対象ラットに対して手術直後、1 週間および 2 週間経過後についての病態変化を臨床検査的手法である腹部超音波検査、血液・生化学検査および病理検査を用いて器質的变化と機能的变化の関係を調査した。

### 1. 対象

8 週齢 Slc: SD ラット (Japan SLC Ink., Shizuoka, Japan) 雄 ( $n=24$ 、体重  $257.0 \pm 6.5$  g;  $\pm SE$ ) を対象とし、7 日間 12 時間明暗環境のクリーンルーム (温度  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 55-57%)

で飼育・訓化した。飼料は LabDiet<sup>®</sup> 5053 (Japan SLC Ink., Shizuoka, Japan) 飲料は水道水を濾過滅菌したものを自由摂取させた。9 週齢時、前日絶食にて実験を開始した (体重  $313.4 \pm 2.2$  g)。

## 2. 手術手順



A. ラット肝臓は正面から見ると①、②および④の 1 部が見える。B. ①、②を上方に展開すると残りの 4 葉が見える。C. ③、⑥の上部に走る胆管、肝動脈および門脈を一括で結紮することで①、②の肝葉に流れ込む血流および胆管を遮断できる。D. 下大静脈に流れ込む①、②肝葉由来の血行路を遮断することで E. の①、②の肝葉 (全肝臓重量の約 70% に相当) を切離することが可能となる。

Figure 1 ラット肝臓の構造と肝葉切除部位

### 2-1. 3 種混合麻酔薬

ドルミカム<sup>®</sup> 注射液<sup>®</sup> 10 mg (Maruishi Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka, Japan)、メデトミン<sup>®</sup> 注「Meiji」1 mg (Meiji Seika Pharma Co., Ltd., Tokyo, Japan) およびベトルファール<sup>®</sup> 5 mg (Meiji Seika Pharma Co., Ltd., Tokyo, Japan) をラットの体重から換算すると、ドルミカム<sup>®</sup> 注射液 0.125 mL (2 mg/kg)、メデトミン<sup>®</sup> 注 0.047 mL (0.15 mg/kg)、ベトルファール<sup>®</sup> 0.156 mL (2.5 mg/kg) となり各薬剤を混合使用した。

### 2-2. 麻酔導入

ラットを背部から左手掌で固定保持した後、

## 肝葉切除モデルラット術後経過に関する臨床検査学的考察

速やかに裏返して 3 種混合麻酔を左下腹部より 26 G 注射針を用いて腹腔内投与(1.0 mL/kg)した。この投与量では混合麻酔の麻酔時間が 20-30 分および覚醒時間が 60-100 分となる。麻酔投与後、反射の消失が確認でき次第、直ちに除毛・消毒等の手術前処置を行った。

### 2-3. 肝葉部分切除手術

手術は 3 種混合麻酔の腹腔内投与にて肝臓の約 70%を切除(左内側葉および左外側葉)する肝葉部分切除群 (HR: n=12) と健常対照群 (SH: n=12) に分けた。肝葉結紮手術は左内側葉および左外側葉の流入血行路である門脈、肝動脈および流出経路である胆管を一括して 6-0 ナイロン糸で結紮・遮断した。続いて、左内側葉および左外側葉から下大静脈への流出血行路である肝内静脈を同じく 6-0 ナイロン糸で結紮・遮断し 2 つの肝葉を切除した。健常対照群は開閉腹のみを行った。さらにこの HR および SH 群の 2 群について、手術後 4 匹ずつで 6 群に分けた。内訳は手術直後に解剖を行う群 (HR 0 および SH 0)、1 週間後に解剖を行う群 (HR 1 および SH 1) および 2 週間後に解剖を行う群 (HR 2 および SH 2) とした。

### 3. 腹部超音波検査

術後 4 日目に SH 1, SH 2, HR 1 および HR 2、術後 11 日目に SH 2 および HR 2 を対象に腹腔麻酔下にて超音波診断装置 GE Healthcare LOGIQe (GE Healthcare Japan Co., Ltd., Tokyo, Japan) 探触子: リニア型プローブ (6.0-14.0 MHz) を用いて、術後温存肝葉である上下右側葉の厚さおよび横最大長を測定した。

### 4. 手術直後、1 および 2 週間後の解剖

#### 4-1. 使用薬剤および機器

##### 1) ヘパリンナトリウム注射液

ヘパリン Na 注 5 千单位/5 mL 「モチダ」

(MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD., Tokyo, Japan) を採血用注射器内にコーティングして使用した。

##### 2) リンゲル

採血は腹腔麻酔下にて開腹後、尾静脈より 3 mL 静脈血を採血した。その後、三方活栓を切り替え注射器内の日本薬局方リンゲル液「フソーア」(FUSO Pharmaceutical Industries, LTD., Osaka, Japan) を循環血液量維持のために 3 mL ゆっくりと静注した。

##### 3) インドシアニングリーン

ジアグノグリーン®注射用 25 mg (Daiichi-Sankyo Co., Ltd., Tokyo, Japan) アンプルに注射用水 5 mL を加え、溶解して 25 mg/5 mL の ICG 注射液とし、リンゲル液投与時に三方活栓を切り替え 1 mL の注射器を用いて 150 μL の ICG 注射液を尾静脈内に静注した。15 分後に尾静脈対側の腹部大動脈より採血・遠心分離した血漿の吸光度をライフサイエンス用紫外可視分光光度計 V-730BIO (JASCO Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いて、吸光度 805 nm にて投与前および投与 15 分後の血漿について測定した。また、血中 ICG 濃度は各群ラットの ICG 投与前血漿に既知濃度の ICG を溶解して検量線から算出した。

##### 4) 血球分析装置

尾静脈より採血したヘパリン加全血 3 mL の一部を多項目自動血球分析装置 XN-L450 (Sysmex Co., Ltd., Osaka, Japan) で分析し血球算定を行った。

##### 5) 生化学自動分析機

尾静脈より採血したヘパリン加全血を遠心分離後、血漿を対象としてディスクリート方式臨床化学自動分析装置 Accute RX TBA-400FR (Canon Medical Systems Co., Ltd., Tochigi, Japan) で生化学分析を行った。

#### 4-2. 血液・生化学的検査項目

ヘパリン加静脈血全血を対象として測定した血球数算定項目は、白血球数 (WBC), 赤血球数 (RBC), ヘモグロビン濃度 (HGB), ヘマトクリット量 (HCT), 血小板数 (PLT) および網赤血球数絶対数 (RET) の 6 項目で、さらにヘパリン加静脈全血を遠心分離後の血漿を試料として測定した生化学項目はアルカリホスファターゼ (ALP), ガンマグルタミルトランスフェラーゼ (GGT), アスパラギン酸トランスフェラーゼ (AST), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT), 総ビリルビン (T-Bill), 直接ビリルビン (D-Bill), 中性脂肪 (TG), 総蛋白 (TP) および総コレステロール (T-cho) の 9 項目とした。

## 5. 病理学的検査

解剖時に摘出した肝臓および脾臓の重量測定を行い、肝臓は最も肥大率の高かった上下右側葉を中性緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン切片を作製した。SH 群および HR 群のプレパラートを対象として Hematoxylin-Eosin (HE) 染色および Masson's trichrome (MT) 染色を行い鏡検を行った。HE 染色後の標本では肝葉部分切除に伴う細胞分裂の変化を検討するため、20,000  $\mu\text{m}^2$  範囲の細胞核数を算定した。加えて中心静脈から小葉間胆管間の距離を OLYMPUS cell Sens Standard ver.1.17 (OLYMPUS Co., Ltd., Tokyo, Japan) で測定した。MT 染色後の標本では肝葉切除部位、肝細胞の線維化や門脈域、小葉間胆管周囲の胆管増生の有無を確認した。

## 6. 統計解析

統計解析にはエクセル統計 Ver. 1.16 (SSRI JAPAN Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いて二元配置分散分析を行い、単純主効果および交互作用を見出し、有意差が出た場合は Tukey's test にて詳細な精査を行った。

## III. 結果および考察

肝葉部分切除一週間以内のラットは黄疸所見を認めなかった。一方、先行研究として我々が行った総胆管結紮による胆管閉塞モデルラットでは総胆管の全閉塞から胆汁の産生に対してその排泄・処理が追いつかないため<sup>15</sup>、術後 2-3 日目で黄疸を認めた<sup>14</sup>。今回我々が行った 70% の肝葉部分切除実験では、生じたビリルビンや胆汁等の処理にあたり肝臓の能力が下回るほどではなかったことが示唆される。一方で肝葉部分切除術後 4 日目に行った腹部超音波検査では、温存肝は有意な肥大を認めた (Figure 2)。すなわちこの温存肝の肥大リミングが、切除肝葉による失われた肝機能の補助的役割を担った可能性がある。加えて、この肥大は肝臓の横最大長に比して厚さが有意であった。これはラットの肝臓の構造上、切除した肝葉が温存肝葉の上に重なるため<sup>16</sup>、肝葉を取り除いたことで胸・腹腔内スペースに余裕ができたことが要因の 1 つと考える。一方でラット肝は 6 つの独立した葉に分かれ、かつ重なり合う部位があることと<sup>16</sup>、葉形状や位置に個体差があり、葉の重なり合う部位の境界線の詳細な判断が困難である可能性があるため、腹部超音波検査は術後経過観察には適していないと考える。このことは解剖時に肥大化した HR 群の肝葉を観察した際、その向きおよび肥大した部位が個体により異なっていたことでも証明された。さらにもう 1 つの要因として、検査時の肝葉を検索する際、腹部にプローブを押し当てる圧で、重なり合う肝葉が動いて移動した恐れもある。また、HR 群での計測値のバラツキが大きい原因是肝葉部分切除による胸・腹腔内スペースの拡大が測定時の肝葉動搖に影響したとも考えられる。したがって腹部超音波検査で、複数の肝葉を有する小動物の肝臓経の計測は、解剖して実際に計測する場合と比較して再現性に乏しいと考える。加えて、本研究に用い

た超音波診断装置は、機器設定がヒトの診断用であったため、体の小さいラットに対しては診断が困難であった。そのため複数肝葉を有する動物の術後変化観察に超音波検査を行う際の改善策として肝葉部分切除時に超音波像として映り、生体反応に影響を与えないマーカーを肝葉辺縁に留置する等、肝葉を区別する手段を講じる必要がある。一方で、解剖時に摘出した各群の温存肝の重量測定においてSH群間では各群肝重量の増加に有意差を認めなかった。さらにHR0ではSH群とほぼ同等の肝重量であったが、HR1および2では有意な肝重量の増加を認めた (Figure 3)。

のことより、ラット肝は肝切除術後1-2週間で元の重量まで増加することが判明した。一方、術後温存肝の重量増加率を算出すると手術直後から1週間の増加率に比べ、術後1-2週間の増加率は低かった。そのため術後の肝肥大には上限がある可能性がある。また、SH群の術

後肝重量の変化はわずかであったことから、ラットの成長に伴う肝重量増加の影響は少ないと考える。なお、摘出した脾臓重量の比較ではHR群  $0.73 \pm 0.03$  g, SH群  $0.65 \pm 0.02$  g,  $p=0.04$  とわずかな有意差を認めた。これは肝葉切除による肝体積減少からHR群では肝流入血量がSH群に比して低下したために脾臓への流入量が増加したことによる脾リモデリングである

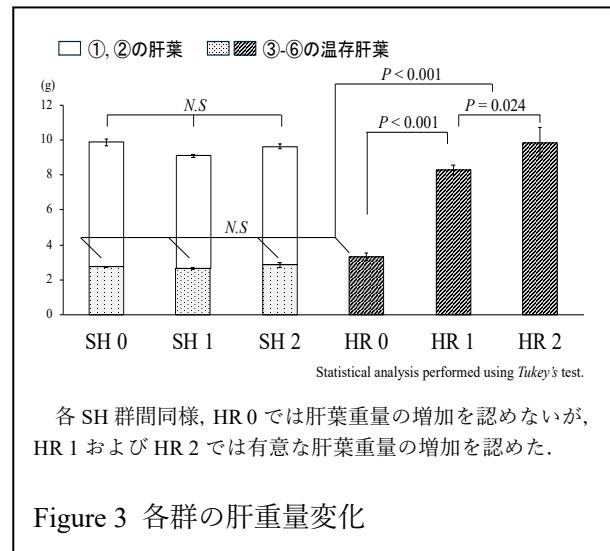
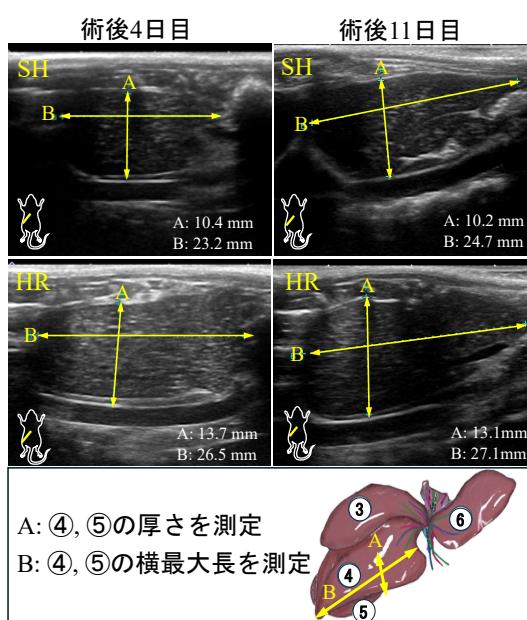


Figure 3 各群の肝重量変化

と考え、肝硬変等の線維化を伴う様な強い炎症反応から生じるものではないと考える。これを裏付けるデータである血液検査においてHR群はSH群と比較しても白血球数の有意な増加を認めなかった。しかしながら、HR1では僅かに白血球数の増加を認めた (Table 1)。通常、胆管閉塞が生じると白血球数が上昇する<sup>17</sup>。本検討においてHR1の白血球数はSH群と比べて僅かな上昇であった。よって、この僅かな白血球数の増加は胆汁の漏れによる炎症反応が



SHと比較してHRは術後4日目より肝肥大を認めた。計測対象は④, ⑤の肝葉であるが、ヒトの肝臓と異なりラットは複数の独立した肝葉を持つために重なり合う肝葉部位の境界線が不明瞭である。

Figure 2 術後4, 11日目の腹部超音波検査

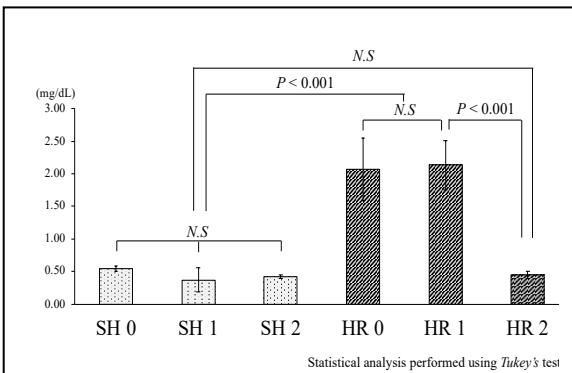
Table 1 血液・生化学検査結果

	SH 0	SH 1	SH 2	HR 0	HR 1	HR 2
WBC (10 <sup>2</sup> /μL)	52.5 ±5.0	73.6 ±6.62	81.6 ±7.2	54.1 ±6.62	87.5 ±8.4	82.9 ±8.8
RBC (10 <sup>4</sup> /μL)	729.0 ±20.2	757.0 ±15.3	807.3 ±13.4	804.3 ±12.8	736.0 ±3.2	820.0 ±15.5
HGB (g/dL)	14.8 ±0.4	14.6 ±0.2	16.2 ±0.1	15.9 ±0.4	14.8 ±0.2	15.7 ±0.3
HCT (%)	41.5 ±1.1	40.3 ±0.5	43.4 ±0.5	44.8 ±1.0	39.7 ±0.4	43.0 ±0.8
PLT (10 <sup>4</sup> /μL)	59.3 ±5.6	103.2 ±15.6	100.4 ±9.3	76.8 ±3.3	63.4 ±8.9	73.7 ±7.6
RET (%)	5.6 ±0.4	4.5 ±0.7	4.4 ±0.2	5.9 ±0.2	4.0 ±0.2	5.0 ±0.1
ALP (U/L)	302 ±18.5	202 ±21.1	241 ±16.5	340 ±20.1	287 ±27.4	320 ±51.2
GGT (U/L)	1 ±0.0	1 ±0.0	2 ±0.0	1 ±0.0	1 ±0.0	2 ±0.0
AST (U/L)	95 ±10.2	87 ±20.0	87.0 ±8.7	105.0 ±5.4	80.0 ±4.2	89.0 ±10.8
ALT (U/L)	59 ±9.0	46 ±2.9	57 ±7.2	65 ±1.9	51 ±4.8	62 ±2.3
T-Bil (mg/dL)	0.02 ±0.0	0.02 ±0.0	0.03 ±0.0	0.05 ±0.0	0.05 ±0.0	0.03 ±0.0
D-Bil (mg/dL)	0.00 ±0.0	0.00 ±0.0	0.00 ±0.0	0.01 ±0.0	0.00 ±0.0	0.00 ±0.0
TG (mg/dL)	19 ±4.9	28 ±5.8	31 ±8.3	14 ±2.8	24 ±2.4	21 ±6.8
TP (g/dL)	5.7 ±0.3	5.7 ±0.1	6.6 ±0.1	5.8 ±0.5	5.5 ±0.1	6.2 ±0.3
T-cho (mg/dL)	53 ±3.0	56 ±3.3	69 ±2.7	51 ±3.9	65 ±4.3	76 ±7.4

原因ではなく肝葉部分切除による炎症反応だと推測する。白血球は炎症が生じてから数時間後に上昇することから<sup>18</sup>、HR 0 は手術から測定までに有した時間が 30 分以内であったため、白血球数の変化を認めず、HR 2 では 1 週間で増加した白血球数が炎症反応の沈静化により正常域に戻ったのだと推察する。HR 群の生化学検査では、胆管のうっ滞程度を示す GGT、T-Bil および D-Bil で有意な上昇所見を認めなかつたが ALP は上昇した。また HR 1 および 2 では T-cho が微増していた。この ALP の上昇は肝葉部分切除によって肝内胆管内由来のものが血管内に流入したことが原因だと考えられる。一方、T-cho は肝臓で産生されるため<sup>19</sup>、術後 1、2 週間経過後の T-cho の増加は、肝葉部分切除に伴う肝細胞の新生により、合成が促進された結果だと考える。T-Bil は肝臓・胆道機能障害により上昇する<sup>20</sup>。また、D-Bil 上昇は肝臓排泄障害を示す。今回、T-Bil および D-Bil はすべての群において上昇を認めなかつた。これは肝葉部分切除後、1-2 週間経過しても肝細胞性および胆汁うっ滞型排泄障害などの術後合併症を生じていない可能性を示す。手術直後についてもこれらが上昇していないのは、生化学分析測定まで比較的短時間であったため、ビリルビン前駆物質の増加およびビリルビン

代謝の余地がなかったとも考える。つまり一般的な生化学検査の結果から、約 70% の肝葉部分切除では肝機能は障害されない、または手術に伴う傷害を受けたとしても検査値に影響のない程度であると推察される。術前検査として用いられる ICG は腸肝循環の影響を受けないため、肝細胞内に取り込まれ、胆汁中にそのまま排泄される。そのため、ICG 試験は肝機能評価、特に解毒機能評価に用いられる。また、術前の ICG 試験による肝機能検査は術式施行後の温存肝能の予知・評価に用いられ、耐術可能かの判断が行われる<sup>21</sup>。これにより、術後肝不全をほぼ防ぐことが可能である<sup>21</sup>。一般的に術後検査では、ICG 試験は用いられず、血液・生化学検査などが主流となり術後に起こり得る感染症、出血および機能低下による腹水等の判断材料とされる。ICG の血中停滞が生じる原因として、① 肝細胞への輸送経路の異常、② 肝細胞処理能の低下および③ 排泄経路の異常の 3 つのパターンが考えられる。本検討における術後肝機能調査での ICG 試験結果では、SH 群と HR 0 を比較すると HR 0 で血中 ICG 濃度の有意な増加を認めた。これは肝臓を約 70% 切除した直後に ICG 試験を行っているため、肝細胞の絶対数の減少から処理能力が追いついていない事が原因であると考える。一方で HR 1 では HR

2 とほぼ同じ肝重量まで増加したが、血中 ICG 濃度が HR 0 と同等レベルの有意な増加を認めた。この結果は HR 1 では肝細胞数が増加しているにも関わらず ICG 色素を排泄・処理できなかったという事になる。さらに HR 2 では SH 群と同等の血中 ICG 濃度となり、HR 1 と比較して有意な低下を認めた (Figure 4)。

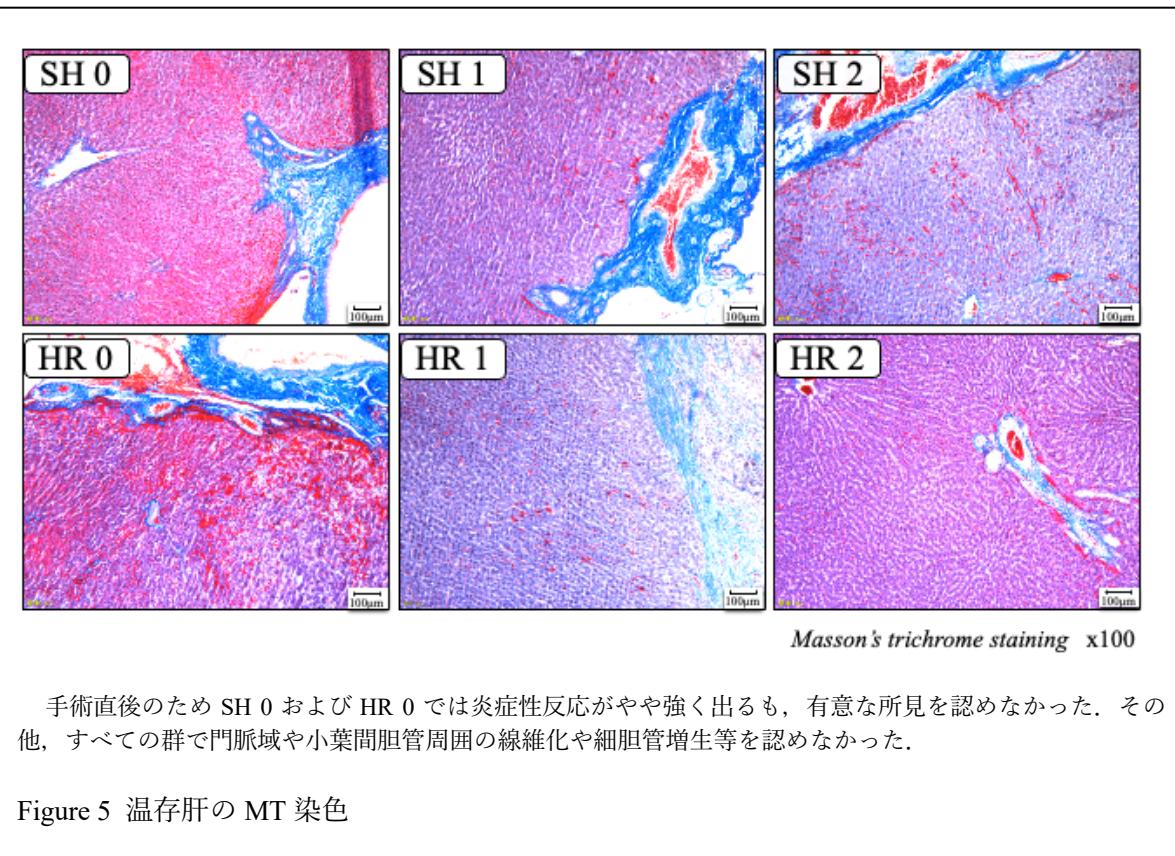


各 SH 群間では有意差を認めず、血中 ICG 濃度は低値となった。一方で SH 群と比較して HR 0 および HR 1 では有意な血中 ICG 濃度の増加を認めた。なお HR 2 では SH 群同様に低値となった。

Figure 4 各群の血中 ICG 濃度

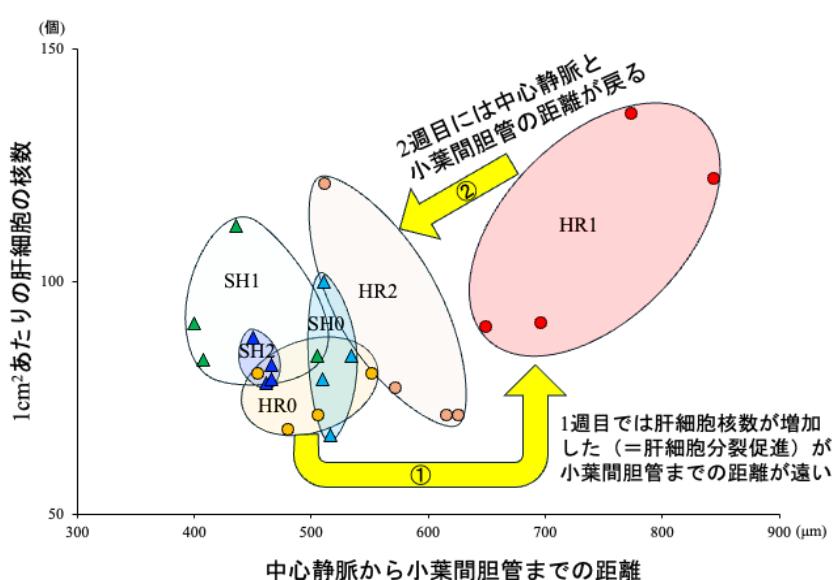
続いて、解剖時に SH 群および HR 群の摘出した温存肝葉の上、下右側葉を対象として病理組織学化学的検査を行った。総胆管閉塞時に肝小葉では胆管が新生し細胆管増生を生じるが、これは胆管内の圧力の上昇と化学的刺激が胆管上皮の増殖のきっかけになると考えられている<sup>22-25</sup>。しかしながら急性増殖した細胆管は構造上未熟だと考えられ、そこから胆汁が漏れ出る可能性がある。細胞毒性のある胆汁が肝小葉内に漏れ出すことで、肝細胞が壊死し、肝細胞は白血球の貪食によりその部分に線維化が起こる。したがって MT 染色では門脈域や小葉間胆管周囲の細胆管増生および肝細胞の線維化の有無を確認した。結果としてすべての標本において、門脈域や小葉間胆管周囲の細胆管増生や肝細胞の線維化等を認めなかつた (Figure 5)。つまりこれは肝臓の約 70%を摘出

しても温存肝は胆汁の生成から排出までを滞りなく行っていたといえる。一方、HE 染色では HR 1 に有意な核分裂・増加を認めた。併せて HR 0 と HR 1 の小葉間胆管-中心静脈間の距離を比較したところ、HR 1 において距離の延長を認めた (Figure 6)。一方で HR 0 と HR 2 の比較では HR 2 における小葉間胆管-中心静脈間の距離は HR 0 と同等となった。これは肝葉部分切除 1 週間後では肝細胞は肥大と増殖が盛んであるが、小葉間胆管構造の分化が追いついておらず、距離が延長したと考える。その後、2 週間経過により小葉間胆管構造の分化が進み、距離が元に戻ったと考えられる。肝葉部分切除後、肝細胞が最初に増殖し 12-24 時間遅れて非実質器が増殖するという報告もあることから<sup>26,27</sup>、肝細胞および脈管構造を司る細胞の増殖には時間的位相が生じていることが示唆された。これは HR 1 で血中 ICG 濃度が増加した結果とも相関する。したがって肝葉部分切除術後、1 週間では見かけ上肝臓の大きさが元に戻っていたとしても肝細胞-脈管を司る細胞の増殖・分化のスピードの違いから、肝機能としては十分に回復しきれてはいないといえる。さらに HR 1 では中心静脈の拡張を認めた。これは、肝葉部分切除により容積の少なくなった温存肝に血流が集中することで門脈圧が亢進し、中心静脈圧が亢進することで血管拡張に至った結果であると予想される。同様に肝葉部分切除では切除率と術後門脈圧の上昇には相関関係があることも報告されている<sup>28</sup>。一方で中心静脈の拡張は肝内血圧上昇および血流増加に伴う血管へのシェアストレス負荷が生じ、血管拡張物質である一酸化窒素が誘導し拡張に至ったのかもしれない<sup>27-29</sup>。しかしながら HR 2 では中心静脈の拡張を認めなかつた。これは、肝葉部分切除術後 2 週間で肝細胞増殖に伴い類洞も増殖、さらに小葉間胆管の増殖と同時に小葉間動静脈が増殖したため、門脈からの血液



手術直後のため SH 0 および HR 0 では炎症性反応がやや強く出るも、有意な所見を認めなかった。その他、すべての群で門脈域や小葉間胆管周囲の線維化や細胆管増生等を認めなかった。

Figure 5 溫存肝の MT 染色



HR 1 では有意な肝細胞の核分裂および核数増加を認めた。一方で HR 0 と HR 1 を比較すると HR 1 では中心静脈と小葉間胆管距離の延長を認めたが、HR 2 では HR 0 とほぼ同等であった。

Figure 6 肝細胞核数と中心静脈から小葉間胆管間の距離における相関図

を受け入れる容積が増え、門脈圧が切除前と同等に戻ったのだと考える。また、肝動脈緩衝反応により肝臓に流入する血流量が制御され、門

脈圧亢進が抑制されたという可能性も考えられる<sup>30</sup>。丸橋らの研究から、ラット 70% 肝葉部分切除では門脈圧が亢進するが、門脈と肝静脈

を吻合することにより門脈圧亢進を抑制すると、肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor) 活性も抑制されることが分かっている<sup>31</sup>。このことから、門脈圧亢進または中心静脈の拡張と肝細胞増殖は相関関係にあるといえる。

したがって中心静脈の拡張は肝細胞の増加指標に、拡張した中心静脈が元に戻ることは血管新生の 1 つの指標となる可能性がある。

本検討より、ラットの肝葉部分切除では 1 週間程で温存肝が元の重量までリモデリングするが、その再生は肝細胞分裂に加え肥大化を伴うだけのもので、肝機能としては遅れて回復することが示唆された。すなわちヒトを対象とした肝葉部分切除術後においても画像検査や一般的な血液検査の値だけで予後評価することは潜在的リスクを秘めると考える。したがって、術前に加えて術後も ICG 試験を行うことが肝機能再生のリアルタイム評価や術後の肝機能評価に有用ではないかと考える。

## 倫理的配慮

本研究は岐阜医療科学大学動物実験委員会の許可（許可番号 2024-10-02）を受けて実施した。

## 利益相反

本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業等はありません。

## ■文献

- 1) Yuichiro M *et al.*: "Hypertrophy and Unconventional Cell Division of Hepatocytes Underlie Liver Regeneration," *Current Biology*, 2012; 22(13): 1166-1175.
- 2) Krenzien F *et al.*: "Liver Transplantation and Liver Resection for Cirrhotic Patients with Hepatocellular Carcinoma: Comparison of Long-Term Survivals," *Journal of Gastrointestinal*

*Surgery*, 2018; 22(5): 840-848.

- 3) Van Haele M *et al.*: "Human Liver Regeneration: An Etiology Dependent Process," *Int J Mol Sci*, 2019; 20(9): 2332.

4) 菅原泰彦, 他: 「生体関連肝移植のための安全なドナー肝切除術」, *Liver Transplantation*, 2002; 8(1): 58-62.

- 5) Qiu C *et al.*: "Multi-parametric magnetic resonance imaging of liver regeneration in a standardized partial hepatectomy rat model," *BMC Gastroenterol*, 2022; 22: 430.

6) Berardi G *et al.*: "Development of a nomogram to predict outcome after liver resection for hepatocellular carcinoma in Child-Pugh B cirrhosis," *Journal of hepatology*, 2020; 72(1): 75-84.

- 7) Cipe G *et al.*: "Living-Donor Hepatectomy," *Transplantation Proceedings*, 2011; 43(3): 888-891.

8) 木下博明, 他: 「肝切除術後の管理」, *腹部救急診療の進歩*, 1992; 12(2): 197.

- 9) 田尻和人, 清水幸弘: 「高齢者の肝臓生理と肝疾患」, *World J Gastroenterol*, 2013; 19(46): 8459-8467.

10) Schiergens TS *et al.*: "Liver resection in the elderly: singificance of comotbidities and blood loss," *J Gastrointest Surg*, 2014; 18(6): 1161-1170.

- 11) Portolani N *et al.*: "Limited Liver Resection: A Good Indication for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma in Elderly Patients," *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 2011; 41(12): 1358-1365.

12) Hiroki K *et al.*: "Safety and feasibility of liver resection including major hepatectomy for geriatric patients with hepatocellular carcinoma: a retrospective observational study," *BMC Cancer*, 2024; 24(1): 765.

- 13) Martins PN *et al.*: "Rodent models of partial hepatectomies," *Liver International*, 2007; 28(1): 3-11.

- 14) 松野晃子, 他:「ラット総胆管結紮による胆管閉塞モデルの作製」, 実験動物技術, 2022; 57(2): 67-70.
- 15) 小西孝宜, 鍋谷圭宏:「腸管循環: 胆汁酸サイクルを中心に」, 外科と代謝・栄養, 2013; 47(1): 42.
- 16) 早川敏之, 岩城隆昌:「Gross Photograph of the viscera (brachial plexus, vagus nerve and phrenic nerve): ventral view Jcl: SD ♀ 5 week-old」, ラットの断面解剖アトラス, 34-40, 株式会社アズトリー, 東京, 2008.
- 17) Hammarstrom L *et al.*: “Factors predictive of bile duct stones in patients with acute calculous cholecystitis,” *Dig Sug*, 1998; 15: 323-327.
- 18) 西達也:「白血球はどのようにして炎症部位に集まるのか」, 化学と生物, 1995; 33(2): 88.
- 19) Aguilar-Ballester M *et al.*: “Impact of Cholesterol Metabolism in Immune Cell Function and Atherosclerosis. *Nutrients*, 2020; 12(7): 2021.
- 20) Weaver L *et al.*: “Biliverdin reductase and bilirubin in hepatic disease,” *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2018; 314(6): G668-G676.
- 21) K Hasegawa *et al.*: “Liver Cancer: Progress in Diagnosis and Treatments. Topics: VI. Progress in Treatments of Liver Cancer; 1. Liver resection for hepatocellular carcinoma,” *Nihon Naika Gakkai Zasshi*, 2014; 103(1): 71-77.
- 22) 澤田拓樹, 他:「胆管閉塞ラットを用いた臨床検査学的検索」, 岐阜県臨床検査技師会誌, 2023; 156(52): 1-8.
- 23) Ni Y *et al.*: “Potential role of bile duct collaterals in the recovery of the biliary obstruction: experimental study in rats using microcholangiography, histology, serology and magnetic resonance imaging,” *Hepatology*, 1994; 20(6): 1557-1566.
- 24) Azmaiparashvili E *et al.*: “Biliary hypertension as the cell proliferation trigger in bile duct ligated rats,” *Georgian Med News*, 2009; 168: 111-116.
- 25) Azmaiparashvili E *et al.*: “DUCTULAR REACTION AT THE EARLY AND LATE STAGES OF BILIARY OBSTRUCTION : IS THE MECHANISM THE SAME? ” *Georgian Med News*, 2019; 286: 100-106.
- 26) Grisham JW *et al.*: “A morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver ; autoradiography with thymidine-H3,” *Cancer Res*, 1962; 22(7): 842-849.
- 27) 榎本克彦, 他:「肝再生と類洞内皮細胞」, 生化学, 2012; 84(8): 642-648.
- 28) 鈴木範男, 他:「肝切除に伴う門脈圧の変動とその背景因子に関する臨床的研究」, 日消化会誌, 1987; 20(10): 2317-2326.
- 29) 堀佑太郎, 他:「術前肝機能不良の肝門部胆管癌に対する右三区域切除術において脾摘術にて門脈圧のコントロールを行った1例」, 日本消化器外科学会雑誌, 2018; 51(1): 57-64.
- 30) 藤澤知雄, 田中靖彦:「Fontan 循環における肝合併症. PEDIATRIC CARDIOLOGY and CARDIAC SURGERYVOL, 2013; 29(4): 162-170.
- 31) Maruhashi S *et al.*: “Effect of portal hemodynamics on liver regeneration studied in a novel portohepatic shunt rat model,” *Surgery*, 2004; 136(5): 1028-1037.

## **Clinical studies on the postoperative course of a rat model of hepatic lobectomy**

Sana Odachi <sup>1)</sup> Suzusa Kato <sup>1)</sup> Fu Kawabe <sup>1)</sup> Hina Kato <sup>1)</sup>

Kotona Furukawa <sup>1)</sup> Akane Hirata <sup>1)</sup> Ryota Matsuoka <sup>1)</sup> Yasuhisa Nakagawa <sup>1)</sup>

1) Department of Medical Technology School of Health Sciences Gifu University of Science  
(795-1 Nagamine Ichihiraga, Seki, Gifu, 501-3892, Japan.)

### **Summary**

The liver demonstrates remarkable regenerative capacity, resuming function after approximately 70% of its mass has been removed. However, postsurgical complications and potential liver dysfunction may be fatal. We investigated postoperative changes in a rat model of partial hepatic lobectomy. Male rats ( $n=24$ ), aged 9 weeks, were assigned randomly to partial hepatic resection (HR,  $n=12$ ) and sham surgery (control; SH,  $n=12$ ). Subgroups ( $n=4$  each) underwent dissection immediately (HR 0, SH 0) and one (HR 1, SH 1) and two (HR 2, SH 2) weeks post-surgery. Abdominal ultrasound was conducted on postoperative days 4 and 11; laboratory tests, along with pathologic analysis of the excised liver, were performed at autopsy. Ultrasonography revealed hepatomegaly on day 4; however, the liver's intricate structure made detailed determination challenging. The liver regained its original weight within 1–2 weeks following resection. No significant findings were observed on laboratory tests. The indocyanine green (ICG) test showed significant residual blood at HR 0 and 1. Thus, despite increased liver weight, liver function did not recover. Pathological examination revealed the absence of ductular reaction or liver fibrosis. However, HR 1 demonstrated a notable increase in the number of hepatocyte nuclei and prolongation of the distance between the interlobular bile ducts and the central vein. No distance prolongation was observed in HR 2. Given the potential time lag between hepatocyte and vasculature differentiation and the inherent risks associated with prognosis based on ultrasonography and general laboratory tests, an ICG study may prove beneficial in the postoperative assessment of liver regeneration.

**Key words:** Hepatic lobectomy, Rats, Clinical tests, ICG test