

論文の内容の要旨

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

I. 序文

肝細胞癌や、大腸癌肝転移を中心とした転移性肝腫瘍は切除後も再発率が高く、再発時の再肝切除 repeat hepatectomy は患者予後の改善のために有効な治療である。複数回目の肝切除における問題点として、過去の手術後に形成された癒着に対する剥離操作が加わることによる出血量増加・手術時間の延長・周囲臓器損傷のリスクなど手術侵襲の増大が挙げられるが、肝切除術後に形成される腹腔内癒着およびそれを防止する治療法については、過去に詳細な検討がなされていない。

II. 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

(対象と方法)

原発性肝癌および転移性肝腫瘍に対する肝切除に対して、合成吸収性癒着防止材料であるセプラフィルム® (Genzyme 社、米国) が、癒着軽減効果を示すか否かを、前向き介入臨床試験にて検討した。セプラフィルム®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、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物理的に隔離し、28 日以内に生体内に吸収され体外に排出される。

東京大学肝胆膵外科において、2010 年 1 月から 2011 年 12 月までの 2 年間、原発性肝癌および転移性肝腫瘍に対する肝切除症例 201 例に対してセプラフィルム®を使用し、各症例を術後 3 年間追跡し再肝切除時に評価した。本研究では、2013 年 12 月末までに再発し再肝切除を行った症例をセプラフィルム群

(n=31)とした。対照群は、以前にセプラフィルム®使用していなかった2008年1月から2009年12月までの2年間に施行した再肝切除で前回肝切除からの期間が3年以内である症例とした(n=93)。

セプラフィルム群においては肝切除施行時の閉腹直前に、セプラフィルム®(12.7×14.7cm)を肝門部と肝表面に計2枚留置した。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。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。

(結果)

両群の患者背景として、年齢・性別・診断・肝切除術式・皮膚切開の種類・肝切除回数・前回手術からのinterval、他臓器先行切除の有無・肝門部遮断の有無について比較したが、両群間に差はなかった。主要評価項目である手術開始から肝離断開始までの所要時間(以下中央値[範囲])は、セプラフィルム群177分[58-441]：対照群228分[60-596]と、中央値でセプラフィルム群に51分の短縮を傾向として認めたが、統計学的な有意差は認めなかった(P=0.09)。ドレーン中の総ビリルビン値と血清CRP、術後合併症(胆汁漏を含む)の頻度に関しては、他の評価項目を含め両群間に統計学的に有意差を認めなかった。

以上の結果より、肝切除時にセプラフィルム®を使用することで、使用していなかった過去の再肝切除症例と比較すると、癒着剥離の所要時間は短縮される傾向にあり、術後合併症率を増加することなくセプラフィルム®の使用が将来の再肝切除における癒着の軽減に寄与する可能性が示唆された。

Ⅲ. 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動物実験

臨床研究の評価項目は評価者のバイアスが入りにくい客観的な指標である反面、間接的な評価であるという限界があった。臨床において腹腔内癒着を非侵襲的に評価する直接的な手法はないため、癒着防止治療の開発のためには、肝切除においても従来の他の術後癒着モデルと同様、適切な動物モデルが必要であると考えた。ラットを用いて以下の動物実験を行った。

(対象と方法)

43匹の雄のSprague-Dawleyラット(10-13週齢、体重250-350g)を無作為に以下の6群に割り付けた。

- ・グループ0(コントロール:非肝切除群、n=5)：正中切開で開腹し、癒着防止材を使用せずに閉腹した。
- ・グループ1(肝切除施行・癒着防止材料非使用群、n=14)：肝切除後を施行し、癒着防止材料を使用せずに閉腹した。肝切除手技は2つの肝葉(中葉および左外側葉)の茎部を結紮し、同部の肝実質を切除する全肝容積の70%切除に相当する古典的肝切除にて行った。
- ・グループ2(セプラフィルム®群、n=6)：セプラフィルム®を4×5cmの大きさに切り、肝離断面および残肝実質を覆うように貼付した。
- ・グループ3(インターシード®群、n=6)：インターシード®(Johnson and Johnson社、米国)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使用した。インターシード®は酸化再生セルローズからなるシート状の材料で、骨盤内癒着防止材料として製品化されている。
- ・グループ4(HAXゲル群、n=6)：ADH-HAとCHO-HAを1mlずつ腹腔内に投与し、ゲル化したことを

確認後、閉腹した。ゲルは過去に兔の盲腸擦過・腹壁欠損による癒着モデルにおいて、癒着防止効果が報告されている材料で、液体成分からなる異なる材料を生体内で架橋させることで直ちにゲル化しその場に留まるため、立体的で複雑な構造物も効率よく被覆可能であり、肝切除後の立体面に対するバリア材料としての有効性に期待した。

・グループ 5 (HA-CMC ゲル群、n=6) : グループ 4 のゲル成分の組成を HA と CMC にした材料を同様の方法で投与した。

肝切除の 1 週間後に、ラットを安楽死させ、U 字切開にて再開腹し、癒着の強度、範囲、部位を肉眼的に評価した。癒着の程度は以下のスコアにて評価した。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、1. 肝離断面、2. 肝門部、3. 肝表と横隔膜面について部位ごとに行った。

さらに癒着部位の組織学的検討を行った。各ラットの肝との癒着が最も強かった癒着組織を摘出し、ヘマトキシリン-エオジン染色を行った。過去に報告されている半定量的なスコアリング(0~3)に倣って、1.線維化、2.炎症、3.血管増生の各項目を評価した。

(結果)

1.ラット肝切除後癒着モデル

ラットは 43 例全例が肝切除後も 1 週間生存し、評価可能であった。グループ 0 のラット 5 例は全例、肝周囲の癒着形成は認めなかったのに対し、グループ 1 の 14 例は全例で肝離断面と小腸または大網との間にスコア 3 の癒着を形成し、100%の頻度で強固な癒着が形成されたことから、このモデルが肝切除後の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 モデル) と定義した。

2.癒着防止材料の効果の肉眼的評価

RHA モデルに対し、既存の材料および生体内架橋ゲルからなる新規材料を含む 4 種類の癒着防止バリア材料を使用し、それぞれの効果について評価した。グループ 1 のラット全例で、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のに対し、グループ 2 の 6 例中 1 例と、グループ 4、グループ 5 の各 6 例中 2 例で癒着の程度はスコア 2 に軽減された。さらにグループ 3 の 6 例中 3 例は癒着のスコア 1 であり、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。肝離断面と小腸または大網との間の癒着スコアは、グループ 3 ではグループ 0 およびグループ 2 と比べて統計学的に有意に低かった。肝表面・横隔膜面・肝門部を含めた他の癒着部位については、各治療群間で癒着スコアは有意差を認めなかった。以上より癒着防止材料の効果は、インターシード®が若干の癒着軽減効果を示したものの、いずれの材料も癒着を完全に防止する効果を示さなかった。インターシード®は他の材料に比べ、分解吸収されにくく材料の遺残が特徴的であった。

3.組織学的評価

残肝と小腸との間に認められた線維性の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ることが確認された。線維化・炎症・血管増生に関する組織学的スコアは各群間で有意差は認めず、肉眼的スコアとの相関は示されなかった。

IV. 考察

臨床研究では肝切除に対して既存の合成吸収性癒着防止バリア材料であるセプラフィルム®を使用するという外科的介入を行い、前向きに再肝切除症例を集積し、過去の症例との比較した結果、術中の癒着剥離所要時間の短縮が示され、材料の肝切除に対する癒着軽減効果を示唆する結果を得た。

また古典的なラット肝切除モデルを用いて RHA モデルを作成し、既存の材料および生体内架橋ゲルからなる新規材料を含む 4 種類の癒着防止バリア材料の効果を比較検討した。RHA モデルは高度な再現性をもって肝離断面に癒着を誘導する安定したモデルであった。癒着を生じた原因として、残肝の一部の壊死が炎症反応を惹き起こし癒着形成を誘導した可能性があるが、肝切除後の癒着形成を担う基本的なメカニズムは明らかにされていない。インターシード®は術後 1 週間、物理的バリアとして分解されず留まる性質が優れていたことにより、比較的効果が発揮された可能性があるが、いずれの材料も完全に癒着を防止するものではなかった。