

博士論文

論文題目 肝切除術後に生じる腹腔内癒着に関する
臨床医学的および基礎医学的検討

氏名 清水 篤志

目次

略語一覧	3
第1章 要旨	4
第2章 序文	5
第3章 肝切除術後の腹腔内癒着防止を目的とした合成吸収性癒着防止フィルムの有効性に関する臨床研究	
第1節 研究の目的	9
第2節 対象患者と方法	
第1項 臨床試験の公開	11
第2項 試験デザイン	12
第3項 対象	16
第4項 評価項目	17
第3節 結果	22
第4節 考察	27
第4章 ラットを用いた肝切除後腹腔内癒着モデルの開発と癒着防止バリア材料の有効性に関する実験的検討	
第1節 動物実験の必要性	33
第2節 対象動物と方法	36

第3節 癒着防止バリア材料	
第1項 既存の癒着防止材料	38
第2項 新規癒着防止材料としての生体内架橋ゲル	38
第4節 実験群	39
第5節 肉眼的評価	42
第6節 組織学的評価	44
第7節 統計解析	47
第8節 結果	
第1項 ラット肝切除後腹腔内癒着モデル	48
第2項 癒着防止材料の効果	50
第3項 組織学的評価	54
第9節 考察	56
第5章 本研究の意義と今後の展望	65
引用文献	72
公表	83
謝辞	85

略語一覧

HA ;hyaluronic acid ヒアルロン酸

CMC ;carboxymethylcellulose カルボキシメチルセルロース

ADH ; adipic acid dihydrazid アジピン酸ジヒドラジド

CHO ;aldehyde アルデヒド

LLL ;left lateral lobe 左外側葉

ML ;median lobe 中葉

RHA model ; rat hepatectomy adhesion model ラット肝切除癒着モデル

要旨

肝腫瘍に対する複数回目の肝切除術は、前回の肝切除により腹腔内に形成された癒着を剥離する操作が加わることにより手術の侵襲度が高くなる。本研究では生体吸収性癒着防止バリアであるセプラフィルム®の、肝切除術後の癒着防止効果の有無を前向き臨床試験にて検討した。その結果、肝切除にセプラフィルム®を使用すると次回肝切除時の癒着剥離時間が短縮される傾向が示された。

またラットを用いた動物実験にて、肝切除後に肝離断面に高率に癒着が誘導されることを確認した。新規材料を含む4種類の癒着防止バリア材料を使用し癒着防止効果を比較した結果、対照群に比べ酸化再生セルロースで有意な軽減効果を示したものの、完全に癒着を防止する材料はなかった。

第1章 序文

原発性肝癌および転移性肝腫瘍の、肝切除術後の残肝再発に対する複数回の肝切除 repeat hepatectomy (以下、再肝切除) は有効な治療と報告されており、世界的に広く受け容れられている[1-4]。

一般的に複数回目の手術は、過去の手術操作によって形成された癒着の影響を受けるため、初回手術に比べて手術手技が困難である[5]。肝切除においても、再肝切除は癒着剥離操作が加わることで手技は煩雑化し、周囲臓器損傷の合併症リスクが高まるなど、手術侵襲が増すことが知られている[6]。

癒着剥離操作は手術時間の延長や余計な出血につながるのみならず、特に経皮的ラジオ波焼灼療法や血管塞栓療法など手術以外の治療方法も選択肢にある場合、予想される癒着による手術侵襲の増加は再切除をためらう一因となる可能性がある。初回肝切除の時点で、将来の再肝切除に備えて術後の腹腔内癒着を軽減する方法があれば、再発治療時の手術手技の安全性の向上につながる事が期待でき、患者にとっても有益である。

しかし過去の腹腔内癒着についての臨床研究のほとんどは、消化器外科領域における腸管通過障害[7]や産婦人科領域における二次性の不妊症治療[8]を主

な評価対象としたものであり、肝切除後に生じる腹腔内癒着に対する詳細な検討はこれまでになされてこなかった。

現在、癒着防止のために広く行われている治療法は、癒着が完成するまでの術後早期に、癒着形成が予想される臓器同士を接触しないように隔離する癒着防止バリア材料の使用である。その中で、セプラフィルム® (Genzyme 社、Cambridge、米国) は開腹手術後の癒着軽減を目的に、広い領域の手術で臨床使用されている合成吸収性癒着防止フィルムである。その成分はヒアルロン酸 (hyaluronic acid; 以下 HA) ナトリウムと、カルボキシメチルセルロース

(carboxymethylcellulose; 以下 CMC) からなり、約 1 週間貼付部位の組織にゲルとして留まり、癒着が予想される組織同士を隔離し、28 日以内に生体内に吸収され体外に排出される[9-10]。

2009 年にコクラン共同計画が発表した、非産婦人科領域におけるセプラフィルム®使用についての、6 つのランダム化比較試験または準ラン

ダム化比較試験に対するメタ解析の対象は全て消化管手術を対象としているが、セプラフィルム®の癒着軽減効果および安全性が報告されている[7]。本邦において、セプラフィルム®は腹部手術の術後癒着軽減を目的として 1998 年より特定保険医療材料として使用が認められている[11]。肝切除術後のセプラフィル

ム®の使用についても、癒着軽減効果を有する可能性があるが、本研究を計画した時点で過去に臨床的検討の報告がなかった。

そこで本研究においては、セプラフィルム®を肝切除時に使用するという外科的介入を行い、その症例が将来再発時に再肝切除を行うことになった際に、腹腔内の癒着を評価し、セプラフィルム®の有効性及び安全性を評価した。

さらに臨床場面では十分に評価し得ない肝切除術後の腹腔内癒着の病態を探り、既存の癒着防止材料のみならず、新規癒着防止材料の有効性を評価するために、ラットを用いた動物実験を行った。

腹腔内癒着の動物モデルにはラットが多く用いられ、盲腸擦過モデル[12]、子宮核出モデル[13]、盲腸結紮穿刺モデル[14]、腹膜虚血ボタン作成モデル[15-16]など多数の報告があるが、肝切除後の腹腔内癒着についてのモデルは過去に報告されていない。しかし、前述のように再肝切除の治療としての有用性が示され、その頻度も高い以上、肝切除術後の癒着を軽減する治療法の開発のためには、適切な肝切除後の癒着モデルが必要と考えられる。

ラットを用いた肝切除モデルについては、過去にいくつか提唱されてきたが、それらの目的は肝再生、肝代謝能[17-18]や虚血再灌流障害[19]を研究するためのモデルであった。本研究では、もともと肝再生の研究で用いられてきた Higgins と Anderson により報告されたラットの古典的な肝切除[20]、すなわち全肝の約

70%切除を行い、術後1週間で再開腹し再現性をもって腹腔内に癒着を形成するか否かを、過去の他の動物癒着モデルで用いられてきた癒着の評価法[21]を適用して検討を加えた。

このラット肝切除後癒着モデルによって、肝切除術の持つ潜在的な癒着誘導能を明らかにし、ヒトにおける肝切除後の癒着およびその防止方法の検討に対し基礎医学的な裏付けを試みた。

さらに、この癒着モデルに対して、すでに商品化されている癒着防止材料（セプラフィルム®、インターシード®[22]）に加え、近年兎を用いた盲腸擦過・腹壁欠損による癒着モデルにおいて癒着防止に有用と報告されたヒアルロン酸同士、あるいはヒアルロン酸とカルボキシメチルセルロースからなる生体内架橋ゲル材料[21, 23]を使用し、本モデルに対する各材料の癒着防止効果を評価した。

近年、治療としての再肝切除術の有効性の報告が増えてきている中で、その手術手技の安全性を高めることを目的とし、癒着軽減に努めることは重要であると考えられる。

第2章 肝切除術後の腹腔内癒着防止を目的とした合成吸収性癒着防止フィルムの有効性に関する臨床研究

第1節 研究の目的

肝切除時にセプラフィルム®を使用することにより、術後の腹腔内癒着防止効果が得られ再肝切除時の癒着剥離操作の負担が軽減されると仮説を立てた。

もしこの仮説が正しければ、セプラフィルム®を肝切除術時に使用することが、癒着軽減に有用である有力な根拠となりうる。逆に有用性が証明できなければ、むしろ医療経済に負担をかけるだけということになる。

東京大学肝胆膵外科（以下、当科）においては、2008年6月より術者の判断で症例を選んで、将来の再肝切除に備えて肝切除時にセプラフィルム®を使用してきた。セプラフィルム®の使用に伴う有害事象は特に経験していないが、その効果については報告がなく、その使用に関するエビデンスは乏しかった。

そこで本研究では、2010年1月より、当科での原発性肝癌または転移性肝癌に対する肝切除の全例にセプラフィルム®を使用するという外科的介入を行い、再発時に再肝切除を施行するまで経過観察し、将来の再肝切除時を評価対象として前向きにデータを収集し、セプラフィルム®を使用していなかった過去の時

期における再肝切除症例（対照群：historical control 群）との間で比較を行うと
いう観察研究により、セプラフィルム®による肝切除術後の腹腔内癒着防止効果
の有無を評価することを目的とし研究を計画した。

第2節 対象患者と方法

第1項 臨床試験の公開

本試験のプロトコルは東京大学医学部附属病院倫理委員会による承認を受けた。プロトコルの概要は、大学病院医療情報ネットワーク (University Hospital Medical Information Network: UMIN) が管理運営する臨床試験登録 (UMIN-CTR) に登録され (登録番号: UMIN000003414) インターネット上で自由に閲覧可能である (<http://www.umin.ac.jp/ctr/index.htm>) (図1)。試験に参加した全患者から書面で同意を得た。

UMIN CTR 臨床試験登録情報の閲覧

BACK TOP UMIN-CTRホーム 用語の説明(簡易版) 用語の説明(詳細版) 準備中 FAQ

試験進捗状況 : **一般募集中/Open public recruiting**
(参加医療機関受診により、基準を満たせば被験者となる)

UMIN試験ID : UMIN000003414
試験名 : 肝切除術後の癒着軽減におけるセプラフィルムの有用性に関する検討
登録日 (= 情報公開日) : 2010/03/31
最終データ内容更新日時 : 2011/10/01 22:50:33

※ 本ページ掲載の情報は、臨床試験に関する情報公開を目的として、UMINが開発しているUMIN臨床試験登録システムに提供された臨床試験情報です。
※ 特定の医薬品や治療法等については、医療関係者や一般の方に向けて広告することは目的としていません。

基本情報 (Basic information)		
項目 (Item)	日本語 (Japanese)	英語 (English)
試験名 (Official scientific title of the study)	肝切除術後の癒着軽減におけるセプラフィルムの有用性に関する検討	Efficacy of Seprafilm for prevention of postoperative adhesions after liver surgery: clinical study
試験簡略名 (Title of the study (Brief title))	肝切除術後の癒着軽減におけるセプラフィルムの有用性に関する検討	Prevention of adhesions by Seprafilm after liver surgery
試験実施地域 (Region)	日本/Japan	

図1. UMIN ホームページ画面

第 2 項 試験デザイン

2010 年 1 月から 2011 年 12 月までの 2 年間に、当科において原発性肝癌または転移性肝腫瘍に対する肝切除を予定され、患者の承諾が得られた全症例を対象とし、セプラフィルム®（科研製薬より製品化されたもの）を通常の医用材料として購入し、保険診療の範囲内で使用した。

具体的な手術介入の方法を図 2 に示す。肝離断は Pringle 法による流入血間欠的遮断下にペアン破碎法にて行い、グリソン鞘は絹糸で結紮した。肝離断を終了し、標本摘出後肝離断面に止血目的のフィブリン糊を塗布し、温生理食塩水 2000~3000ml で腹腔内を洗浄し、ドレーンを原則として各離断面に留置した。ドレーンを留置後、閉腹直前のタイミングで、セプラフィルム®（12.7×14.7cm）を原則として 2 枚、貼付した。1 枚は正中創直下（大網で被覆できない部位を中心に、肝門部前面を可能な限り含める）に、もう 1 枚を残肝表面（肝離断面を避け、肝横隔膜面を可能な限り含める）に貼付した。

肝離断面にセプラフィルム®を貼付しなかった理由のひとつとして、術後の肝離断面に関連する合併症である出血や胆汁漏の発症率に対しセプラフィルム®の使用が悪影響を及ぼさないという確証がないことが挙げられ、本研究では安全性に配慮して肝離断面に直接セプラフィルム®を貼付することを控えた。

肝離断面に貼付しなかった理由のひとつとして、術後肝離断面に関連する合併症である出血や胆汁漏の発症率に対しセプラフィルム®の使用が悪影響を及ぼさないという確証がないことが挙げられ、本研究では安全性に配慮して肝離断面に直接セプラフィルム®を貼付することを控えた。

症例の除外基準は、①患者の同意が得られなかった症例、②胆管癌に対する肝切除症例、③腹膜炎症例、④腹腔内感染合併症例、⑤肝血管腫などの良性疾患に対する症例、⑥腹腔鏡下肝切除症例、⑦過敏症や重度の薬物アレルギーがある症例、⑧消化管手術の併施症例、⑨主治医が不適切と判断した症例とし、これらの症例に対しては、肝切除時にセプラフィルム®は貼付しなかった。

図 1 (A)



図 1 (B)

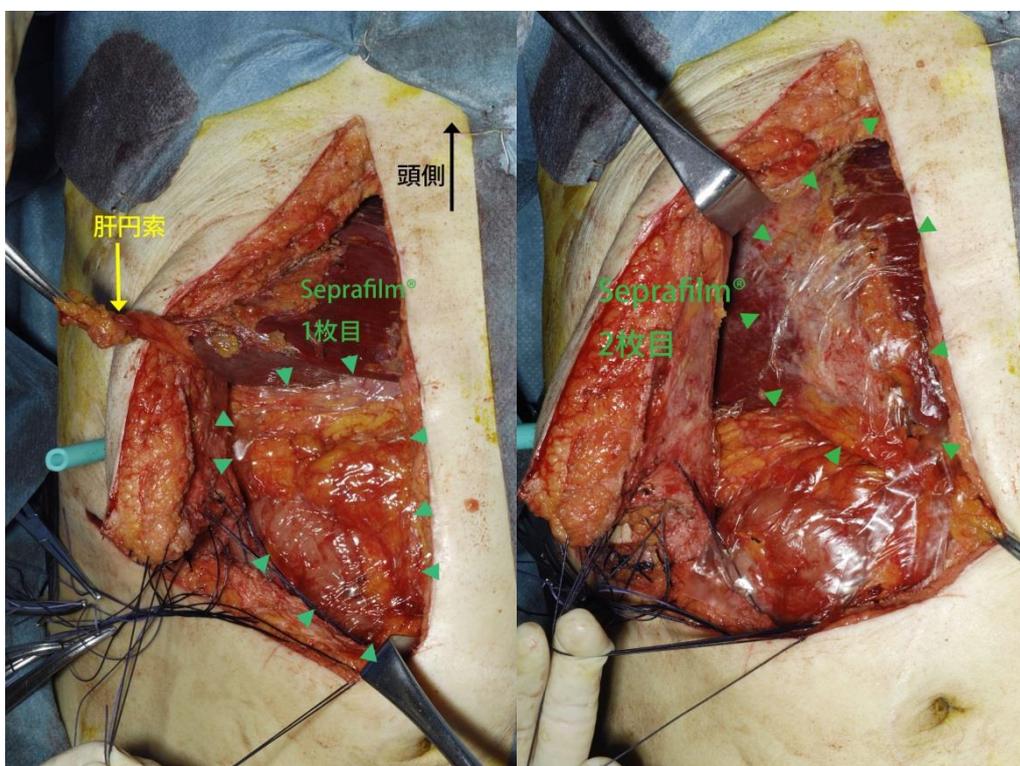


図 1 (A)セプラフィルム® : 12.7×14.7cm 大のフィルム状のシート。(科研製薬株式会社ホームページより) (B) J 字切開開腹下に S2、S5 の 2 か所の肝部分切除術終了前にセプラフィルム®を貼付している写真 (自験例・矢頭で貼付したセプラフィルム®の辺縁を示した)。1 枚を正中創直下 (大網で被覆できない部位を中心に、肝門部前面を可能な限り含める) に (左)、もう 1 枚を肝表面 (肝離断面を避けて、肝横隔膜面も可能な限り含める) (右) の計 2 枚をドレーン留置後に貼付する。

* サンプルサイズの設定

2005年から2006年にかけて、18か月の間に当科にて施行した、原発性肝癌および転移性肝腫瘍に対する肝切除症例423例の3年間の予後をretrospectiveに調査したところ、91例(21.5%)に対して、術後3年以内に再肝切除術を施行していた。

2年間をセプラフィルム®使用期間と設定し、その間に当科で行われる原発性肝癌および転移性肝腫瘍に対する肝切除術症例200例に対しセプラフィルムを使用すると予測した。そして再発時に再肝切除を施行する頻度を過去の症例と同程度と仮定すると、3年以内に40例が再肝切除となることが見込まれた。

セプラフィルム®を貼付した各症例は術後3年間を経過観察期間とし、最初の症例は2012年12月まで、最後の症例は2014年12月まで追跡し、その間に再発し再肝切除となる症例を前向きに集積し、再肝切除の時点でセプラフィルム群として観察評価した。

現在もフォローアップ期間内であり、症例集積中であるが、本研究では2013年12月現在において評価対象となったセプラフィルム群と、使用していなかった過去の再肝切除症例との間で比較検討を行った。

第3項 対象

前回肝切除時のセプラフィルム®の有無により、再肝切除時の腹腔内癒着の相違を比較検討するため、以下の2群を設定し、次章に述べる臨床データを用いて癒着軽減効果および安全性を評価した。

*セプラフィルム群

2010年1月から2011年12月までの期間内の肝切除時にセプラフィルム®を使用した症例をそれぞれ術後3年間経過観察し、2013年12月現在までに再発治療として、再肝切除を施行した症例をセプラフィルム群として評価した。

*対照群 (historical control 群)

比較対象として過去のセプラフィルムを使用していなかった時期の再肝切除症例とし、2008年から2009年までの2年間の間に再発治療として2回目以降の肝切除を行った症例で、なおかつ前回肝切除から評価時の肝切除までの期間が3年以内である症例を対象とした。同期間内でも以前の肝切除時にセプラフィルム®を使用していた症例は除外した。対照群の臨床データは、電子カルテ、手術記載、麻酔記録から抽出し、セプラフィルム群のデータと比較した。

第4項 評価項目

患者背景と手術関連因子は①年齢、②性別、③診断（原発性肝癌か転移性肝腫瘍か）、④術式（Couinaud の1区域以上の major 肝切除か否か）、⑤皮膚切開（J字切開または逆L字切開、正中切開、右開胸開腹連続斜切開）、⑥何回目の肝切除か、⑦前回手術から今回手術までの期間、⑧他臓器先行切除の有無⑨肝門部遮断操作の有無、につき各群間で比較検討した。

再肝切除においては、肝実質離断に先立ち、肝周囲の癒着剥離操作が必要である。肝離断中の出血コントロールのためには、肝の授動操作および、肝への流入血遮断(Pringle法)のための肝門部操作を要する。すなわち皮膚切開を置いてから肝離断開始までの手術所要時間には、開腹、癒着剥離、肝の授動、肝門部の剥離操作が含まれ、この時間は手術記録および麻酔記録から測定が容易である。

手術室において、手術開始時刻（患者に最初の皮膚切開を置いた時刻）と、肝門部遮断を開始した時刻、手術終了時刻（閉創が終了した時刻）は手術室看護師および麻酔科医により、術中麻酔記録に残された。

まず2006年6月から2007年6月までの1年間に当科にて施行された、原発性肝癌および転移性肝腫瘍に対する肝切除183例を、初回肝切除症例120例と

複数回目肝切除症例 63 例の 2 群に分けて、最初の皮膚切開から肝離断開始までの所要時間について、後方視的にデータ収集し両群で比較を行った。

その結果、手術開始から肝離断開始までの所要時間の中央値は、初回肝切除で 135 分、再肝切除で 215 分であり、有意差を持って後者の時間が長かった (P 値 <0.001)。

再肝切除におけるこの時間は腹腔内の癒着剥離操作の所要時間を含むため、癒着の程度を間接的に反映する客観的指標としてとらえられる。セプラフィルム®を前回手術で使用するにより、癒着が軽減されるならば、手術開始から肝離断開始までの所要時間が短縮されるものと考えた (図 3)。

以上より、本研究の主要評価項目は手術開始から肝離断開始までの所要時間とした。時間の測定は、手術開始時刻および初回肝門部遮断時刻 (肝離断開始時刻) を麻酔記録上に記録し、時間 (分) を算出し、両群間で比較した。

図 3 (A)



図 3 (B)



図 3 (A) 対照群（セブラフィルム®を以前に使用していない症例）大腸癌肝転移に対する右肝切除施行し閉腹前の写真（左）、同患者に対して3年後、残肝内再発時に再度肝切除施行した際、肝周囲の癒着剥離が終了した時点での術中写真（右）。肝周囲の癒着剥離時の後、肝門部流入血遮断（Pringle 法）下に、肝離断を施行した。開腹から肝離断開始までの所要時間は 161 分であった。（B）セブラフィルム群：初回肝切除時にセブラフィルム®を使用して再肝切除となった症例。肝細胞癌に対して肝 S7 亜区域切除を行い（左）、閉腹前に、肝門部から正中創直下にかけて1枚、肝表面に1枚セブラフィルム®を貼付した。同症例が1年後に再発し再肝切除を施行した。癒着剥離終了時の術中写真（右）。この症例では、癒着剥離操作が比較的容易に進み、開腹から肝離断開始までの所要時間は 105 分であった。

副次評価項目は手術開始から肝離断開始までの出血量、総手術時間、総出血量、術後1日目のドレーンビリルビン濃度、術後3日目のドレーンビリルビン濃度、術後3日目の血清CRP値、術後早期イレウス・胆汁漏・術後出血を含む合併症発生率とし、セプラフィルム®の肝切除術に対する安全性も評価した。

胆汁漏の定義と分類は、ISGLS (International Study Group of Liver Surgery)による国際基準を用い[24](表1)、外科的術後合併症はClavien-Dindo分類[25](表2)を用いて評価した。

全ての統計学的解析はIBM®SPSS® Statics19のコンピューターソフトを用いた。両群の患者背景と手術関連観察項目のうち、カテゴリー変数はFisherの正確率検定を用いて、連続変数はWilcoxonの順位和検定を用いて、両群の差を検定した。統計学的有意差はP値0.05未満と定義した。

表1:胆汁漏の定義とグレード分類(ISGLSによる)

肝胆膵外科手術後の胆汁漏	
定義	術後3日目における、ドレーンまたは腹水ビリルビン濃度の上昇(血清ビリルビン値の3倍以上)。胆汁回収のための介入または胆汁性腹膜炎による再開腹が必要な状態。
Grade A	臨床的管理に全く、あるいはほとんど変化を必要としない。
Grade B	臨床的管理に変化を与える(追加の診断的また介入的処置を要する)が、再開腹は要さない。またGradeAの胆汁漏が1週間以上続く場合。
Grade C	再開腹手術を要する。

表 1. ISGLS(International Study Group of Liver Surgery)により提案された基準に基づく胆汁漏の分類

表2:外科的合併症の分類(Clavien-Dindo分類)

重症度の定義	
Grade I	薬物治療もしくは外科的・内視鏡的。放射線学的治療加入の必要はないが、通常術後経過から逸脱している。制吐剤、解熱剤、鎮痛剤、利尿剤電解質補正、理学療法など治療計画に許容されるもの。
Grade II	Grade I で許容された以上の薬剤を利用した薬物治療。血液製剤や非経口栄養投与のすべてを含む。
Grade III	外科的、内視鏡的、放射線学治療介入の必要がある。
(a)	全身麻酔管理を要さない治療介入
(b)	全身麻酔管理下での治療介入
Grade IV	ICU管理を要する生命に危険の及ぶ可能性のある合併症(中枢神経系の合併症を含む)
(a)	単一臓器の障害
(b)	多臓器の障害
Grade V	患者の死亡

表 2.Clavien-Dindo 分類

第3節 結果

2010年1月から2011年12月までの期間に当科にて施行した、原発性肝癌および転移性肝腫瘍に対する肝切除は300例であった。そのうち、201例に対してセプラフィルム®を使用した。

99例に対しては、同意が得られなかった、結腸直腸切除等の消化管手術の併施、腹腔内感染合併、術中に肉眼的に胆汁漏が認められた、薬物アレルギー、術者が不適切と判断、などの理由でセプラフィルム®を使用しなかった。

セプラフィルム®を使用した201症例は術後3年をフォローアップ期間と設定したため、最後の症例は2014年12月には追跡期間終了となるが、本研究では2013年12月現在までの再肝切除症例を解析したところ、31例がセプラフィルム群として評価対象となった(図4)。

一方、対照群(非セプラフィルム群)は、2008年1月から2009年12月までの2年間の再肝切除症例のうち、前回肝切除が3年以上前だった9例と前回肝切除時にセプラフィルム®を使用していた2例を除いた、93例となった(図5)。

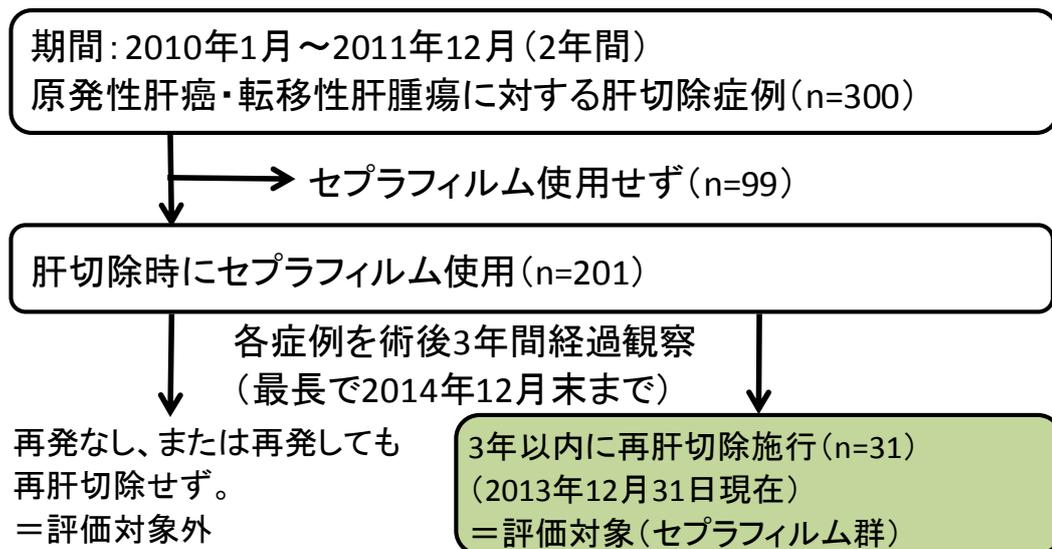


図 4. 患者プロフィール（セプラフィルム群、n=31）

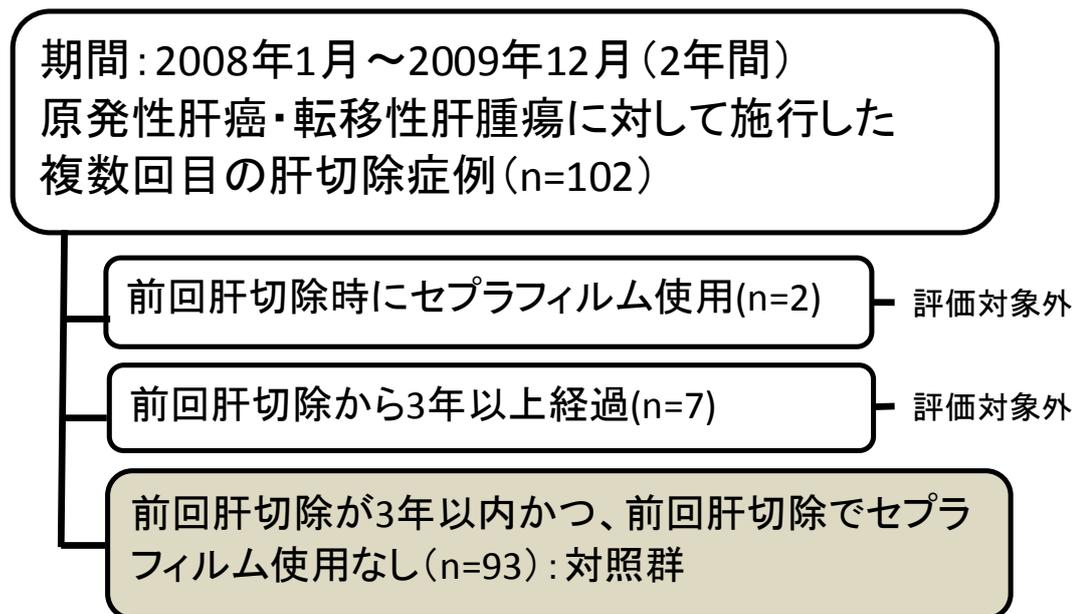


図 5. 患者プロフィール（対照群、n=93）

患者背景因子の比較では、年齢、性別、診断、肝切除術式、肝切除回数、皮膚切開の方法、前回手術からのインターバル、他臓器先行手術の有無、肝門遮断の有無について、両群間で差はなかった（表 3）。

肝離断開始前に癒着剥離以外の付加的な術操作が加わった症例として、肺切除を先行した症例が、セプラフィルム群のうち 2 例（手術開始から離断開始までの所要時間：265 分、326 分）、対照群で 2 例（同：328 分、381 分）あった。またセプラフィルム群の 1 例に人工肛門閉鎖術を先行（同：204 分）、対照群の 1 例に腹膜播種切除を先行（同：465 分）したものがあつた。

両群の手術成績の比較を表 4 に示す。

主要評価項目である、手術開始から肝離断面開始までの所要時間の中央値は、セプラフィルム群が 177 分、対照群が 228 分であり、統計学的な有意差は認めなかったが、セプラフィルム群で 51 分間の短縮が認められた（ P 値=0.09）。なお、各群で、2 症例ずつ、肝門部遮断を行わなかった症例で、肝離断開始時刻が不明であったため、データは一部欠損した。

ドレーン中の総ビリルビン値と術後 3 日目の血清 CRP 値に関しては、得られたデータで、両群間に差は認めず、術後合併症（胆汁漏を含む）の頻度も両群間で統計学的に有意差を認めなかった。

表3. 患者背景と手術関連因子

	セプラフィルム群 n=31	対照群 n=93	P
年齢	70[19-82]	66[22-82]	0.82
性別(男性/女性)	20/11	74/19	0.32
診断			0.67
原発性肝癌	18	58	
転移性肝腫瘍	13	35	
肝切除術式			1.00
major (Couinaudの1区域以上の切除)	3	9	
minor (Couinaudの1区域未満の切除)	28	84	
皮膚切開			
J字切開 or 逆L字切開	33	84	
正中切開	2	1	
右開胸開腹連続斜切開	2	1	
その他(ベンツ切開、逆T字切開など)	2	7	
肝切除回数(回目)	2[2-6]	2[2-6]	0.18
前回手術からのinterval(日)	359[123-863]	406[21-1064]	0.47
他臓器先行手術			
肺	2	2	
その他*	1	1	
肝門遮断(Pringle法)			0.41
あり	29	89	
なし	2	4	

* 開腹後肝切除開始に先立ち、セプラフィルム群の1例に人工肛門閉鎖、コントロール群の1例に腹膜播種切除をそれぞれ併施した。

連続変数は中央値[範囲]で示した。P<0.05を有意差ありとした。

表4. 手術成績の比較

	セプラフィルム群 n=31	対照群 n=93	P
手術開始から肝離断開始までの所要時間 (分)#	177 [58-441]	228 [60-596]	0.09
手術時間 (分)	351 [150-651]	454 [159-860]	0.08
手術開始から肝離断開始までの出血量 (mL)#	150 [0-980]	180 [0-1530]	0.66
総出血量 (mL)	430 [40-2340]	610 [60-26610]	0.34
1PODのドレーンT.Bil (mg/dL)#	1.2 [0.4-42.7]	1.1 [0.4-45]	0.12
3PODのドレーンT.Bil (mg/dL)#	2.1 [0.7-18.6]	1.8 [0.6-70]	0.78
3PODの血清CRP値 (mg/dL)	4.23 [0.4-10.86]	4.06 [0.39-16.2]	0.65
術後合併症			
あり (Clavien-Dindo分類 GradeⅢ以上)	1	1	n.s.
術後肝不全	0	0	
出血	0	1	
胆汁漏 (Grade B以上)	4	7	
術後イレウス	0	0	

* P<0.05を有意差ありとした。

各群2症例ずつ、非Pringle症例で肝離断開始時刻が不明であったため、データ欠損あり。またドレーン留置のない症例や、排液が採取不能な症例でデータ欠損あり。

連続変数は中央値[範囲]で示した。POD: postoperative day (術後日数)

第4節 考察

開腹手術後に形成される腹腔内癒着は、慢性疼痛・不妊症・イレウス等の原因になり得る以外に、再手術の際の手術操作を煩雑にさせるという有害事象ももたらす。この影響は潜在的であり臨床的評価が難しいとされてきた[26]が、再手術が将来控えている場合、軽視されるべきではない。

肝臓は再生能力を持つ臓器であり、切除後も残肝に再発が起こり得る。最近の系統的な review によると、大腸癌肝転移に対し肝切除を受けた患者の約70%が再発し、30%は肝内の孤立性再発であるという報告があり[27]、再発治療の重要性が主張されている。実際に当科における初回肝切除術症例を後方視的に追跡すると、約20%が再発時治療として再肝切除を受けており、肝切除は腹部の他領域手術に比べると再手術の機会が比較的多いと言える。

本研究では、肝切除術後の癒着防止目的に唯一保険診療内で使用可能な癒着防止材料であるセプラフィルム®の有効性を検討した。

セプラフィルム®の有効性についての過去の報告のうち、最大規模の報告は、Fazio らによる無作為臨床試験[28]で、大腸切除術および癒着剥離術を行った症例1791例を対象に、セプラフィルム使用群と非使用群（使用群882例、対照群909例）に割り付けし、癒着防止効果の指標としてイレウス発症率を評価してい

る。外科的治療を要するイレウスで癒着が原因と確認されたのはセプラフィルム群 1.8%に対して対照群は 3.4%であり、有意にイレウス発症率が低下したと報告されている（リスク比 0.53、95%CI:0.28-0.98、*P* 値 0.044）。一方、Hayashi ら [29]は、胃癌 150 例をセプラフィルム群 74 例と対象群 76 例に無作為割り付けを行い、小腸イレウスの発症率を比較したが、イレウスの発症率は低下しなかった。これらの臨床試験のようにセプラフィルム®の癒着軽減効果は、イレウス発症率等による臨床的項目で間接的に評価されることが多い。

一方で、ヒトにおける肝切除術後の腹腔内癒着は、消化管手術と異なり術後イレウスの発症頻度が相対的に低く、臨床症状で評価できないことが多い。本研究においても、術後早期のイレウスは、セプラフィルム群・対象群ともに認めなかった。

肝切除術後の腹腔内癒着が将来の再肝切除を困難にすることに関する記述は過去にしばしば言及されてきたにも関わらず[6]、肝切除術後の腹腔内癒着を評価対象とした臨床研究がこれまで進んでこなかった背景として、癒着の有無や癒着部位の詳細な評価は再開腹手術という侵襲的な手技を加えない限り困難であることが挙げられる。

2009 年のコクラン共同計画による、非産婦人科領域におけるセプラフィルム®使用効果についてのメタ解析の対象となった 6 つのランダム化比較試験または

準ランダム化比較試験に含まれた患者数の中央値は 96 人と少ない[7]。その理由として癒着防止効果を直接評価するためには再開腹や再度鏡視下操作を行ったりするなど、2 次的な侵襲的操作を加える必要があり、イレウスの発症率で評価するためには術後に長年の追跡期間が必要であるから、と考察されている。

臨床研究においては癒着評価の客観性を保つことの困難さも指摘されている。癒着の強度・範囲の評価を行う際に、直接肉眼的評価をするための前提条件として、評価者は前回手術中に行われた介入に関するバイアスから解放される必要がある。しかし実臨床において再発時治療としての手術を前回手術と同一の外科チームが行うことが多い臨床現場において、盲検すること自体が現実的には難しく、前述のコクラン共同研究によるメタ解析の結果も 6 つのうち 4 つの試験で盲検的な評価を行っているものの、研究の質という点では **good** はなく、**intermediate** が 4 つ、**poor** が 2 つと評価されており、癒着の評価が評価者の主観から解放されていないことがその一因となっている。また標準化した癒着スコアの指標がないことは、それぞれの臨床研究同士の比較を困難にしている。

本研究は、肝切除後に生じる腹腔内癒着の主評価項目を、癒着剥離操作に要した所要時間としたが、この数値での比較検討は客観性が高い。癒着剥離操作を行った術者については、対照群およびセプラフィルム群で共通する術者群 (N.K., K.H., Y.S., T.A., Y.B.) が前者のうち 76 例(82%)、後者のうち 27 例(87%)

を占めており、残りの症例では術者が異なっているものの卒後 15 年以上の経験を積んだ肝胆膵外科医であり、肝切除手技は前述の画一的な手法で行われたため、術者間相違があったとしても、結果に大きな影響を及ぼさないと考えた。

前回手術によって生じた癒着の影響を臨床的かつ客観的に評価するために、癒着剥離に所要する時間を癒着の程度を表す指標として評価した、過去の文献的報告を表 5 に列挙する[26]。

Coleman らは、120 例の正中切開下での結腸直腸手術例を、過去の開腹歴あり（67 例）と開腹歴なし（53 例）の 2 群間の比較により、開腹歴あり群では「皮膚切開に要する時間」が 3 分間、「腹腔内の癒着剥離の所要時間」が 15 分間（ともに中央値）加わり、計 18 分間の手術時間が延長することを示した。この数値により、過去に手術歴のある患者では癒着剥離の必要が生じるため、再手術における腹腔内到達の困難さを主張している[5]。

また Beck らは、最初の皮膚切開から必要な腹腔内癒着剥離操作を終えてリトラクターを設置するまでの時間を「開腹時間」と定義し、手術歴のある症例とない症例とで比較し、その平均値は前者が 21 分であったのに対し、後者では 6 分と有意に短かったと報告した[30]。前述の Coleman らの報告と時間測定方法は異なっても、共に腹腔内癒着の存在が手術時間の延長につながる事が確認されたと述べている。また術者による癒着の有無についての主観的評価も加えて

いるものの、外科チームにとって盲検することは不可能であり、時間という客観的データでの評価がバイアスを制限するには有用と述べている。

表 5. 癒着剥離時間を癒着の程度の指標として評価した過去の文献的報告

報告者	年	手術手技	再手術の性質	比較群	n	ランダム化	評価項目(癒着の指標)	時間(分)	P値
Coleman	2000	開腹結腸直腸手術	非計画的	開腹手術歴あり	53	なし	最初の皮膚切開から腹腔内に到達するまでの時間	5(3-10)	<0.0001
				開腹手術歴なし	67			8(4-39)	
Coleman	2000	開腹結腸直腸手術	非計画的	開腹手術歴あり	53	なし	開腹してから手術手技を遂行するのに十分な癒着剥離を終えるのに所要した時間	0(0-30)	<0.0001
				開腹手術歴なし	67			15(0-240)	
					67			15(0-240)	
Beck	2000	開腹結腸直腸手術	非計画的	開腹手術歴あり	109	なし	最初の皮膚切開からretractorをかきけるまでの所要	17(3-180)	<0.001
				開腹手術歴なし	89			6(2-16)	
Tang	2003	ループ式回腸人工肛門閉鎖術(phase1)	計画的	セブラフィルム使用	51	あり	人工肛門閉鎖の所要時間	32.5(10-80)	記載なし
				セブラフィルム非使用	54			30(10-125)	
Tang	2003	ループ式回腸人工肛門閉鎖術(phase2)	計画的	セブラフィルム使用	34	あり	人工肛門閉鎖の所要時間	20(10-40)	記載なし
				セブラフィルム非使用	36			20(10-65)	
Kusunoki	2005	ループ式回腸人工肛門閉鎖術	計画的	セブラフィルム使用	30	あり	人工肛門閉鎖術の総手術時間	95(65-140)	0.01
				セブラフィルム非使用	29			105(65-175)	
Inoue	2005	小児の人工肛門閉鎖術	記載なし	セブラフィルム使用	10	あり	人工肛門閉鎖の所要時間	41.3*(20-73)	0.04
				セブラフィルム非使用	7			82.4*(31-185)	
Sahum	2006	ループ式回腸人工肛門閉鎖術	計画的	セブラフィルム正中創とストマ周囲に使用	65	あり	人工肛門閉鎖の所要時間	27*	0.38
				セブラフィルム正中創直下のみに使用	62			25*	
				セブラフィルム非使用	62			28*	

時間の記載は、*は平均値、それ以外は中央値(範囲)で示した。

一方で、癒着剥離時間による評価は、癒着の強度・範囲・性質といった直接的かつ精密な評価を行っているわけではなく、間接的な指標での評価であるという限界がある。本研究ではサンプルサイズの設定において、ランダム化比較試験をデザインするには症例数は不十分と考えたため、**historical control** との比較を行った。そのため再肝切除症例において肝周囲の癒着を直接的に評価することは過去に遡った比較ができないという制限があった。

従来の前向き臨床研究の対象となっていたのは、直腸手術時に作成した一時的ループ式回腸人工肛門造設に対する人工肛門閉鎖術のように、もともと予定されている再手術の場合が多かった[11, 31-32]。しかし再肝切除のほとんどは予定再手術ではなく再発治療のため、初回肝切除時に将来再肝切除があるかどうかは予測不可能である以上、評価対象となるかどうか不確定要素が強いという制限があり、本研究でも術後3年という比較的長いフォロー期間を必要とした。前回手術からの期間の中央値はセプラフィルム群で359日、コントロール群で406日であり、個々の症例間にばらつきはあっても、一般的に癒着形成は術後早期に完成するため、時期的には前回手術からの期間の差が結果に対して与える影響は少ないと考えた。

以上に述べたような臨床研究における種々の制限を補うためには、次章に述べるように適切な動物モデルでの検討が必要と考えられた。

第4章 ラットを用いた肝切除後腹腔内癒着モデルの開発と癒着防止バリア材料の有効性に関する実験的検討

第1節 動物実験の必要性

前章で述べたヒトにおける肝切除術後の癒着を評価する研究の主要評価項目は、癒着剥離操作に要した所要時間および出血量であり、これらによる数値での比較検討は客観性が高く信頼性もあるが、その反面癒着の強度・範囲・性質といった直接的な評価を行っているわけではなく、間接的な評価である。臨床研究の限界を補うためには以下にあげる理由で、他領域手術における術後癒着の研究と同様、肝切除術に関しても動物実験での評価が必要と考えた。

①癒着評価のための非侵襲的な評価方法がない。

腹部超音波検査による腹膜癒着の評価[33]や、MRIを用いた腹腔内癒着のマッピング[34]の有用性の報告が過去にあるものの、前者では、腸管ガスや脂肪が妨げとなって腹腔深部の評価は困難であり、後者では腹痛などの症状がある部位の癒着の精査のみに有用であり、ともに肝切除後の癒着の評価を詳細に行うには不十分である。再開腹という侵襲的な手技によって初めて、腹腔内の癒着を

評価する機会が得られるという現実があるが、臨床症状をきたしていない腹腔内癒着の評価を目的として患者に侵襲を加えることは倫理的に許容されない。

②再開腹の機会が必ずあるとは限らない。

肝臓外科領域では二期的に肝切除が行われることもあるが、本邦においては再肝切除のほとんどは再発治療として行われている[35]。婦人科領域のセカンドルックや結腸直腸手術における一時的人工肛門の閉鎖手術などに代表されるような計画的な再手術の機会は稀である。初回手術時に将来再切除があるかどうかの予測は困難であり、非計画的な再開腹を臨床研究の対象とする際にはランダム化比較試験は現実的には十分な症例数を集めることが難しい可能性がある。

③癒着の詳細な評価が困難なことがある。

再手術時に問題となる手術手技の煩雑化や侵襲の増加は、癒着剥離操作によるものであるが、実際の再手術では目的とする術野と関係ない部位の癒着については、あえてそれを剥離する操作を加えることは無駄な侵襲につながるため不必要な操作になる。そのため再手術の機会があっても、前回の手術後に形成された全ての癒着を評価することは困難である。これに対して動物癒着モデルにおいては、癒着の重症度を鈍的剥離可能か、鋭的剥離が必要かという区別が可能となり、範囲と強度という2つの尺度で、より詳細に肉眼的評価が可能となる。

④癒着組織の組織学的評価が可能である。

癒着組織は周辺組織との間に完成した線維性の組織であり、強固な癒着に対しては剪刀および電気メスにて剥離操作を加える。肝切除においても腸管損傷がないように細心の注意を払い、また肝横隔膜面との癒着剥離の際に、肝被膜を損傷しないように横隔膜をつけて剥離することもあるが、通常は癒着組織を合併切除するわけではなく、剥離操作により肝との間は分離されるため、癒着組織は摘出切除するわけではない。動物を用いることで癒着組織の厚みや線維化の程度、炎症の程度など病理組織学的な評価が可能となる。

⑤セプラフィルム®以外の癒着防止材料の効果を評価できる。

癒着防止のためにいくつかのバリア材料が過去の研究で、有効性が報告されており、すでにいくつかは製品化されているが、本邦において、肝切除時に癒着防止材として承認されている製品はセプラフィルム®のみであり、他の材料は臨床応用するには十分な安全性・有効性に関するデータ得られておらず、癒着防止材料の効果を試すことは許されていない。肝切除において有効な癒着防止材料が何かを調べるために、さまざまな材料を試用できる適切な動物モデルが必要である。

第2節 対象動物と方法

東京大学医学系研究科動物実験委員会の承認を得て、東京大学生命疾患工学センター生命科学実験棟にて本研究を遂行した。43匹の雄性 Sprague-Dawley ラット（10-13週齢、体重 250-350g）を対象とした。全てのラットは環境に順応させるために手術の1週間前までに1ケージに2匹ごと収容した。室温 21-24度、湿度 40-40%、12時間の明暗サイクルにコントロールされた環境に維持し、手術の12時間前から絶食とした。

手術は、同一術者(A.S.)が行なった。ペントバルビタール(ソムノペンチル®) 30mg/kg 体重量を腹腔内投与にて全身麻酔下に行なった。腹壁は剃毛後、1%ポビドン-ヨードにて消毒した。手袋は手術の前に水道水にて洗浄し、パウダー等の異物成分を洗い流した。手術は準清潔、非滅菌環境下に行なった。

対照群（非肝切除群）は、6.0cmの正中切開にて開腹した(n=5)。それぞれのラットは開腹した状態で10分間待機し、腹腔を4-0Vicryl®吸収糸(Ethicon社)を用いて連続縫合にて閉腹し、皮膚は3-0 Nescosuture®非吸収糸(アルフレッサ社)にて閉創した。

ラットに対する肝切除は以下の方法で行った。

6cm の正中切開にて開腹後、2つの肝葉（中葉および左外側葉）を切除する肝切除を行った(n=14)。中葉の茎部を 3-0 絹糸にて結紮し、さらに肝実質の根部で刺通結紮を加えて外科剪刃にて肝実質を切除した。次いで左外側葉を同様の方法で切除した。

最後に、腹腔内を 15ml の生理食塩水にて洗浄し、肝離断面を圧迫止血後に、前述の非肝切除群と同様の方法で閉腹閉創した。

第3節 癒着防止バリア材料

第1項 既存の癒着防止材料

セプラフィルム® (Genzyme 社) とインターシード® (Johnson and Johnson 社、) を購入し使用した。

第2項 新規癒着防止材料としての生体内架橋ゲル

アルデヒド化した 800kDa HA および CMC (HA-CHO および CMC-CHO) を、過去に報告されている方法で準備した[23, 36-38]。800kDa HA を従来の方法にてアジピン酸ジヒドラジド化し HA-ADH に修飾した。それぞれの前駆体ポリマーを 1 ml ずつ、2wt% の Dulbecco のリン酸緩衝生理食塩水 (GIBCO 社) に溶解し、2 連式のシリンジ (Baxter AG 社) に充填した。

第4節 実験群

43匹のラットを無作為に以下の6群に割り付けた。

各癒着防止材料は、肝離断面を含め、残肝全体を覆うように貼付または散布した。

グループ0（コントロール非肝切除群、n=5）

肝切除は行わずに開腹のみ施行。癒着防止材料は使用せず。

グループ1（肝切除施行・癒着防止材料非使用群、n=14）

：肝切除施行後に、腹腔内に癒着防止材料を使用せずに閉腹した。

グループ2（セプラフィルム®群、n=6）

：セプラフィルム®を4×5 cmの大きさに切り、残肝に直接貼付した。肝離断面の肝実質と、右肝および尾状葉の肝表面はすべて覆われた(図6)。

グループ 3 (インターシード®群、n=6)

: インターシード®をセプラフィルム®と同じ大きさに切り、残肝を完全に包むように貼付した(図 6)。

グループ 4 (HAX gel; ヒアルロン酸同士の間架橋ゲル群、n=6)

: 1ml の HA-ADH と 1ml の HA-CHO を、2 連シリンジ (Baxter 社) を用いて、過去の報告に従って残肝上に注入した[23]。ただちに材料はゲル化し、1 分後に腹壁を閉じた (図 7)。

グループ 5 (HA-CMC gel; ヒアルロン酸とカルボキシメチルセルロースの間架橋ゲル群、n=6)

: 1ml の HA と 1ml の CMC をグループ 4 と同様の方法で投与した (図 7)。

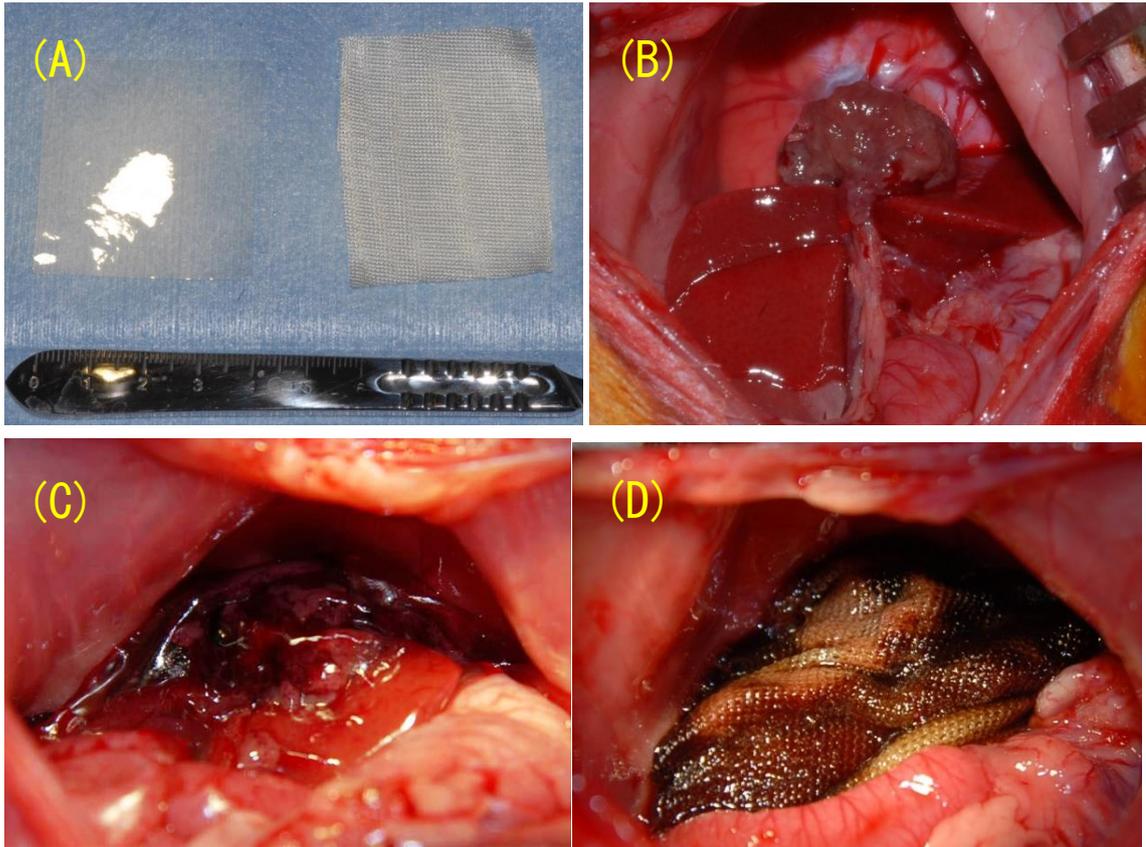


図 6 : (A)セプラフィルム® (左) およびインターシード® (右)。ともに 4×5cm のサイズにカットした。(B)70%肝切除終了時。(C) セプラフィルム®貼付後。水分を吸収し一旦組織と接すると剥がれにくい。(D) インターシード®で残肝を包み込むように覆ったところ。

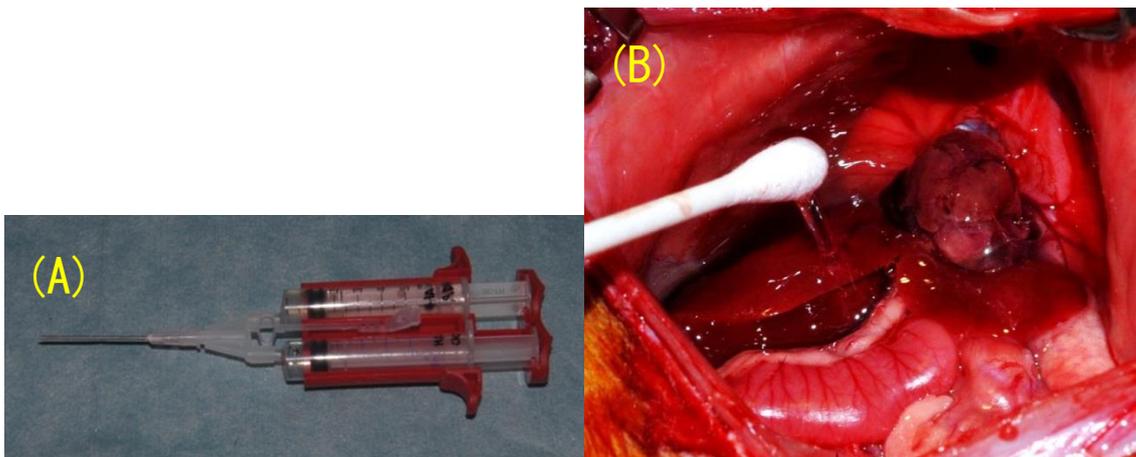


図 7 : 使用した生体内架橋ゲル (A) ダブルバレルのシリンジにそれぞれ、分子量の異なるヒアルロン酸同士、またはヒアルロン酸とカルボキシメチルセルロースを準備する。(B)生体内で混ぜ合わせると架橋反応により直ちにゲル化する。残肝の立体的な構造全体をカバーできる。

第 5 節 肉眼的評価

手術後の動物の管理は、術前と同様に行った。

肝切除の 1 週間後、腹腔内にペントバルビタールを過剰投与することで、ラットを安楽死させた。腹腔内の全ての癒着を精査するため、両側肋骨弓下の U 字切開にて開腹した。これまでに報告されている方法を用いて肉眼的に癒着のスコアリングを行った[23, 38-39]。癒着の評価は同一者 1 人 (A.S.) が行い、バイアスを避けるために常にもう 1 人または 2 人の記録者 (K.O、T.I、T.S) と共に評価を行った。すなわち、記録者がラットにつけた群間割り付けの標識を消し、安楽死させた状態で観察者に委ね、すべての癒着の再開腹評価を行う観察者はラットがどの群への割り付けか認識していない状態で行った。癒着の強度、範囲、部位を記録し、癒着スコア、以下のごとくに定義した。

スコア 0：癒着なし。

スコア 1：自重によって分離される程度の癒着。

スコア 2：鈍的な剥離により分離される癒着。

スコア 3：鋭的な剥離が必要な癒着。

各スコアリングは、肝離断面、残肝表面、肝門部の3か所について行い、癒着が形成された部位ごとに評価した(図8)。

rat No.X							
Group							
1st ope date							
operation time		min					
BW before ope		g					
2nd ope date							
BW (reope)		g					
			<Groups>	<Location>	<癒着物>	<Severity>	<Extent>
			control			Grade0: no adhesion	0~1/3
			肝切除	①LL離断面	A:小腸(含・腸間膜)	Grade1: tissues separated by gravity	1/3~2/3
			Seprafilm	②ML離断面	B:大網	Grade2: tissues separable by blunt di	2/3~1
			Interceed	③RL表面	C:横隔膜	Grade3: adhesions requiring sharp dissection	
			Gel-HAX	④CL表面	D:腹膜		
			Gel-HA+CM	⑤肝門部	E:胃		
				⑥正中創直下			
Adhesion	A	B	C	D	E		
①							
②							
③							
④							
⑤							
⑥							
<Adhesion scoring system>							
Severity/Extent	0~1/3	1/3~2/3	2/3<				
Grade0	0	0	0				
Grade1	1	2	4				
Grade2	2	4	8				
Grade3	4	8	12				

図8: ラット肝切除術後1週間後の再開腹時に使用した癒着評価シート。

第6節 組織学的評価

肝との癒着が最も強かった部分の組織を摘出し、10%中性ホルマリン緩衝液で固定した。組織は常法に従い、パラフィンにて包埋し、5 μ mに薄切しヘマトキシリン-エオジン染色を行った。線維化・炎症・血管増生について、以下のごとく過去に報告されている半定量的なスコアを用いて評価した[40-42] (図9)。

(線維化)

スコア0：なし

スコア1：最小限で疎

スコア2：中等度

スコア3：濃密で強固

(炎症)

スコア0：なし

スコア1：巨細胞の間にわずかにリンパ球・形質細胞が散在する

スコア2：巨細胞にリンパ球、形質細胞、好酸球、好中球が混在して増殖している

スコア 3：微細な膿瘍を伴って多数の炎症細胞が混在している

(血管増生)

スコア 0：なし

スコア 1：軽度の増生

スコア 2：中等度

スコア 3：高度な増生

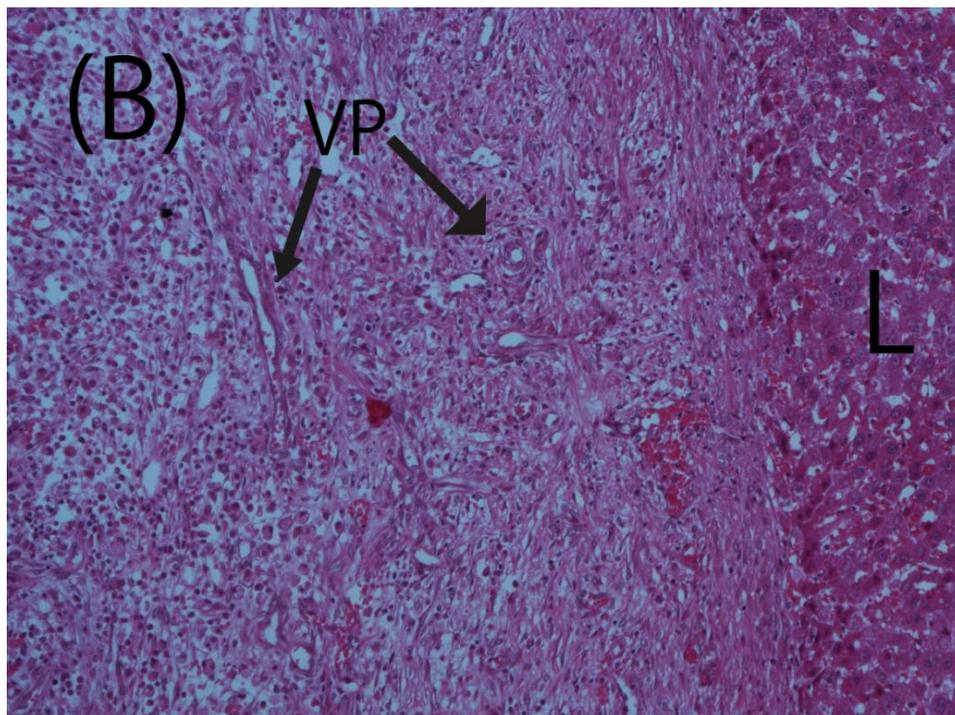
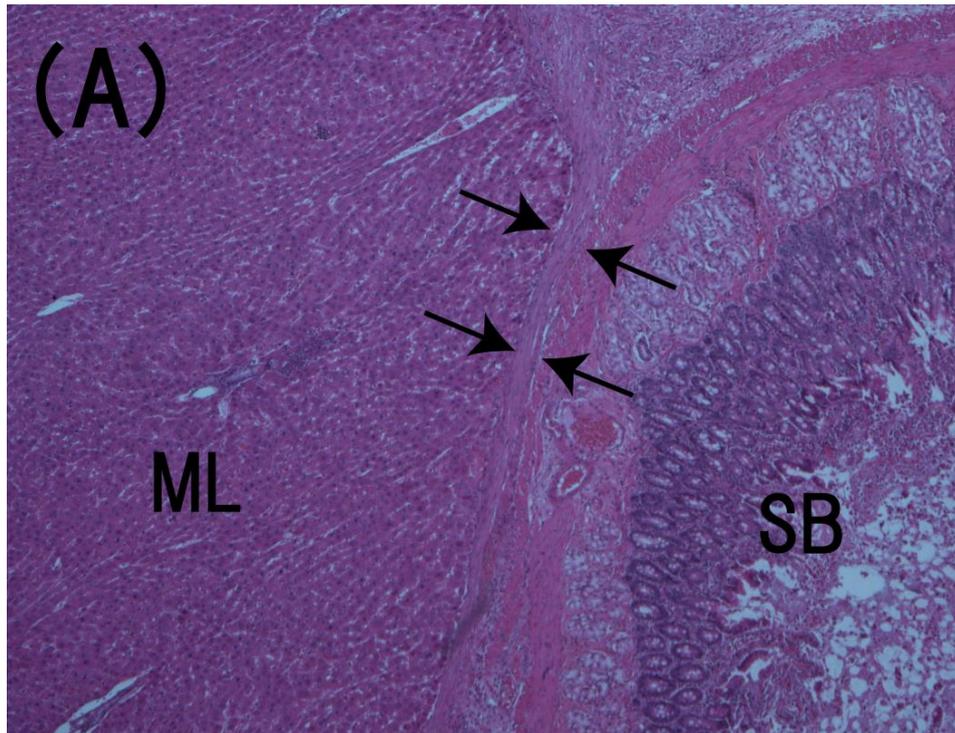


図 9. 高度な癒着を形成した部位の組織学的評価 (ヘマトキシリン・エオジン染色)。
 (A) 肝中葉 (ML: Median Lobe) および小腸(SB: small bowel)との間に形成された高度な癒着組織は、肥厚した結合織からなり、線維化した層状構造を認める (矢印)。(100 倍)
 (B) 癒着部の強拡大像では、血管増生(VP: vascular proliferation、矢印)を伴った炎症細胞浸潤を、肝離断面 (L: Liver) を覆う線維性構造の中に認める。(200 倍)

第7節 統計解析

癒着スコアまたは組織学的スコアの平均値を各群間で比較するため、一元配置の分散分析（one-way analysis of variance; ANOVA）を行った。ANOVA で有意差が検出されたら、多重比較の対比較を Turkey 検定により行った。 $P<0.05$ を統計的に有意とした。癒着スコアと組織学的スコアの関係の有意性をスピアマンの相関係数を用いて調べた。統計解析には IBM®SPSS® Statics19 のコンピューターソフトを用いた。

第 8 節 結果

第 1 項 ラット肝切除腹腔内癒着モデル

全 43 匹のラットで、実験を完遂した。初回手術の際には、先天的癒着を認めなかった。グループ 0 の 5 匹のラットでは肝周囲に癒着形成は認めなかった。またペントバルビタール注射部位の局所にも癒着形成は認めなかった。肝切除を受けた 38 匹全てのラットが 1 週間後まで生存し、再開腹評価が可能であった。

癒着防止材料を使用しないグループ 1 では、14 匹のラット全例において、肝離断面と小腸または大腸との間にスコア 3 の癒着を形成していることが確認された。強固な癒着が肝切除の後 100% の頻度で生じたことから、このモデルが

腹腔内癒着モデルとして適しているものと考えられ、これをラット肝切除癒着モデル (rat hepatectomy adhesion model、以下 RHA model) と定義した (図 10)。

残肝と周辺臓器との間に形成された癒着スコアを、以下の部位ごとに評価した。

1. 肝離断面
2. 肝門部
3. 肝表と横隔膜面

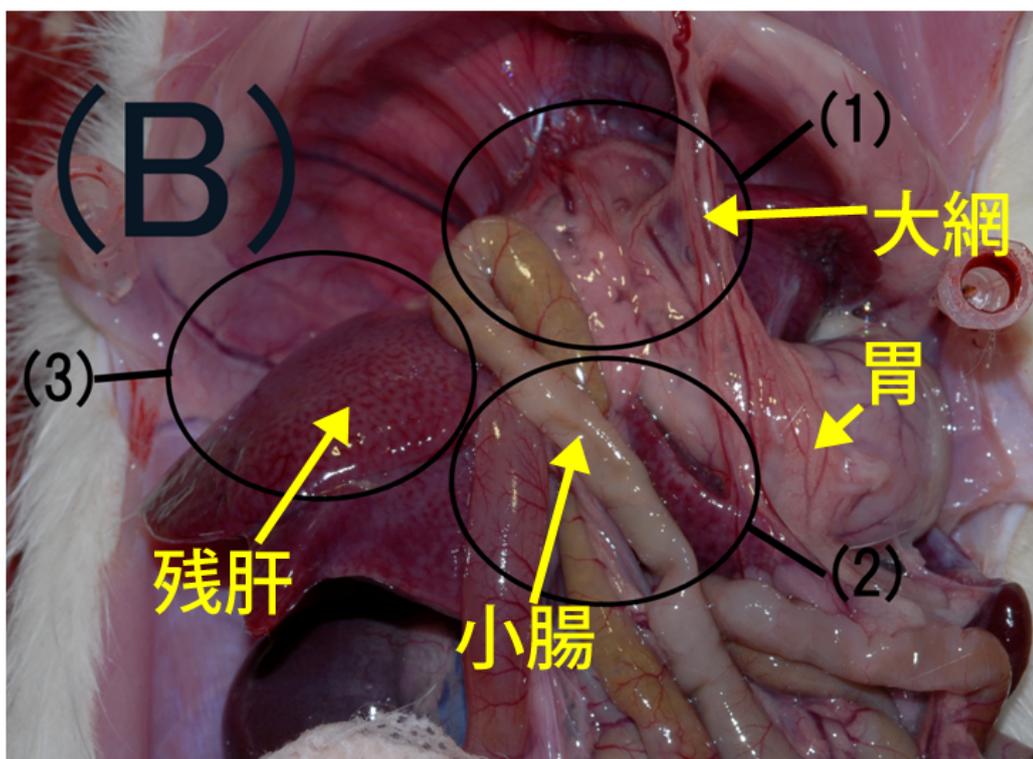
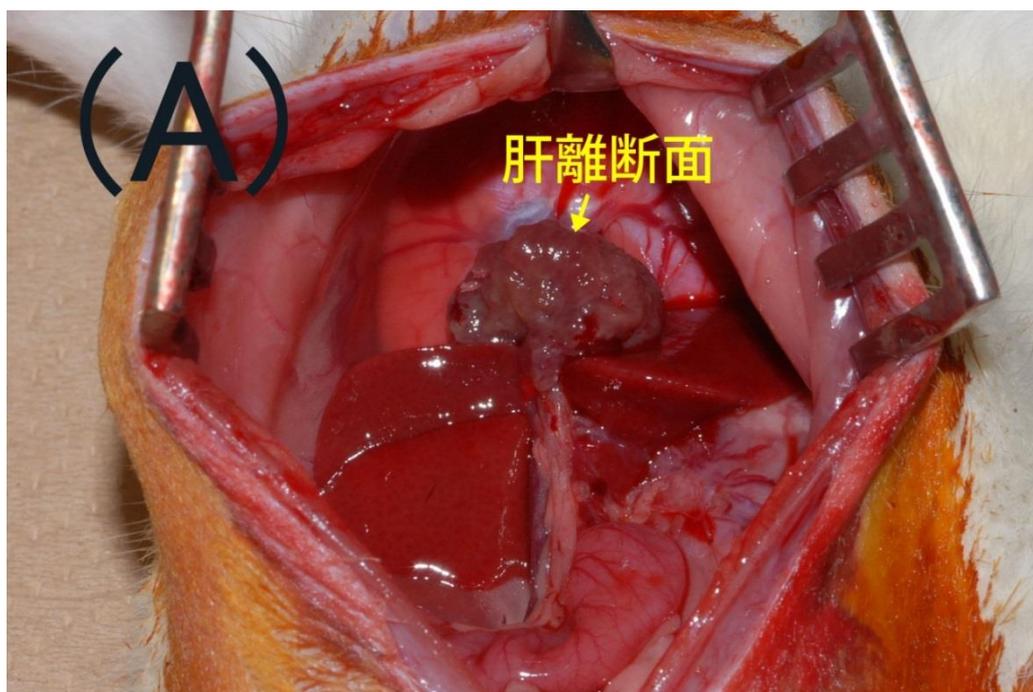


図 10. ラット肝切除術後に形成される癒着。(A) 肝実質の左外側葉および中葉を結紮し切除した古典的な 70%肝切除直後の状態。(B) 肝切除術の 1 週間後に、U 字切開にて再開腹した状態。(1)肝離断面、(2)肝門部、(3)肝横隔膜面について癒着をスコア化し評価した。このラットには癒着防止材は適用していない。肝離断面に特に強固な癒着形成を認める。

第2項 癒着防止材料の効果

グループ1のラットは全例において、肝離断面と小腸との間にスコア3の癒着を形成していた(図11A)。一方、グループ2の6例中1例と、グループ3の6例中1例、グループ4の6例中2例、グループ5の6例中2例はスコア2の癒着を示していた。さらにグループ3の6例中3例のラットがスコア1の癒着を示しており、これらのラットにおいては、肝離断面に癒着している臓器は小腸ではなく大網の一部であった(図11B)。肝離断面周囲の癒着は、小腸よりも大網のほうが分離は容易であった。

再開腹評価時には、肉眼的に明らかな癒着防止材料の遺残物は認められなかったが、インターシード群で3例のラットでは薄い黄色調の物質が肝表面に残存しており(図11C)、この変化は材料の遺残物であった。この3例のうち、肝離断面の癒着の程度は2例がスコア1で、1例はスコア3であった。

肝離断面と、小腸または大網との間の癒着スコアを各群間で統計学的に比較検討したところ、グループ3ではグループ1と比べて癒着スコアが有意に低く($p<0.001$)、またグループ2と比べても癒着スコアは低い傾向があった($p<0.05$)(図12A)。

肝表面と横隔膜との間、および肝門部については、個体差が大きく、各治療群間で癒着スコアに統計学的な有意差は認められず、癒着防止材料の有無による変化はなかった(図 12B,12C)。

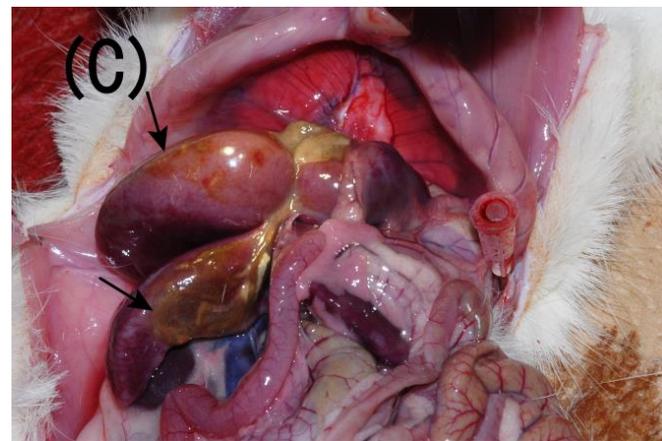
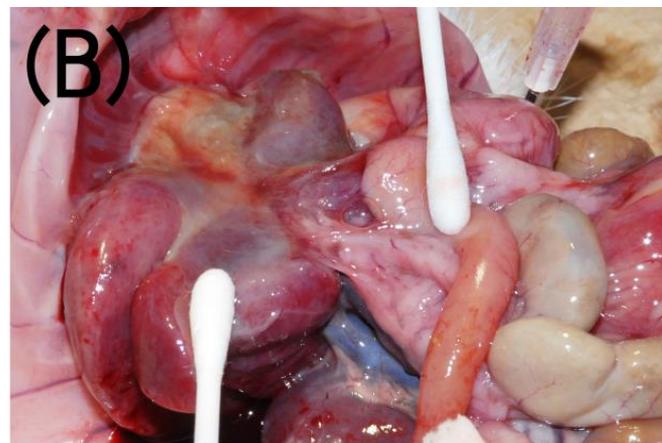
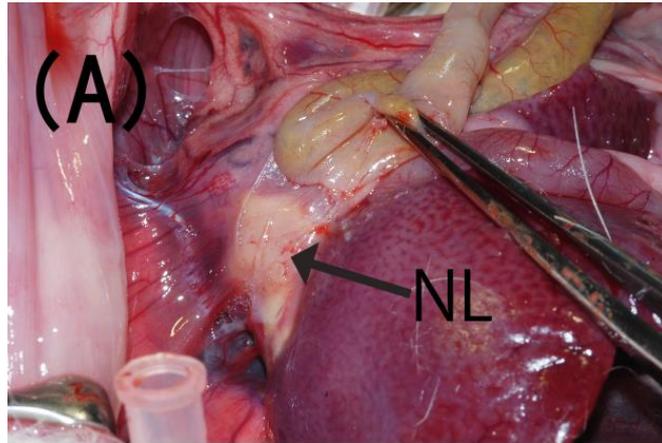


図 11. 癒着防止材料の癒着防止効果判定 (A) 肝離断面と小腸との間にスコア 3 の癒着を認める。鑷子で小腸を把持し、牽引しているが、癒着剥離には鋭的操作を要する。残肝実質は結紮による虚血により黄色の組織となって壊死しており、NL(necrotic liver)で示されている。(B)インターシード群の一部のラットでは、肝離断面と大網との癒着は牽引せずに自然に分離されグレード1の癒着であった。肝門部が癒着剥離操作なしに露出されている(C)インターシード群の一部のラットでは、黄色の材料遺残を認めた(矢印)。

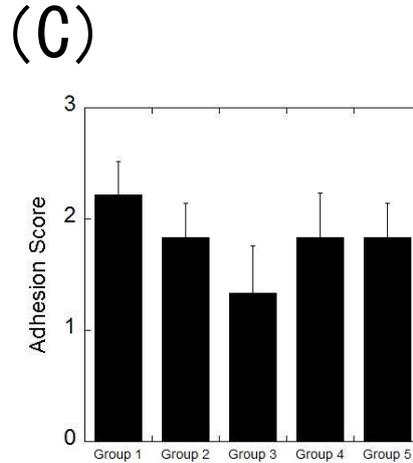
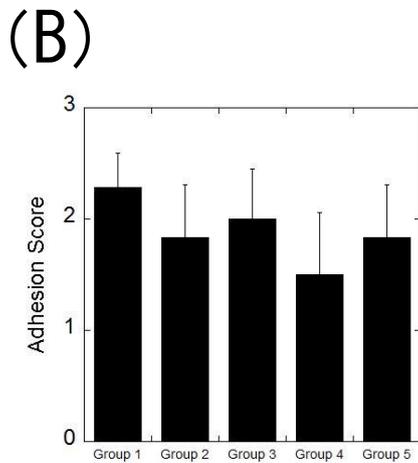
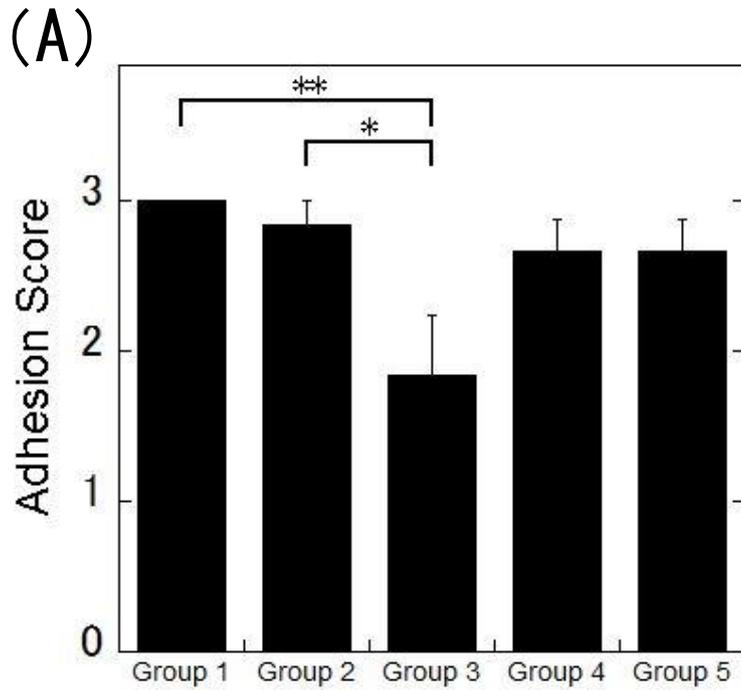


図 12. 癒着スコアを部位別に各群間で比較した。各群の平均値および標準誤差を示す。
 (A)肝離断面と、小腸または大腸との間の癒着スコアは、5 群間で有意差があり ($p=0.001$, ANOVA)、グループ 3 の癒着スコアの平均値は、グループ 1 のそれよりも有意に低く (**: $p<0.001$)、グループ 2 のそれより低い傾向があった (*: $p<0.05$)。 (B)肝表面と横隔膜との間の癒着 (C)肝門部の癒着については、5 群間で統計学的な有意差は認められなかった。

第3項 組織学的評価

顕微鏡的な、残肝と小腸との間に認められた、線維性構造からなる癒着組織は炎症細胞および血管増生を伴っていた(図 4A、 4B)。線維化・炎症・血管増成についての組織学的スコアを各群間で比較したが、有意差は認められなかった(表 6)。

	Control	Septrafilm®	Interceed®	HAX gel	HAX-CMC gel
線維化	2.29±0.24	2.33±0.42	1.33±0.49	2.17±0.17	1.67±0.21
炎症	2.14±0.23	2.00±0.37	1.67±0.33	2.17±0.17	2.00±0.26
血管増生	1.86±0.28	1.50±0.34	1.33±0.42	2.33±0.33	2.33±0.21

(平均値 ± 標準誤差)

表 6. 高度な癒着組織の組織学的スコア

癒着形成部位の組織切片を、病理学的に線維化・炎症・血管増生の因子ごとにスコア化し各群間で比較した。各群間で有意差は認められなかった (ANOVA)。また各個体において癒着スコアと組織学的スコアとの間に、有意な相関は認めなかった (スピアマンの相関係数)。

第4章 考察

本動物実験を行うにあたって、第一に肝切除後の癒着形成モデルを確立し、腹腔内癒着を半定量的に精査することを目的として、まず手技の安定が報告されている古典的な70%肝切除を行った。Inohらは過去にマウスの70%肝切除後の腹腔内癒着について言及している[43]。サイトカイン(Midkine)遺伝子を欠損させたノックアウトマウスにおいて、肝部分切除術後の肝臓と小腸の癒着は、野生型のマウスのそれに比べて軽度であると報告しているが、肝切除後の癒着について重症度、範囲、部位に対する詳細な評価はなされていない。また、肝臓ではなく大網の癒着に焦点を置いているため、癒着のスコアリング評価は肝切除後の癒着に対して行っておらず、他の腹膜損傷によるモデルを用いて癒着の評価を行っている。本研究においてマウスを用いずにラットを用いたのは、癒着の研究においてはマウスよりもラットのほうがサイズの点から詳細な評価に際し有利であり、動物癒着モデルの過去の報告ではラットを用いたモデルが最も多く報告されていたからである[44]。

実験動物は再開腹時まで絶命せずに評価対象となる必要があるため、本研究ではいくつかの肝切除の術式の中で、100%の生存率が報告されている古典的な70%肝切除術を選択した[17]。古典的なラットの肝部分切除モデルはHigginsと

Anderson により 1931 年に報告された実験に基づいている[20]。ラット肝は 4 つの主な肝葉から構成されるが、ML と LLL(全肝容積の約 70%にあたる)を切離すこの術式に対してラットは耐術能が高く、術死率は最低限とされる[18]。このモデルで行われるそれぞれの肝葉を根部で結紮し一括して切除する手技は、広く用いられている手法である。

Kogure らによるラット肝とヒト肝との解剖学的な比較によると、ラット肝の LLL はヒト肝では Couinaud の区域分類では Segment II に相当し、ラット肝の ML はヒト肝の Segment III IV V VIII に相当する。ラット肝 ML と LLL の結紮切離の後、肝実質の小さくなった残りの部分は肝離断面となり、その部位において、最も高度な癒着が認識された。ラット肝は分葉しているため切除後の残肝の離断面は構造的にヒト肝切除の場合よりも面積は狭くなる。肝切除 1 週間後の再開腹時に 100%の確率で高度な癒着形成が確認された部位は狭い残肝離断面と小腸あるいは大腸との間であった。この肝切除モデルは標準的、かつ再現性のある癒着形成モデルと考えられたため、RHA model と定義した。

RHA model には、以下の特徴が挙げられる。

第一に、モデルとなるラットには 100%の確率で高度な癒着が形成されることである。癒着を誘導するために、盲腸焼灼モデル[12]、腹壁欠損・子宮核出モデル[13]、腹膜虚血ボタンモデル[16, 45-46]、盲腸結紮穿刺腹膜炎モデル[14, 47]な

どの、多くの動物癒着モデルが過去に報告されてきた。しかし、従来動物癒着モデルにおいて、癒着の程度と範囲について再現性のある結果を得ることは困難であることが多く、癒着の研究者の検討課題となってきた[48]。各々の動物癒着モデルは、癒着防止のための治療法を発展させるという共通の目的を持っているので、治療効果の評価のために、必ず高度な癒着を形成するコントロールモデルが必要とされる。その点で動物癒着モデルの標準化および再現性は最も重要な問題であり、肝切除モデルにおいても同様である。過去には鋭的な切離による腹膜損傷法、筋膜や筋肉の切除、焼灼、様々な挫滅法など意図的かつ侵襲的に組織を傷害する方法が提案されてきた[44, 49]。しかし、いずれの技法も100%の頻度の癒着形成には至っていない[48]。それに対し、RHAモデルは肝切除を施行したラットの連続した14例全てに100%の高度癒着を形成した。ラットに形成された癒着はすべて肝周囲に限局しており、正中創直下や他の臓器には癒着形成を認めなかった。また、肝離断面に最も強い癒着が形成されたこの現象は、ラットにおいて臓側腹膜の傷害のほうが壁側腹膜の傷害よりも癒着形成を誘導しやすいという過去の報告[26]にも合致する。

第二のRHAモデルの特長は、死亡率が0%であることである。盲腸結紮穿刺によるラットの腹膜炎モデルも高率に癒着形成を誘導することが報告されているが、同時に致死率が4~12%と報告されている[14, 47, 50]。本研究のモデルで

は、癒着評価の時点までの間、癒着防止材料を使用したものも含めて、38例に肝切除術を施行したが、1週間後まで死亡したラットはいなかった。

第三に、本研究における RHA モデルの開発とは、すでに標準的で古典的な手技として確立された肝切除モデルを、付加的処置を行わずして再現性のある癒着モデルとして再評価したことと等しいといえる。腹膜の虚血ボタン作成モデルも再現性高く癒着を形成するが[16, 45-46]、この介入操作は実際のヒトの臨床現場において治療手技として再現される状況が考えにくい。従って一般的な外科的処置ではなく研究用ツールとしての作為的なモデルとして、その結果を解釈する必要がある。多くの過去に報告された動物癒着モデルの中で、RHA モデルは比較的単純かつ実際の臨床場面に近い状況を作る介入のみで、癒着防止材料の効果を比較するのに十分安定した癒着再現性を有する貴重なモデルであるといえる。

過去のラット盲腸焼灼・腹壁欠損モデルを用いた、癒着形成過程の経時的な動態の研究によると、癒着形成の過程は手術直後から始まり、36時間後には癒着は形成されていることが確認されている[51]。また、傷害部位の大きさに関わらず、腹膜の中皮細胞の再生は5-7日以内で完成するという報告がある[52]。本モデルにおいて、癒着の評価を肝切除術後7日目に設定した理由は、腹壁欠損・メッシュ修復モデルを用いた継時的な腹膜修復の評価において、その時点でラ

ットの腹膜は連続した中皮細胞層によって覆われており、それ以上新たな腹膜癒着形成が進行しないことが報告されており[53]、他の腹腔内癒着モデルでも術後7日の時点で評価している実験が多く[23]、ラット肝切除後の癒着に対する継続的な評価は過去になされていないが、それらのモデルを参照して RHA モデルにおける癒着評価時期を決定した。

急性期のラットモデルにおいて、中皮細胞によって覆われた壁側腹膜表面は、それ以降は新たな癒着が形成されることはない。癒着形成に重要な術後早期の段階において、外科的に受傷した部分と周囲組織との間を物理的に分離させることにより、フィブリン架橋の形成を防ぐ目的で適用されるのが癒着防止バリア材料の使用であり、最も広く用いられている癒着防止治療戦略である。本研究では、RHA モデルの癒着を防止する目的で、4種類のバリア材料の効果を検討し、これらの材料を用いたことによる死亡や合併症の増加は認めなかった。

セプラフィルム®はヒアルロン酸(HA)とカルボキシメチルセルロース(CMC)を 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride にて架橋させた生体吸収性のフィルムである[9]。近年の動物実験では、セプラフィルム®が効果を示すのは材料を貼付した部位に限定されることが報告されており[46]、材料の適用に際しては、癒着形成が予想される部位の全てが覆われるべきとされる。セプラフィルム®は固形で脆いフィルム状の材形のため、ひとたび湿った組織と接

着すると、動かなくなるので、貼付時の扱いが困難なことがある。RHA モデルにおいては、肝切除後の残肝は複雑かつ三次元的な構造をしているので、残肝の全体をセプラフィルム®で覆ったが、肝離断面に均一に密着させることは困難であった。本研究では大きさ 20 cm²のセプラフィルム®のシートを使用したのもので、残肝全体を覆うのに十分な大きさであった。ヒトの体表面積が、ラットの体表面積の 40 倍と仮定すると、使用したセプラフィルム®の量は通常ヒトで用いられる用量の約 2 倍に相当する。

インターシード®は酸化再生セルロールからなる布状のシートである。ヒトでは骨盤内の婦人科手術においてのみ用いられ、その安全性と有効性はいくつかの臨床試験において報告されている[22]。動物実験においては、小腸や他の腹部手術後にも適用され、癒着軽減効果が報告されている[54]。インターシード®はセプラフィルム®よりも柔軟性があり、周囲の臓器や組織と分離するために残肝を包み込むような使い方が容易にできる。しかし、インターシード®は、血液の存在下では、癒着を軽減するよりむしろ、増悪させると報告されている[54]。本研究においては、材料適応前に慎重かつ十分な止血を得た。しかし現実的には、肝離断面を完全に血液のない乾いた状態に保つことは非常に困難であり、ヒトにおける臨床現場においても同様である。

以上 2 つの既製の製品化されている材料に加えて、本研究ではヒアルロン酸を基本とした 2 つの新たなゲル材料の有効性を評価した。これらの材料は、ウサギの盲腸擦過、腹壁欠損モデルにおいて、腹膜癒着を有効に防止することが報告されている[23]。これらの材料の組成は HA、CMC であり、これらはセプラフィルム®に使用されている材料と同様の物質から構成される。ゲルは、RHA モデルのような癒着予想部位の構造が複雑な場合でも、スペースを埋めるように密着して材料が行き渡るので、理論的には拡散性、扱い、投与方法の点で従来の材料と比較して形態的に有利と予想されたため、採用した。しかし、これらのゲルの結果は予想されたほど十分な有効性を示さなかった。

セプラフィルム®やゲルが、期待していたほど有効ではなかった理由の一つに、1 週間以内に吸収され消失したことが推察される。再開腹評価時には、セプラフィルム®または生体内架橋ゲルの遺残物は肉眼的に認められなかった。特に癒着の強い部位を顕微鏡的に評価したが、各ラットにおいて、これらの材料は観察されなかった。それゆえ材料が癒着形成に重要な期間に、バリアとしてとどまらずに十分に効果を発揮できなかった可能性がある。一方で、初回肝切除後 1 週間の再開腹評価において、3 匹のラットでやや黄色調の材料遺残が確認され、これらはインターシード®の遺残物であった。RHA モデルにおいて、インターシード®がコントロールまたはセプラフィルム®群に比べ、若干高い癒着防

止効果を示した理由の一つとして、インターシード®の分解吸収速度が、他の材料に比べて、より遅かったことが挙げられる可能性がある。今回使用した架橋ゲルも1週間後の再開腹時には、すでに吸収されており、遺残はなかった。ゲル化速度や強度などの物理化学的特性は、材料の濃度やヒアルロン酸の分子量を変えることで変化するため[55]、今後その調整を通じて癒着防止材としての改良が必要であると考ええる。

バリア材料に関する一つの「逆説」として、材料は分解されずに体内に留まる必要がある反面、材料そのものに対する異物反応が腹腔内癒着の原因となり得ることが知られている[41]。最近の研究では、ラット神経周囲線維化モデルにおいて、酸化再生セルロースにて治療した神経は、治療していない神経に比べて、炎症反応や異物反応がより高頻度に生じたことが報告されている[56]⁴²。本研究では、酸化再生セルロースから構成されるインターシード®群において、肉眼的な癒着スコアは有意に低下したが、癒着組織の組織学的スコアについては炎症の程度は他の群との間に有意差は認められなかった。すなわち肉眼的に癒着スコアが低くても、組織学的炎症のスコアは軽減しなかった。

MLとLLLの結紮後に残った小さな肝実質の一部は、再開腹時までには虚血壊死する。そのような壊死組織から放出されるサイトカイン等の化学物質は炎

症を誘導し、引き続き癒着形成につながる可能性がある[12, 57]。その影響で材料本来の炎症を誘導する性質が相対的にマスクされた可能性がある。

過去の研究において、機械的な外傷、化学的な刺激、漿膜の乾燥、腹腔内の出血・虚血・感染、異物の存在など多くの要因が癒着形成に関わることが報告されてきた[44]。肝切除術後の癒着形成を担う基本的な原理はこれまで明らかにされていないが、将来的に肝切除後の腹腔内の継時的な生理化学的变化を精査することが癒着防止治療の開発にとって必要と考えられる。

本研究では、ラットの個体数が限られたことを考慮すると、本研究の結果はより対象を増やした研究で追試する必要がある。また、本研究において全ての癒着防止材料が満足なレベルまで癒着防止効果を示さなかった理由の一つとして、このモデルの腹腔内癒着を形成するポテンシャルがあまりに高く、各材料は癒着防止効果を示すのが困難であったことが考えられる。しかし、このモデルは新たな癒着防止剤の開発を目的とした将来の研究のなかで、役立つと考えられる。

第5章 本研究の意義と今後の展望

肝細胞癌や大腸癌肝転移を中心とした転移性肝腫瘍は肝切除後も再発率が高く、かつ再肝切除は患者予後の改善のために有効な治療である。肝切除例は再手術の頻度が高いことを初回手術のうちから意識すべきであり、初回肝切除時から再発および再切除を意識して、術後の癒着防止による再肝切除の安全性向上を図ることは臨床的意義がある。

本研究では原発性肝癌および転移性肝腫瘍に対する再発時の再肝切除の際に、最も一般的な癒着防止材料であるセプラフィルム®の、癒着防止に対する有効性の有無を評価した初めての臨床研究である。

肝切除手術時にセプラフィルム®を使用するという介入を行うことで、セプラフィルム®を使用していなかった過去の再肝切除症例と比較し、癒着剥離に所要する時間が中央値で51分間短縮が認められ、有意差は認めなかったもののセプラフィルム®の使用が肝切除においても癒着の軽減効果を示す可能性が示唆された。

一方本研究とほぼ同時期に、フランスで、肝切除におけるセプラフィルム®の効果に関する前向きランダム化比較試験が行われ、その結果が2013年に *Annals of Surgery* 誌に報告された[58]。この報告は予定された二期的肝切除に対するセ

プラフィラムの効果を評価する介入研究で、肝切除後の癒着についての初めての文献報告と報告されている。2008年7月から2010年3月まで、8施設54例の患者を対象とし、セプラフィラム群41例とコントロール群13例に無作為割り付けを行い、セプラフィラム®の効果を評価している。本研究と同様、主要評価項目は再肝切除における肝授動操作終了までの所要時間であり、その結果はセプラフィラム群が50分、対照群が75分（ともに中央値）で、統計学的な検討はなされていないものの、セプラフィラム®使用で33%の短縮が認められたと報告されている。

本研究との大きな違いは、対象が二次的な肝切除、すなわち「計画的な」再肝切除を対象としていることである。初回肝切除時に再肝切除を前提としており、また再肝切除までのインターバルも短い。臨床的評価を行う上では、全例に再開腹の機会（＝癒着評価の機会）があるため、臨床研究としては有利であり、副次評価項目で、両群間で癒着の強度と範囲を直接的な比較も行っている。

対象は、「大腸癌の両葉多発転移で切除不能症例のうち、二次的肝切除でR0切除が得られ、再切除術までの間隔が6か月以下」という条件を満たす症例であるが、「切除不能」の定義は明確に述べられていない。二次的肝切除と、門脈塞栓術を併用した一次的な肝切除との治療法の優劣は、今後の検討課題であるが、現時点では本邦と欧米とでは、治療戦略の違いが大きく[35]、実際に当科で

は二次的（計画的）再肝切除は年間 1-2 例のみであり、再肝切除のほとんどの症例は、再発治療としての「非計画的な」再肝切除であった。

癒着の重症度判定には前提条件として、評価者は完全にバイアスから解放される必要があり、その克服は重要な課題である。今後の課題として、エビデンスを高め、また客観性の向上を図る意味で第三者による癒着の評価を用いた多施設共同の大規模前向き無作為比較試験を、肝切除においても遂行することは、（直接術野に入っていない人による詳細な肉眼評価が難しい可能性はあるが）、有用と思われる。

ヒトにおける再肝切除において、癒着剥離操作は必要に応じた範囲のみにとどめるため、動物実験のように肝周囲の癒着の強度および範囲を詳細に評価することはできないが、本研究においてラットの肝周囲の癒着を半定量的に評価した癒着の部位ごとの評価は、今後ヒトの肝切除後の癒着の評価にも応用できる可能性がある。

また、今後肝臓外科領域に関しても、他領域同様に鏡視下手術の機会が増加する可能性があるが、創部直下の壁側腹膜との癒着だけでなく肝周囲の腹膜癒着をいかに防ぐかという問題は、開腹手術・鏡視下手術に関わらず引き続き重要であると考えられる。

本研究においては、肝離断面への積極的な癒着防止策が再出血や難治性胆汁漏を惹起する可能性に配慮して、離断面に直接セプラフィルム®を貼ることは避けた。結果的にセプラフィルム®の使用により、胆汁漏を含む術後合併症の増加は認めなかったが、一方でラットを用いた動物実験では、肝切除後に生じる癒着の部位を評価すると、癒着防止バリアを用いない場合、必ず肝離断面に強固な癒着を形成することが示された。ヒトにおいても、とくに前回肝離断面に最も強い癒着が形成される可能性は十分にある。肝切除術後の、肝離断面に関わる合併症（Resection Surface-Related Complication）は主に胆汁漏・膿瘍形成・出血[59]であるが、術後に形成される肝切離面への癒着とこれらの合併症との因果関係については基礎医学的、臨床医学的に今後検討すべき課題であり、肝離断面への癒着防止治療においては、引き続き術後合併症を増加させない配慮が必要であろう。

肝切除術後に生じる癒着を詳細に検討した基礎医学的研究は過去にないが、本研究はラットを用いた動物実験にて初めて検討を加えた。ラットの古典的70%肝切除の術後1週間ですべてのラットに肝離断面に高度な癒着が認められることを明らかにし、「肝切除により誘導される動物の腹腔内癒着モデル」を作成することに成功した。

このモデルを用いてセプラフィルム®以外の癒着防止バリア材料による癒着防止効果を検討した。本研究で適用した癒着防止材料の中では、インターシード®が軽度の癒着防止効果を示したが、完全に癒着を防止する材料はなく、いずれの癒着防止材料も十分に有効ではなかった。

他の動物癒着モデルと比較して、肝切除による介入には強い癒着形成能があり、それは肝切除手技が与える腹膜傷害の性質と関連があると考えられる。他臓器と異なる肝臓の漿膜や中皮細胞の特徴を基礎医学的に評価し、本モデルにおける癒着形成のメカニズムを解明することは将来の癒着防止治療にとって必要であり、今後さらなる研究を重ねていく必要がある。

強い癒着誘導モデルにおいて癒着形成を防ぐ効果を示す材料があれば、多様な癒着の防止に適用できる可能性がある。その点で肝切除モデルは新たな癒着形成モデルとして、次世代の癒着防止材料の研究に有用と考えられる。

一方で盲腸・子宮・壁側腹膜などの従来動物癒着モデルにおいて癒着形成に関わる因子が多種多様にわたることがわかってきており、本研究を通じて肝臓特有の臓側腹膜や中皮細胞層の構造を従来モデルと照らし合わせ、本研究で明らかになった肝切除術による癒着形成のメカニズムを探ることは今後の課題である。

本研究の意義と今後の展望を図 13 に示す。本研究の成果を踏襲し、肝切除術後の癒着防止に関するエビデンスレベルの高い臨床研究と、新たな癒着防止材の開発を視野に入れた基礎研究により、将来的に複数回の肝切除も安全に行なえるような有効な癒着防止治療の開発に向け、今後もさらなる研究を重ねていく必要がある。

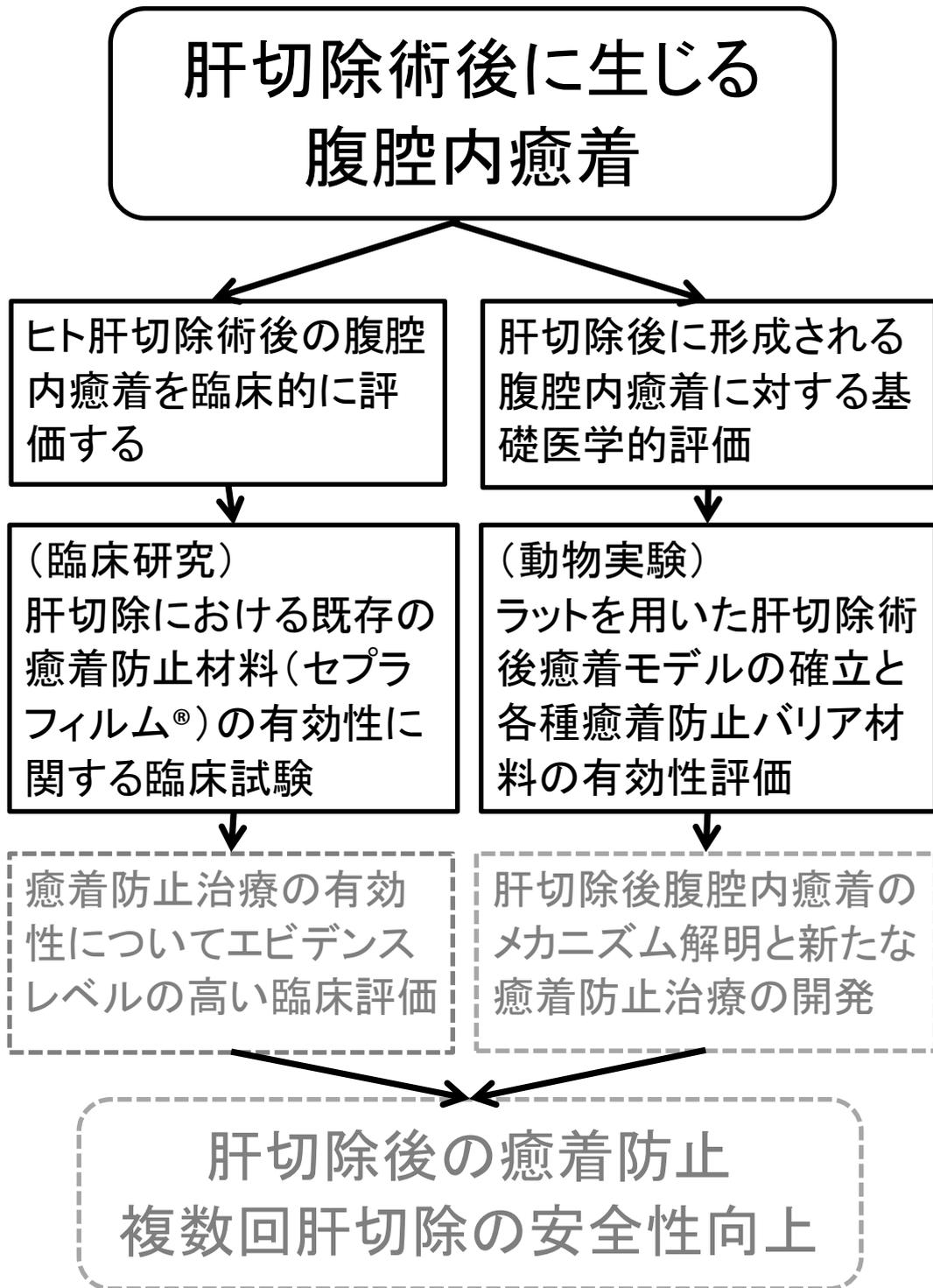


図 13：本研究の意義と今後の展望。実線で囲んだところまで、本研究で遂行した。点線で囲んだところを今後の課題として、最終的な目標である肝切除後の癒着防止により複数回肝切除の安全性向上を達成するべく、研究を進めていきたい。

引用文献

1. Yan TD, Sim J, Black D, Niu R, and Morris DL. Systematic review on safety and efficacy of repeat hepatectomy for recurrent liver metastases from colorectal carcinoma. *Ann Surg Oncol* 14: 2069-2077, 2007.
2. Minagawa M, Makuuchi M, Takayama T, and Kokudo N. Selection criteria for repeat hepatectomy in patients with recurrent hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 238: 703-710, 2003.
3. Petrowsky H, Gonen M, Jarnagin W, Lorenz M, DeMatteo R, Heinrich S, Encke A, Blumgart L, and Fong Y. Second liver resections are safe and effective treatment for recurrent hepatic metastases from colorectal cancer: a bi-institutional analysis. *Ann Surg* 235: 863-871, 2002.
4. Adam R, Bismuth H, Castaing D, Waechter F, Navarro F, Abascal A, Majno P, and Engerran L. Repeat hepatectomy for colorectal liver metastases. *Ann Surg* 225: 51-60; discussion 60-52, 1997.
5. Coleman MG, McLain AD, and Moran BJ. Impact of previous surgery on time taken for incision and division of adhesions during laparotomy. *Dis Colon Rectum* 43: 1297-1299, 2000.

6. Sa Cunha A, Laurent C, Rault A, Couderc P, Rullier E, and Saric J. A second liver resection due to recurrent colorectal liver metastases. *Arch Surg* 142: 1144-1149; discussion 1150, 2007.
7. Kumar S, Wong PF, and Leaper DJ. Intra-peritoneal prophylactic agents for preventing adhesions and adhesive intestinal obstruction after non-gynaecological abdominal surgery. *Cochrane Database Syst Rev* CD005080, 2009.
8. Ahmad G, Duffy JM, Farquhar C, Vail A, Vandekerckhove P, Watson A, and Wiseman D. Barrier agents for adhesion prevention after gynaecological surgery. *Cochrane Database Syst Rev* CD000475, 2008.
9. Kling J. Genzyme's Seprafilm gets FDA marketing nod. *Nat Biotechnol* 14: 572, 1996.
10. Vrijland WW, Tseng LN, Eijkman HJ, Hop WC, Jakimowicz JJ, Leguit P, Stassen LP, Swank DJ, Haverlag R, Bonjer HJ, and Jeekel H. Fewer intraperitoneal adhesions with use of hyaluronic acid-carboxymethylcellulose membrane: a randomized clinical trial. *Ann Surg* 235: 193-199, 2002.
11. Kusunoki M, Ikeuchi H, Yanagi H, Noda M, Tonouchi H, Mohri Y, Uchida K, Inoue Y, Kobayashi M, Miki C, and Yamamura T. Bioresorbable

hyaluronate-carboxymethylcellulose membrane (Seprafilm) in surgery for rectal carcinoma: a prospective randomized clinical trial. *Surg Today* 35: 940-945, 2005.

12. Oncel M, Remzi FH, Connor J, and Fazio VW. Comparison of cecal abrasion and multiple-abrasion models in generating intra-abdominal adhesions for animal studies. *Tech Coloproctol* 9: 29-33, 2005.

13. Ozcelik B, Serin IS, Basbug M, Uludag S, Narin F, and Tayyar M. Effect of melatonin in the prevention of post-operative adhesion formation in a rat uterine horn adhesion model. *Hum Reprod* 18: 1703-1706, 2003.

14. Bae JS, Ahn SJ, Yim H, Jang KH, and Jin HK. Prevention of intraperitoneal adhesions and abscesses by polysaccharides isolated from *Phellinus* spp in a rat peritonitis model. *Ann Surg* 241: 534-540, 2005.

15. Lim R, Stucchi AF, Morrill JM, Reed KL, Lynch R, and Becker JM. The efficacy of a hyaluronate-carboxymethylcellulose bioresorbable membrane that reduces postoperative adhesions is increased by the intra-operative co-administration of a neurokinin 1 receptor antagonist in a rat model. *Surgery* 148: 991-999, 2010.

16. Aarons CB, Cohen PA, Gower A, Reed KL, Leeman SE, Stucchi AF, and Becker JM. Statins (HMG-CoA reductase inhibitors) decrease postoperative adhesions by increasing peritoneal fibrinolytic activity. *Ann Surg* 245: 176-184, 2007.

17. Martins PN, Theruvath TP, and Neuhaus P. Rodent models of partial hepatectomies. *Liver Int* 28: 3-11, 2008.
18. Madrahimov N, Dirsch O, Broelsch C, and Dahmen U. Marginal hepatectomy in the rat: from anatomy to surgery. *Ann Surg* 244: 89-98, 2006.
19. Theodoraki K, Tympa A, Karmaniolou I, Tsaroucha A, Arkadopoulos N, and Smyrniotis V. Ischemia/reperfusion injury in liver resection: a review of preconditioning methods. *Surg Today* 41: 620-629, 2011.
20. Higgins G, and Anderson R. Experimental pathology of the liver: restoration of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol* 12: 186-202, 1931.
21. Yeo Y, Ito T, Bellas E, Highley CB, Marini R, and Kohane DS. In situ cross-linkable hyaluronan hydrogels containing polymeric nanoparticles for preventing postsurgical adhesions. *Ann Surg* 245: 819-824, 2007.
22. Wiseman DM, Trout JR, Franklin RR, and Diamond MP. Metaanalysis of the safety and efficacy of an adhesion barrier (Interceed TC7) in laparotomy. *J Reprod Med* 44: 325-331, 1999.
23. Ito T, Yeo Y, Highley CB, Bellas E, Benitez CA, and Kohane DS. The prevention of peritoneal adhesions by in situ cross-linking hydrogels of hyaluronic acid and cellulose derivatives. *Biomaterials* 28: 975-983, 2007.

24. Koch M, Garden OJ, Padbury R, Rahbari NN, Adam R, Capussotti L, Fan ST, Yokoyama Y, Crawford M, Makuuchi M, Christophi C, Banting S, Brooke-Smith M, Usatoff V, Nagino M, Maddern G, Hugh TJ, Vauthey JN, Greig P, Rees M, Nimura Y, Figueras J, DeMatteo RP, Buchler MW, and Weitz J. Bile leakage after hepatobiliary and pancreatic surgery: a definition and grading of severity by the International Study Group of Liver Surgery. *Surgery* 149: 680-688, 2011.

25. Dindo D, Demartines N, and Clavien PA. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Ann Surg* 240: 205-213, 2004.

26. van Goor H. Consequences and complications of peritoneal adhesions. *Colorectal Dis* 9 Suppl 2: 25-34, 2007.

27. Jones RP, Jackson R, Dunne DF, Malik HZ, Fenwick SW, Poston GJ, and Ghaneh P. Systematic review and meta-analysis of follow-up after hepatectomy for colorectal liver metastases. *Br J Surg* 99: 477-486, 2012.

28. Fazio VW, Cohen Z, Fleshman JW, van Goor H, Bauer JJ, Wolff BG, Corman M, Beart RW, Jr., Wexner SD, Becker JM, Monson JR, Kaufman HS, Beck DE, Bailey HR, Ludwig KA, Stamos MJ, Darzi A, Bleday R, Dorazio R, Madoff RD, Smith LE,

Gearhart S, Lillemoe K, and Gohl J. Reduction in adhesive small-bowel obstruction by Seprafilm adhesion barrier after intestinal resection. *Dis Colon Rectum* 49: 1-11, 2006.

29. Hayashi S, Takayama T, Masuda H, Kochi M, Ishii Y, Matsuda M, Yamagata M, and Fujii M. Bioresorbable membrane to reduce postoperative small bowel obstruction in patients with gastric cancer: a randomized clinical trial. *Ann Surg* 247: 766-770, 2008.

30. Beck DE, Ferguson MA, Opelka FG, Fleshman JW, Gervaz P, and Wexner SD. Effect of previous surgery on abdominal opening time. *Dis Colon Rectum* 43: 1749-1753, 2000.

31. Tang CL, Seow-Choen F, Fook-Chong S, and Eu KW. Bioresorbable adhesion barrier facilitates early closure of the defunctioning ileostomy after rectal excision: a prospective, randomized trial. *Dis Colon Rectum* 46: 1200-1207, 2003.

32. Salum M, Wexner SD, Noguerras JJ, Weiss E, Koruda M, Behrens K, Cohen S, Binderow S, Cohen J, Thorson A, Ternent C, Christenson M, Blatchford G, Pricolo V, Whitehead M, Doveney K, Reilly J, Glennon E, Larach S, Williamson P, Gallagher J, Ferrara A, Harford F, Fry R, Eisenstat T, Notaro J, Chinn B, Yee L, Stamos M, Cole P, Dunn G, and Singh A. Does sodium hyaluronate- and carboxymethylcellulose-based

bioresorbable membrane (Seprafilm) decrease operative time for loop ileostomy closure? *Tech Coloproctol* 10: 187-190; discussion 190-181, 2006.

33. Zinther NB, Zeuten A, Marinovskij E, Haislund M, and Friis-Andersen H. Detection of abdominal wall adhesions using visceral slide. *Surg Endosc* 24: 3161-3166, 2010.

34. Buhmann-Kirchhoff S, Lang R, Kirchhoff C, Steitz HO, Jauch KW, Reiser M, and Lienemann A. Functional cine MR imaging for the detection and mapping of intraabdominal adhesions: method and surgical correlation. *Eur Radiol* 18: 1215-1223, 2008.

35. Yamashita S, Hasegawa K, Takahashi M, Inoue Y, Sakamoto Y, Aoki T, Sugawara Y, and Kokudo N. One-stage hepatectomy following portal vein embolization for colorectal liver metastasis. *World J Surg* 37: 622-628, 2013.

36. Bulpitt P, and Aeschlimann D. New strategy for chemical modification of hyaluronic acid: preparation of functionalized derivatives and their use in the formation of novel biocompatible hydrogels. *J Biomed Mater Res* 47: 152-169, 1999.

37. Yeo Y, Highley CB, Bellas E, Ito T, Marini R, Langer R, and Kohane DS. In situ cross-linkable hyaluronic acid hydrogels prevent post-operative abdominal adhesions in a rabbit model. *Biomaterials* 27: 4698-4705, 2006.

38. Jia X, Colombo G, Padera R, Langer R, and Kohane DS. Prolongation of sciatic nerve blockade by in situ cross-linked hyaluronic acid. *Biomaterials* 25: 4797-4804, 2004.
39. Aysan E, Bektas H, and Kaygusuz A. Efficacy of glycerol in preventing postoperative peritoneal adhesions. *J Obstet Gynaecol Res* 36: 639-645, 2010.
40. Hooker GD, Taylor BM, and Driman DK. Prevention of adhesion formation with use of sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane in a rat model of ventral hernia repair with polypropylene mesh--a randomized, controlled study. *Surgery* 125: 211-216, 1999.
41. Ersoy E, Ozturk V, Yazgan A, Ozdogan M, and Gundogdu H. Comparison of the two types of bioresorbable barriers to prevent intra-abdominal adhesions in rats. *J Gastrointest Surg* 13: 282-286, 2009.
42. Irkorucu O, Ferahkose Z, Memis L, Ekinici O, and Akin M. Reduction of postsurgical adhesions in a rat model: a comparative study. *Clinics (Sao Paulo)* 64: 143-148, 2009.
43. Inoh K, Muramatsu H, Ochiai K, Torii S, and Muramatsu T. Midkine, a heparin-binding cytokine, plays key roles in intraperitoneal adhesions. *Biochem Biophys Res Commun* 317: 108-113, 2004.

44. Ozel H, Avsar FM, Topaloglu S, and Sahin M. Induction and assessment methods used in experimental adhesion studies. *Wound Repair Regen* 13: 358-364, 2005.
45. Rajab TK, Wauschkuhn CA, Smaxwil L, Kraemer B, Wallwiener M, and Wallwiener CW. An improved model for the induction of experimental adhesions. *J Invest Surg* 23: 35-39, 2010.
46. Lim R, Morrill JM, Lynch RC, Reed KL, Gower AC, Leeman SE, Stucchi AF, and Becker JM. Practical limitations of bioresorbable membranes in the prevention of intra-abdominal adhesions. *J Gastrointest Surg* 13: 35-41; discussion 41-32, 2009.
47. Reijnen MM, Meis JF, Postma VA, and van Goor H. Prevention of intra-abdominal abscesses and adhesions using a hyaluronic acid solution in a rat peritonitis model. *Arch Surg* 134: 997-1001, 1999.
48. Gaertner WB, Hagerman GF, Felemovicius I, Bonsack ME, and Delaney JP. Two experimental models for generating abdominal adhesions. *J Surg Res* 146: 241-245, 2008.
49. Wallwiener CW, Kraemer B, Wallwiener M, Brochhausen C, Isaacson KB, and Rajab TK. The extent of adhesion induction through electrocoagulation and suturing in an experimental rat study. *Fertil Steril* 93: 1040-1044, 2010.

50. O'Leary JP, Wickbom G, Cha SO, and Wickbom A. The role of feces, necrotic tissue, and various blocking agents in the prevention of adhesions. *Ann Surg* 207: 693-698, 1988.
51. Harris ES, Morgan RF, and Rodeheaver GT. Analysis of the kinetics of peritoneal adhesion formation in the rat and evaluation of potential antiadhesive agents. *Surgery* 117: 663-669, 1995.
52. diZerega GS, and Campeau JD. Peritoneal repair and post-surgical adhesion formation. *Hum Reprod Update* 7: 547-555, 2001.
53. Baptista ML, Bonsack ME, Felemovicius I, and Delaney JP. Abdominal adhesions to prosthetic mesh evaluated by laparoscopy and electron microscopy. *J Am Coll Surg* 190: 271-280, 2000.
54. Wiseman DM, Gottlick-Iarkowski L, and Kamp L. Effect of different barriers of oxidized regenerated cellulose (ORC) on cecal and sidewall adhesions in the presence and absence of bleeding. *J Invest Surg* 12: 141-146, 1999.
55. Yeo Y, Bellas E, Highley CB, Langer R, and Kohane DS. Peritoneal adhesion prevention with an in situ cross-linkable hyaluronan gel containing tissue-type plasminogen activator in a rabbit repeated-injury model. *Biomaterials* 28: 3704-3713, 2007.

56. Hernandez-Cortes P, Peregrina M, Aneiros-Fernandez J, Tassi M, Pajares-Lopez M, Toledo M, and O'Valle F. Oxidized regenerated cellulose does not prevent the formation of experimental postoperative perineural fibrosis assessed by digital analysis. *Histol Histopathol* 25: 741-747, 2010.
57. van Goor H, de Graaf JS, Grond J, Sluiter WJ, van der Meer J, Bom VJ, and Bleichrodt RP. Fibrinolytic activity in the abdominal cavity of rats with faecal peritonitis. *Br J Surg* 81: 1046-1049, 1994.
58. Dupre A, Lefranc A, Buc E, Delpero JR, Quenet F, Passot G, Evrard S, and Rivoire M. Use of bioresorbable membranes to reduce abdominal and perihepatic adhesions in 2-stage hepatectomy of liver metastases from colorectal cancer: results of a prospective, randomized controlled phase II trial. *Ann Surg* 258: 30-36, 2013.
59. de Boer MT, Klaase JM, Verhoef C, van Dam RM, van Gulik TM, Molenaar IQ, Bosscha K, Dejong CH, Van der Jagt EJ, and Porte RJ. Fibrin sealant for prevention of resection surface-related complications after liver resection: a randomized controlled trial. *Ann Surg* 256: 229-234, 2012.

公表

本研究の成果は以下の形で公表した。

臨床研究（本文 第2章）

国内学会：2013年10月11日 第11回日本消化器外科学会大会・JDDW 2013

一般演題ポスターセッション（東京・高輪）

「肝切除術後の腹腔内癒着に対する生体吸収性癒着防止バリアの有用性に関する検討」

清水 篤志、長谷川潔、増田晃一、青木琢、阪本良弘、菅原寧彦、國土典宏

基礎研究（本文 第3章）

論文：Surgery Today 誌2014年第44巻314-323頁 DOI 10.1007/s00595-013-0530-8

“A New Hepatectomy-Induced Postoperative Adhesion Model in Rats and Evaluation of the Efficacy of Anti-adhesion Materials”

Atsushi Shimizu, Takashi Suhara, Taichi Ito, Kiyohiko Omichi, Katsutoshi Naruse,

Kiyoshi Hasegawa, and Norihiro Kokudo

国際学会：2012年10月1日 American College of Surgeons the 98th Clinical
Congress (Scientific Poster Session, Chicago, USA)

“A New Hepatectomy-Induced Postoperative Adhesion Model in Rats and Effects of
Anti-adhesion Materials”

Atsushi Shimizu, Taichi Ito, Takashi Suhara, Kiyohiko Omichi, Kiyoshi Hasegawa,
and Norihiro Kokudo

国内学会：2012年4月14日第112回日本外科学会定期学術集会・一般演題口
演 (千葉・幕張)

「ラット肝切除による新たな腹腔内癒着モデルの開発と癒着防止材料の有効
性に関する検討」

清水 篤志、伊藤大知、須原宜史、長谷川潔、國土典宏

謝辞

指導教官として多岐にわたり直接ご指導頂きました、東京大学大学院医学系研究科 肝胆膵外科・人工臓器移植外科 國土典宏教授に深く感謝の意を表します。

臨床研究を直接ご指導頂いた東京大学大学院医学系研究科 肝胆膵外科・人工臓器移植外科 長谷川潔 准教授、基礎研究を直接ご指導頂いた東京大学大学院医学系研究科生体物理医学 疾患工学センター再生医療工学 伊藤大知准教授に深く感謝の意を表します。また終始実験の遂行を介助して頂いた、同研究室博士課程大学院生の須原宜史君に感謝いたします。

実験を技術的に支えて下さった東京大学大学院医学系研究科肝胆膵外科・人工臓器移植外科教務補佐員 竹内淳子様には深く感謝いたします。

最後に、臨床研究の遂行にご協力頂いた東京大学大学院医学系研究科肝胆膵外科人工臓器移植外科 増田晃一先生、動物実験当初よりご協力下さった同成瀬勝俊前助教、大道清彦先生に深く感謝いたします。