

肝十二指腸間膜遮断下門脈内動脈血送血の 安全域に関する実験的研究

岡山大学医学部外科学第一講座 (主任：田中紀章教授)

森 隆

(平成10年3月10日受理)

Key words : double catheter bypass of portal circulation,
arterialization of the portal vein, hepatic ischemia,
en block resection of the hepatoduodenal ligament

緒 言

胆管癌は比較的早期より神経(鞘)やリンパ管・静脈をつたって肝十二指腸間膜内に浸潤し、近接する門脈や肝動脈に浸潤する傾向がある。したがって、切除術式は門脈や肝動脈を剥離・温存するのではなく腫瘍とともに一括切除することがより合理的である。

三村らは門脈二重バイパス法(上腸間膜静脈-大腿静脈バイパス, 肝側門脈-大腿動脈バイパス)を考案し、はじめて肝十二指腸間膜切除を実際に臨床でおこない、その有用性を報告した¹⁾。

肝門部での肝への流入血管を完全に遮断する場合に問題となるのは、肝虚血と上腸間膜静脈系の鬱滞である。我々はこのふたつの問題を解決するための基礎的研究を雑種成犬モデルを用いて進めてきた。木村は、従来の腸側門脈-肝側門脈バイパスにおける問題点と、門脈二重バイパス法の利点を報告した²⁾。門脈二重バイパス法は肝虚血に対しては、大腿動脈-肝側門脈バイパスを作製し動脈血を流量を調節しながら肝臓へ送り肝障害を最小限度に抑えることを目的としているが、この際の送血量安全域の設定が重要課題となる。これを知る目的で坂田が、肝組織内エネルギー代謝と肝組織血流の面から動脈血送血量安全域下限は総肝血流量の10%と25%の間にあることを報告し³⁾、また細羽は、門脈二重バイパス法が一時的な体外循環であること

から、全身循環動態および臓器組織血流の面から送血量の安全域を検討し、その上限が総肝血流量の50%と75%の間にあることを報告した⁴⁾。

今回は、この二重バイパス施行時の動脈血送血量の安全域を肝組織所見の変化から検討した。

対象と方法

1. 実験モデルの作製

体重10kg前後の雑種成犬をベントバルビター(25mg/kg)による静脈麻酔の後、気管内挿管して人工呼吸器により調節呼吸(FiO_2 : 21%)とし、 PaO_2 150mmHg, $PaCO_2$ 30mmHg前後に維持した。体位は仰臥位に固定し、外頸静脈よりアトム栄養チューブを挿入して血管確保し生理食塩水を20ml/kg/hrで持続点滴した。心電図および動脈圧のモニターをおこなった。

腹部正中切開で開腹し、臍の背側から肝門側に向けて門脈を剥離し、さらに固有肝動脈・胆管を露出した。ついで外腸骨動・静脈を露出した。ここで門脈と固有肝動脈の血流量を電磁流量計(日本光電社製 MFV-3100)で測定し、その合計を総肝血流量とした。

ここで外腸骨動脈から肝側門脈へ透析回路(カワスミ人工腎臓用ディスプレイ血液回路)を用いてバイパスを(外腸骨動脈-肝側門脈バイパス)造設、その途中に透析用ローラーポンプ(ニプロ社製 BP-1, BLOOD PUMP)を設置して流量調節ができるようにした。また腸側門脈から外腸骨静脈へアンスロンチューブ

(VTT-51160) を用いてバイパス (腸側門脈—外腸骨静脈バイパス) を設置した (図 1)。ヘパリンを 100U/kg 投与後、肝門部で固有肝動脈を胆管を除いた肝十二指腸間膜組織とともに結紮し、ただちにバイパス循環を開始した。

2. 実験群の設定

先に述べた総肝血流量を 100% として、肝側門脈に送血する動脈血流量により、0, 10, 25, 50, 75, 100% の 6 群と、単開腹のコントロール群を設定した。各群とも $n = 3$ (ただし、50% 群のみ $n = 2$) とした。

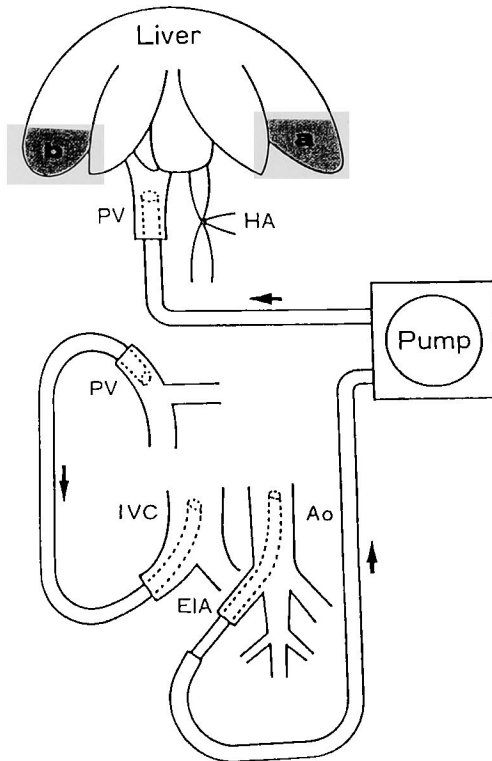


図 1 門脈二重バイパス実験モデル
このモデルは外腸骨動脈—肝側門脈バイパスと腸側門脈—外腸骨静脈バイパスからなり、前者の途中にローラーポンプを設置して肝側門脈へ送る動脈血流量を調節する。
PV : 門脈 Ao : 腹部大動脈
HA : 固有肝動脈 EIA : 外腸骨動脈
IVC : 下大静脈
a : 外側左葉の標本採取部位
b : 外側右葉の標本採取部位

3. 肝組織の採取と試料の作製

肝組織採取はバイパス施行群ではバイパス開始後 2 時間、コントロール群では開腹 2 時間後におこなった。

光学顕微鏡用の試料は 10% ホルマリン溶液に固定した後、パラフィンに包埋して切片をつくりヘマトキシリン—エオジン (H-E) 染色を施し検鏡した。

電子顕微鏡用試料は、採取後直ちに氷冷した 2.5% グルタルアルデヒドにて仮固定の後、すみやかに $1 \times 1 \times 1$ mm 大に細切して、さらに 2 時間、2.5% グルタルアルデヒドで固定した。その後、燐酸緩衝液でリンスして 4℃ にて保存し、翌朝オスミウムで 2 時間固定後アルコール脱水系列、プロピレンオキサドを経てエポン樹脂に包埋した。これをウルトラミクロトームで超薄切し、ウラン・鉛二重染色を施して検鏡した。

4. 検 鏡

光学顕微鏡標本は、H-E 染色標本によって各群を比較検討した。透過型電子顕微鏡試料は、はじめ外側左葉で Rappaport の zone 1 と zone 3 にわけて検鏡し、ついで 0%, 10%, 25% については、同一小葉内での変化を比較するために zone 1 ~ zone 3 のすべてを含む大型の切片を切り出して検鏡した、とくに問題となる所見は、低流量群での虚血性的変化であり、0% 群とコントロール群とを比較してその形態学的な相違を虚血変化としてとらえて、他の群の観察を行った。また低流量群では灌流に不均等を生じる可能性があるため、重力が血流に影響を及ぼす可能性を考慮して、実験モデルでもっとも高い位置になる外側左葉ともっとも低い位置になる外側右葉についても比較した。

結 果

1. 光学顕微鏡 (以下、光顕) による観察

光顕像では、0% および 10% 灌流群で zone 3 を中心とした肝実質細胞の淡明化と腫大がみられた。また、類洞内に血液の鬱滞もみられた (図 2. a, b)。

25% (図 2. c) および 50% 灌流群ではとくに変化はみられなかった。

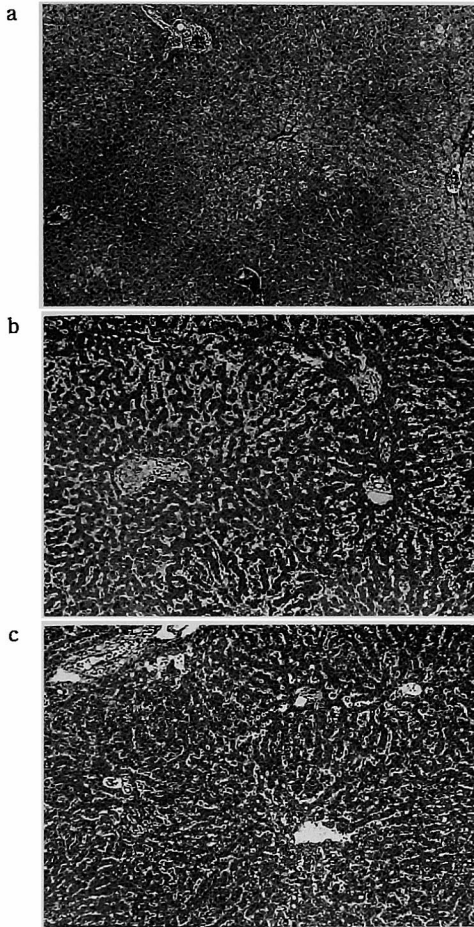


図2 0%, 10%, 25%灌流群の光顕像 (H-E, ×66)

- a : 0%灌流群. 類洞の鬱血と肝細胞の腫大および淡明化がみられ, とくに zone 3 に著明である.
- b : 10%灌流群. 肝細胞の腫大と淡明化がみられ, とくに zone 3 に著明である.
- c : 25%灌流群. コントロール群と比較して特別な変化はみられない.

75%と100%灌流群ではコントロール群(図3. a)とくらべて肝実質細胞に著変はなかったが, 75%灌流群では3例中1例に, また100%灌流群では3例すべてに Glisson 鞘に浮腫が観察された(図3. b).

2. 電子顕微鏡 (以下, 電顕) による観察

1) 0%灌流群 (肝虚血群)

コントロール群 (図4. a, b, c) と比較

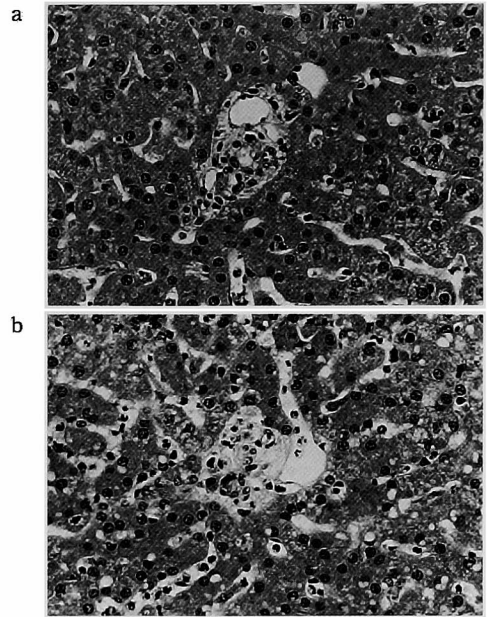


図3 コントロール群と75%灌流群の光顕像 (H-E, ×264)

a : コントロール群 b : 75%灌流群

75%灌流群では Glisson 鞘に浮腫がみられる. この変化は75%灌流群3例のうち1例と100%灌流群3例全例にみられた.

して0%灌流群(図4. d, e, f)では以下のような変化が観察された. ①ミトコンドリアの膨化が著しく, クリステの断裂がみられた(図4. e, f). ②滑面小胞体は小さく断裂して著しい腫脹がみられた. 粗面小胞体数の減少がみられた(図4. e, f). ③細胞の浮腫に基づく変化として, 毛細胆管の狭小化(図4. f), 肝細胞表面の微絨毛構造の消失(図4. e), Disse腔の閉塞(図4. d, e)がみられた. ④類洞に鬱滞像(図4. d, e)がみられるものもあった.

2) 10%灌流群

10%灌流群では, 0%灌流群でみられたと同様の変化が観察された(図5. d, e, f). しかし, 0%灌流群とくらべて電顕像では採取部位により障害の程度にばらつきがみられ, わずかにミトコンドリアが腫大し滑面小胞体が拡張する程度の場合もみられた(図5. a, b, c).

光顕像では, zone 3 を中心として肝細胞の浮

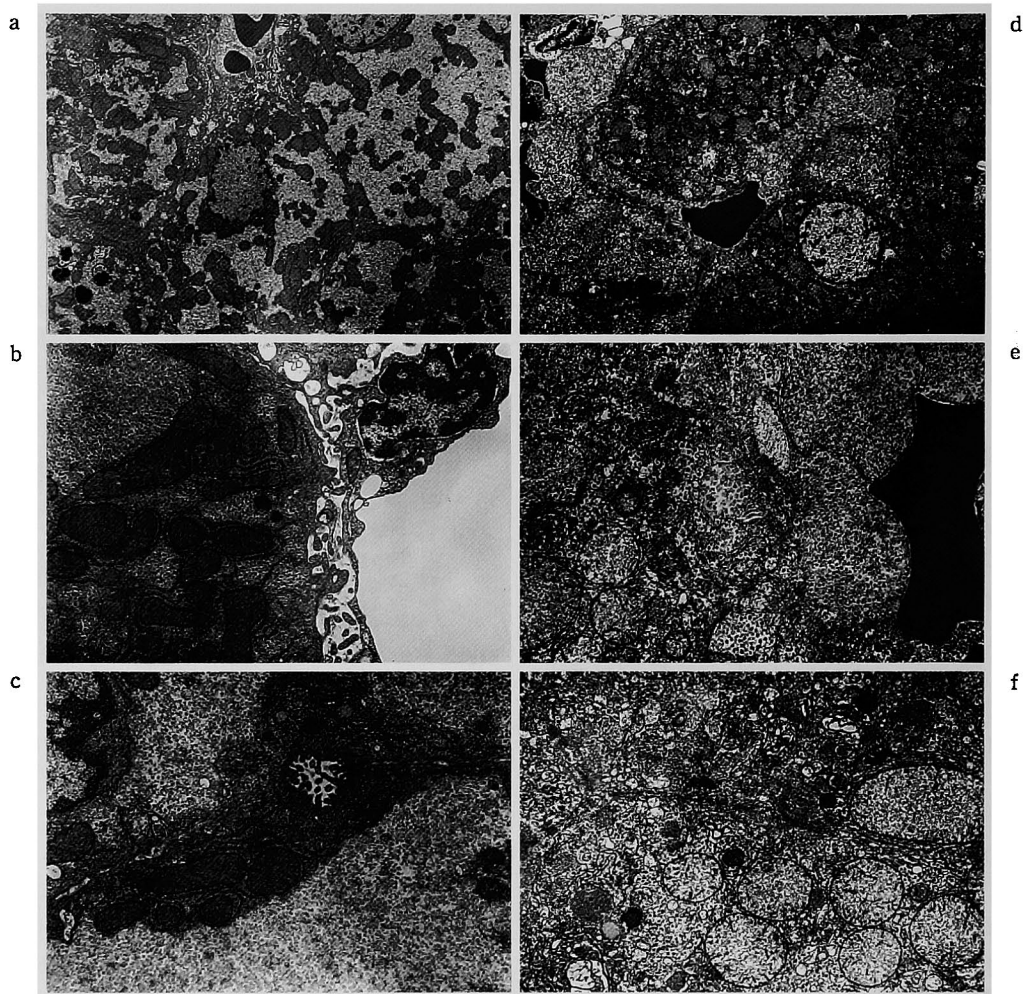


図4 コントロール群 (a, b, c) と0%灌流群 (d, e, f) の電顕像

a, b: $\times 2000$ b, c, e, f: $\times 8000$

コントロール群と比較すると、0%灌流群では類洞が血球成分と細胞内容物で充満し、Disse腔も細胞内容物で充満している。肝細胞表面の微絨毛は消失し、毛細胆管は閉塞している。肝細胞内部では、ミトコンドリアの膨化が著明で、破裂しているものがみられる。粗面小胞体は消失し、滑面小胞体は拡張し断裂している。

腫と淡明化がみられたが電顕像では zone 1 から zone 3 までを含む大型の切片を切り出して観察したが、その違いは明瞭ではなかった。

3) 25%以上の灌流群の電顕像

25%, 50%, 75%, 100%灌流群において、肝実質細胞には著変をみなかった(図6. a, b). 25%灌流群では zone 間の差はみられなかった。

4) 肝葉による所見の相違

低流量群においては重力による灌流むらがあ

きる可能性を考慮して外側左葉と外側右葉からの試料を検鏡比較したが、形態的にみると障害の程度に違いはみられなかった。

考 察

肝十二指腸間膜一括切除の際の門脈・肝動脈同時遮断時における肝血流の維持は術後の肝機能保持の点から極めて重要で、我々は、臨床では大腿動脈-門脈バイパスによって肝門脈に

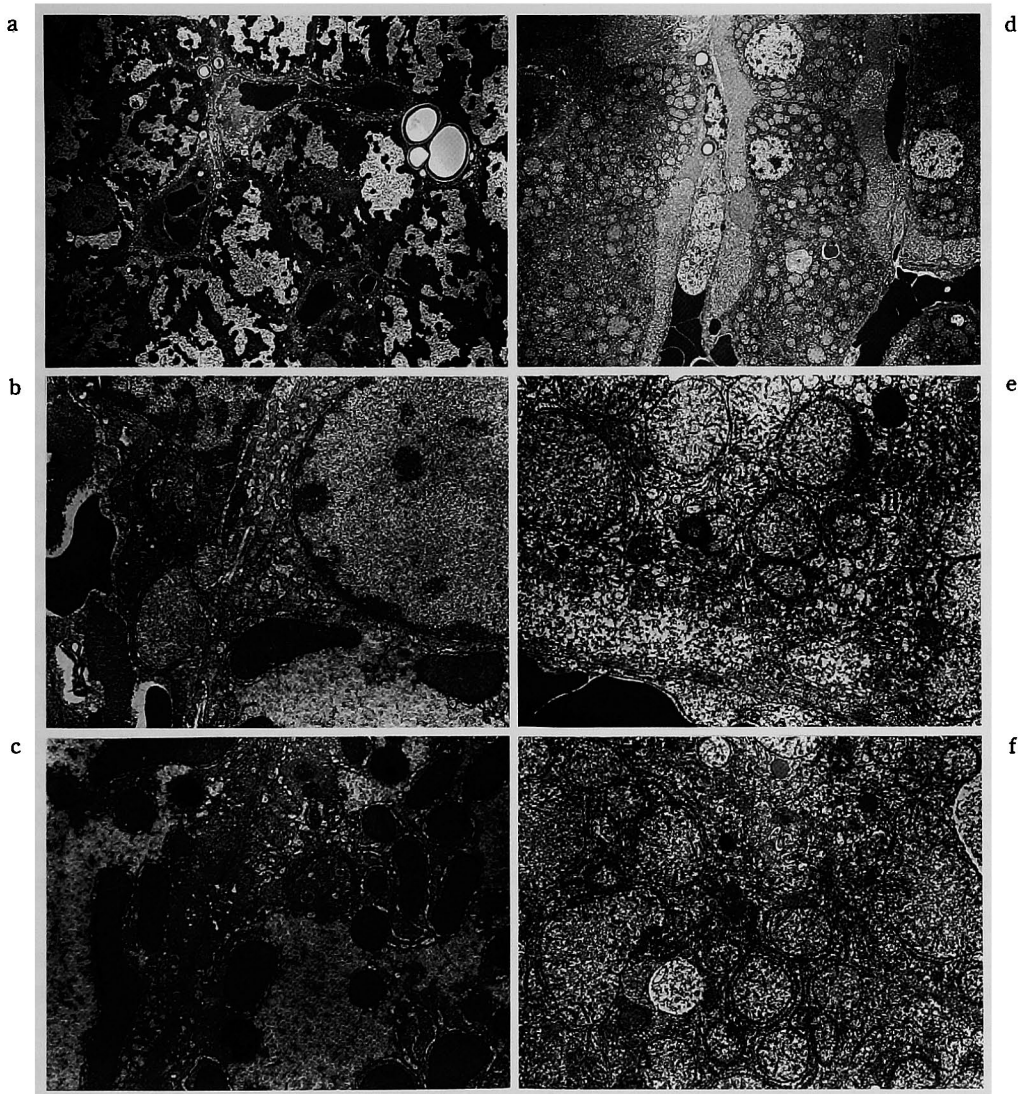


図5 10%灌流群の電顕像

a, d: $\times 1000$ b, c, e, f: $\times 8000$

a: コントロール群と比較して特に目立った変化は認められない。

b: 滑面小胞体が軽度拡張し、肝表面に bleb がみられる。

c: 毛細胆管が狭小化している。

d, e, f: 0%灌流群(図4)と同様の変化がみられる。

能動的に動脈血を送血することで術中の肝の viability をよりよい状態に維持できることを経験した。これを裏付ける実験的研究としてこれまで肝エネルギー代謝と全身循環動態の面から動脈血送血量の安全域について検討をおこなってきた^{4,5)}が、今回はさらに組織学的な面より検

討をおこなった。

肝虚血による肝細胞障害の形態的特徴は、肝細胞膜の表面の微絨毛構造の消失と新たな細胞膜の突出⁶⁻⁹⁾、ミトコンドリアの腫大とクリステの断裂^{6,9)}、粗面小胞体からのリボソームの脱落と滑面小胞体の fragmentation と拡張⁹⁾、類洞

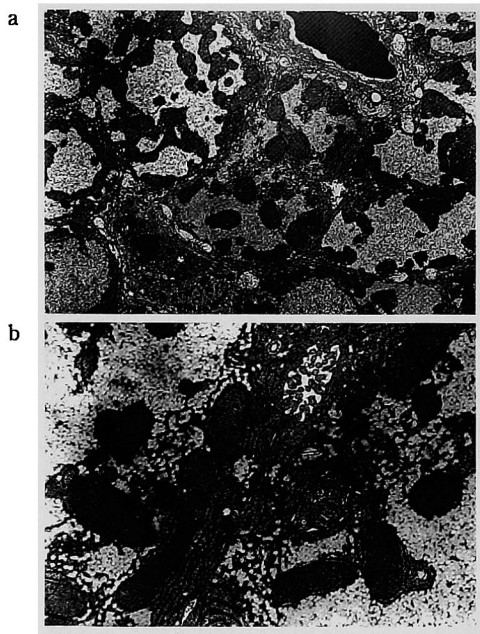


図6 25%灌流群の電顕像
a : ×2000 b : ×8000
コントロール群と比較して変化はみられない。

の鬱血^{7,9)}などであり、これらの変化は今回の実験の0%灌流群に認められた。

Frederiksらはラットで類洞とDisse腔の変化について、30分の虚血では、直後に類洞の鬱滞と肝細胞表面にblebの出現が認められるが再灌流後24時間ではほぼ正常に復するのに対し、90分の虚血後には類洞壁や肝細胞膜の破壊が認められさらに再灌流して24時間後には類洞内に肝細胞からの細胞内小器官の逸脱がみられたと述べている⁷⁾。実験では、肝門部血流遮断後2時間およびバイパス開始後2時間で肝組織を採取したが類洞周辺の変化としては、類洞の鬱滞とblebと考えられる構造物の出現を0%灌流群と10%灌流群に認め、障害の程度としてはFrederiksらのラットでの30分虚血に相当すると考えられた。25%以上の流量で灌流した群では、これらの虚血性変化はみられなかった。この結果は、肝機能の点から肝組織内ATP量およびEnergy Chargeが0%および10%灌流群でバイパス前値と比較して著明に低下し、25%以上の群でバイパス前値がよく維持されたという坂田の報告⁴⁾と

合致する。また、水素クリアランス法、レーザードップラー法によって測定した肝組織血流量が10%灌流群と25%灌流群では灌流中、前者が有意に低流量になったという坂田および細羽の報告^{4,5)}とも合致する。

肝への流入血行遮断時に肝虚血を防止する方法としては上腸間膜静脈と門脈臍部あるいは肝側門脈をカテーテルでバイパスする方法も報告されている¹⁰⁾が、この方法ではポンプを介在させない限り肝への流入血流量は上腸間膜静脈と肝内門脈の圧差によって変動し不安定である。この方法については、バイパス前の門脈血流量の63%の流量が得られ60分間の肝血行遮断では肝エネルギー代謝や光学顕微鏡レベルで肝組織に悪影響を与えなかったとの報告¹¹⁾や、バイパス前の門脈血流量の60%のバイパス流量が得られ門脈血のPaO₂がバイパス前値を安定して維持でき、術中の肝虚血と腸管循環の鬱滞が防止しえたとの報告¹²⁾がある。三村らもはじめこの方法を臨床に用いた¹³⁾が、十分な血流量が確保できなかったためと思われる術後の肝不全を経験した。そこで動脈血送血法を導入して十分な血液供給量を確保することで自由な流量調節が可能となった¹⁴⁾。三村らによる臨床での肝十二指腸間膜切除症例では二重バイパス循環時間は肝切除や臍切除の併施の有無によって差があり、28分と短い症例から6時間15分とかなり長い時間を要した症例まであり^{15,16)}、これだけ長い遮断時間でも安定した補助循環でなくてはならない。門脈二重バイパス法において動脈血を使用する利点のひとつは酸素の供給にあり、比較的低流量でも肝虚血を防止できる。熊田らは60分間の阻血によってEnergy Chargeが低下した肝臓に動脈血を送血すると、総肝血流量の約25%の低流量でも早期に肝Energy Chargeが回復すると報告している¹⁷⁾。坂田のエネルギー代謝の実験⁴⁾および今回の実験結果から門脈二重バイパスにおいて肝側門脈への動脈血送血量の安全域下限は総肝血流量の10%と25%の間にあると考えられた。

一方、今回の実験で、75%と100%の高流量灌流群に光学顕微鏡レベルでの観察でGlisson鞘の浮腫が認められたのが注目される。門脈動脈

化の際、流入動脈の血流量が多いとき門脈の閉塞が起こることが報告されており¹⁸⁻²⁰⁾、動脈血流量を少なく設定するとこの閉塞を回避できる²¹⁻²⁴⁾。本実験で Glisson 鞘の浮腫がわずか2時間で生じた変化であることを考えると門脈の閉塞につながる原因に十分なりうるものと考えられた。そして、動脈血送血量安全域の上限は、全身循環動態、臓器組織血流の実験⁹⁾および今回の実験から総肝血流量の50%と75%の間にあると考えられた。

結 語

肝十二指腸間膜全切除の際の肝動脈・門脈完全遮断時の補助体外循環法として考案された門脈二重バイパス法の実験モデルで肝側門脈への動脈血送血量の安全域を肝組織所見の変化から検討した。電磁流量計で測定した正常時の固有肝動脈血流量と門脈血流量の和を総肝血流量と

して、その0%、10%、25%、50%、75%、100%に相当する動脈血を肝側門脈に送血してバイパス2時間後に肝組織を採取する群とコントロール群の肝組織所見を比較した。0%および10%群では虚血性の変化がみられたが、25%以上の群ではこの変化はみられず、安全域の下限は10%と25%の間にあると考えられた。高流量群では75%と100%群で Glisson 鞘の浮腫がみられ、安全域の上限は50%と75%の間にあると考えられた。

本論文の要旨は第35回日本消化器外科学会総会、第90回日本外科学会総会において発表した。本実験研究費の一部は厚生省がん研究助成金(胆嚢・胆管がんの集学的治療に関する研究班)、文部省科学研究費(肝門部肝血行遮断時における肝血行確保の基礎的・臨床的研究—研究課題番号63570638)によった。

文 献

- 1) 三村 久, 金 仁洙, 高倉範尚, 浜崎啓介, 落合陽治, 作本修一, 小沢 健, 折田薫三: 胆管癌に対する肝十二指腸間膜全切除術。大腿動脈・門脈臍部および上腸間膜静脈・大腿静脈の二重バイパス法による。手術(1987) **41**, 161-165.
- 2) Mimura H, Kim H, Ochiai Y, Takakura N, Hamazaki K, Tsuge H, Sakagami K and Orita K: Radical block resection of hepatoduodenal ligament for bile duct cancer with double catheter bypass for portal circuration. Surg Gynecol Obstet (1988) **167**, 527-529.
- 3) 木村敏明: 肝門部全血行遮断時のカテーテルバイパス法による肝血行確保に関する実験的研究。日消外会誌(1991) **24**, 1954-1963.
- 4) 坂田龍彦: 肝門部肝血行遮断時の肝循環確保に関する実験的研究。肝エネルギー代謝からみた門脈二重バイパス法における送血量安全下限域。日外会誌(1990) **92**, 331-338.
- 5) 細羽俊男: 肝門部血行遮断時の門脈二重バイパス循環法に関する実験的研究—臓器組織血流および循環動態について—。岡山医会誌(1991) **103**, 1109-1119.
- 6) Bassi M and Bernelli-Zazzera A: Ultrastructural cytoplasmic changes of liver cells after reversible and irreversible ischemia. Exp Mol Pathol (1964) **3**, 332-350.
- 7) Frederiks WM, Myagkaya GL, Bosch KS, Fronik GM, Vogels VV and James J: The value of enzyme leakage for the prediction of necrosis in liver ischemia. Histochemistry (1983) **78**, 459-472.
- 8) Lemasters JJ, Sternkowski CJ, Sungchul JI and Thurman RG: Cell surface changes and enzyme release during hypoxia and reoxygenation in the isolated, perfused rat liver. J Cell Biol (1983) **97**, 778-786.
- 9) Flock A and Gillquist J: Changes of the ultrastructure of liver cells after shortlasting liver ischemia in dogs. Acta Chir Scand (1970) **136**, 405-411.
- 10) Nakao A, Nonami T, Harada A, Kasuga T and Takagi H: Portal vein resection with a new

- antithrombogenic catheter. *Surgery* (1990) **108**, 913—918.
- 11) 春日輝明, 中尾昭公: 腸間膜静脈 — 肝門部門脈カテーテルバイパス法の実験的検討. *日外会誌* (1992) **93**, 811—817.
 - 12) 福本 孝: 肝流入血行遮断時における門脈・肝内門脈バイパスの実験的研究 — バイパス流量の肝に及ぼす影響について. *日外会誌* (1989) **90**, 837—846.
 - 13) 三村 久, 金 仁洙, 折田薫三: 胆道癌における門脈合併切除の新しい試み. *胆と膵* (1987) **8**, 69—72.
 - 14) 三村 久, 高倉範尚, 浜崎啓介, 金 仁洙, 津下 宏, 落合陽治: 胆膵領域癌に対する肝十二指腸間膜切除, 肝切除, 膵頭十二指腸切除. *胆と膵* (1989) **10**, 133—141.
 - 15) Mimura H, Takakura N, Kim H, Hamazaki K, Tsuge T and Ochiai Y: Block resection of hepatoduodenal ligament for carcinoma of bile duct and gallbladder. *Surgical technique and a report of 11 cases. Hepatogastroenterol* (1991) **38**, 469—568.
 - 16) Mimura H, Takakura N, Kim H, Ochiai Y, Hamazaki K and Tsuge H: En block resection of the hepatoduodenal ligament for carcinoma of the bile duct, gallbladder and pancreas. Edited by Hanyu F. *Hepatopancreatoduodenectomy. Springer-Verlag, Tokyo*, (1996) p 97—111.
 - 17) 熊田 馨, 山口真彦, 東山 洋, 森本泰輔, 真田 裕: 門脈の一時的動脈化 — 肝臓外科における効用の検討. *外科* (1992) **54**, 851—854.
 - 18) Rather LJ, Cohn R and Calif SF: Some effects upon the liver of complete arterialization of its blood supply. *Surgery* (1953) **34**, 207—210.
 - 19) McCredie JA, Doggart JR and Welbourn RB: Total arterialization of the liver. *Br J Surg* (1957) **45**, 83—100.
 - 20) Lecompe Y, Franco D, Martin ED and Bismuth H: Liver arterialization with portacaval shunt in cirrhotic rat. *Surgery* (1974) **75**, 161—168.
 - 21) Adamsons RJ, Arif S, Babich A, Butt K, Lam A and Minkowits S: Arterialization of the liver in combination with a portacaval shunt in the dog. *Surg Gynecol Obstet* (1975) **140**, 594—600.
 - 22) Asakawa H, Kasai S and Mito M: Flow-and pressure-adapted portal arterialization in dogs. *Jpn J Surg* (1985) **15**, 291—298.
 - 23) Saric J, Faugon H, Beliard R, Perissat J, Balabaud C, Dubuisson L and Bioulac P: Liver arterialization improves hepatocytes ultrastructure in rats with portacaval shunts. *Dig Dis Sci* (1981) **26**, 225—231.
 - 24) 水戸迪郎, 浅川全一: 門脈圧亢進症に対する門脈動脈化手術. *消外* (1983) **6**, 1379—1385.

Experimental study on the maintenance of hepatic circulation with arterial blood through a catheter bypass during total vascular clamping at the hepatic hilus

Takashi MORI

First Department of Surgery

Okayama University Medical School

Okayama 700-8558, Japan

(Director : Prof. N. Tanaka)

This study was designed to determine the safe range of the arterial blood flow rate into the portal vein through a catheter bypass under the condition of total vascular clamping at the hepatic hilus in mongrel dogs. A control group and 6 experimental groups were prepared according to the arterial blood flow rates through the bypass, 0, 10, 25, 50, 75 and 100% of the normal total hepatic blood flow volume. After 2 hours of bypass circulation, the dogs were sacrificed and the hepatic tissues of all groups were examined by light microscopy and transmission electron microscopy. Compared with the control group, ischemic changes were observed in the 0% and 10% groups, while there were no particular changes in the other groups. Edema in the Glisson's sheath was observed in the 75% and 100% groups, while there was no edema in the other groups. The results demonstrated that the lower limit of the arterial blood flow rate through a catheter bypass to maintain the hepatic structure was between 10% and 25% and the higher limit was between 50% and 75% of the normal total hepatic blood flow volume.