

有茎分節腸管内肝組織片充填式補助肝臓の開発（第2報）

—— 大網共充填の効果 ——

小暮公孝,¹ 石崎政利,² 根本雅明³
桑野博行,⁴ 小島至,¹ 磯村寛樹⁵
星野洪郎,⁶ 幕内雅敏⁷

要旨

【目的】 効果的な有茎分節腸管内肝組織片充填式補助肝臓の開発を目的とする。原法では一定期間を過ぎると充填した肝組織片が次第に壊死に陥ってしまった。本研究では組織片が長期生着する方法の開発を目指した。【対象と方法】 雄性ウイスター系ラット (300-400g) から 2-3cm の分節空腸を単離, その粘膜を削除した後, 同じラットから摘出した左葉をミンチし大網と共に共充填し, 決められた期間に犠牲死させ生着状態を組織学的に検討した。【結果】 充填 25 日後でも肝組織片は互いに融合し増殖を続けた。組織学的に壊死融解は認められなかった。更に, 原法では殆どが壊死してしまう充填 60 日後, 90 日後でも肝組織片の一部が遺残していた。これは共充填した大網の効果であると考えられた。【結語】 腸管グラフト内への肝組織片大網共充填法は充填肝組織片の生着期間を延長した。しかし, 腸管グラフトの捻転防止等の術式の改良が今後の課題である。(Kitakanto Med J 2013 ; 63 : 223~232)

キーワード：肝不全, 補助肝臓, 肝組織片大網共充填有茎腸管

はじめに

同所性肝移植, あるいは生体部分肝移植は, 現在のところ, 肝不全を治療するのに最も効果的な方法である。しかし, ドナー不足の現状は相変わらず続いており, 何らかの補助肝臓の開発が求められている。実験的には採取した肝細胞を様々な部位に移植して補助肝臓の働きを担わせる研究が行われてきたが,¹⁻⁶ これを実臨床に応用するとなると肝不全患者の肝機能を十分に補填するところまでは至っていない。近年, Guputa 等はラットの有茎分節腸管内にミンチした肝組織片を充填して補助肝臓にする方法を報告した。Guputa 等によれば充填された肝組織片は肝の基本構造を再構成して増殖し, 充填 42 日後でも viable な状態を維持していたという。^{7,8} 本法は肝細胞移植に比較してより大量の肝組織を移植できる利点

があり, 我々も第 1 報で報告したように Guputa 等の方法に従い有茎分節腸管内に肝組織片を充填して補助肝臓の作成を試みた。しかし, 充填した肝組織片は移植後 10 日前後までは順調に増殖するがそれ以降は, 次第に壊死融解する部分が多くなっていくことが確認された。これは増殖, 増大した肝組織片を維持することの出来る血流が十分に補填されなかったことに起因するものと考えられた。⁹

大網は腹膜 4 層構造から成るが, 胃大弯側からエプロン状に懸垂し横行結腸に癒着しながら横行結腸間膜に連続している。太い胃大網動静脈により栄養されており, また, 感染創の浄化や抗炎症作用や血管新生機能を有していることから,¹⁰ 食道胃管吻合部や気管支形成部などに有茎大網片をあてがい縫合不全や虚血による不良肉芽や縫合不全の発生を予防するのに用いられてきた。¹¹ ま

1 群馬県前橋市昭和町3-39-15 群馬大学生体調節研究所細胞調節分野 2 群馬県藤岡市藤岡942-1 公立藤岡総合病院

3 群馬県渋川市有馬237-1 北毛病院 4 群馬県前橋市昭和町3-39-22 群馬大学大学院病態総合外科学 (第一外科)

5 群馬県前橋市昭和町3-39-22 群馬大学大学院分子予防医学 6 群馬県前橋市昭和町3-39-22 群馬大学先端科学研究指導者育

成ユニット 7 東京都渋谷区広尾4-1-22 日本赤十字社医療センター

平成25年5月27日 受付

論文別刷請求先 〒371-8512 群馬県前橋市昭和町3-39-15 群馬大学生体調節研究所細胞調節分野 小暮公孝

た、しばしば、右胃大網動脈は冠動脈狭窄症では冠動脈のバイパス術にも用いられてきている。¹²

この第2報では有茎分節腸管内に充填した肝組織片への血流を増大させる目的で肝組織片と共にこの血流の豊富な大網を共充填することを試みたので報告する。

対象と方法

肝組織片充填有茎分節腸管グラフト（以後、腸管グラフト）の基本的な作製方法（原法）は第1報⁹で紹介してあるので第2報では割愛するが、今回の肝組織片大網共充填法には雄性ウイスター系ラット29匹（300-400g）を用いた。まず、空腸起始部から数cmのところまで長さ2-3cmの一对の上腸間膜動静脈枝を付けた腸管グラフトを遊離する。腸管グラフトを遊離した後の空腸断端は7-0針付き絹糸（HANDAYA 黒バージンシルク7-0）で端々吻合を行う。この後、ラット肝左葉基部を5-0絹糸で結紮した後、左葉を切除し滅菌シャーレの中でメスを用いて十分にミンチ（mince）し生理的食塩水を含んだガーゼで覆い保存しておく。次に、腸管グラフト内を生理的食塩水に浸した細い綿棒で十分に清拭してからNo.4鋭匙を用いて腸管グラフト内の粘膜を削ぐ。次に、胃大弯から懸垂している大網の先端を腸管グラフト左側から挿入したルーツエ耳鼻科用ピンセットで右側端から腸管グラフト内に引き込む（この逆の場合も試みた）。大網は腸管グラフト右側端に7-0針付き絹糸（HANDAYA 黒バージンシルク7-0）で大網動静脈を巻き込まないように、また、肝組織片が漏出しないように密に結節縫合を行って固定する（図1）。その後、1ml ツベルクリン用シリンジを用いてミンチした肝組織を腸管グラフト内に充填する。この際、腸管グラフト右側端近くをブルドック鉗子でクランプしておき移植片挿入時の圧力で大網縫着部が損傷

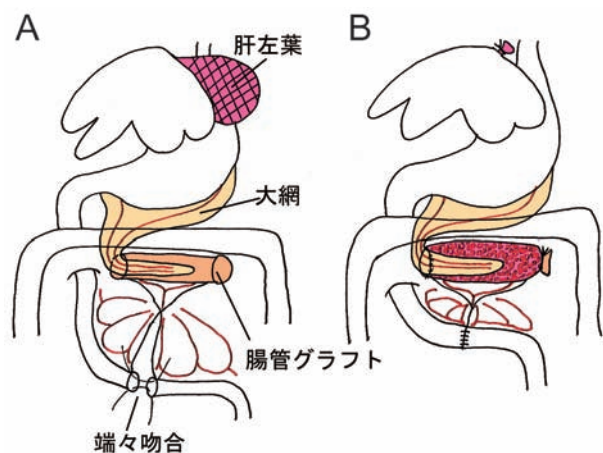


図1 有茎分節腸管グラフト内肝組織片大網共充填法
A: 腸管グラフト内に大網動静脈を温存しながら大網先端を引き入れる。
B: 腸管グラフトに大網を固定したのち肝組織片を充填してグラフトを閉鎖する。

しないように心がける（図2-A）。腸管グラフト左端は5-0絹糸を用いて単結紮で閉鎖する。今回は大網を充填してあるため原法と異なり腸管グラフトを遺残肝中葉に固定しなかった。原法では、術後、7日-10ヶ月の間に犠牲死させ肝組織片大網共充填腸管グラフトを摘出し組織学的（HE染色、PAS染色）に検討したが、⁹今回は原法との比較で長期に viable な肝組織片を維持増殖できるかを見るために、術後、20日以上経ってから犠牲死させて、摘出した肝組織片大網共充填腸管グラフトを組織学的（HE染色）に検討した。各、手術時間は大網充填という操作が加わったため1例当たり2時間20分から3時間30分と比較的、長時間を要した。

結 果

1. 手術内訳

29例中術後7日以内死亡例12匹を除く17例を下記により犠牲死させて肝組織片大網共充填腸管グラフトの状態を組織学的に検討した。

0) 術後7日以内死亡例	12匹
1) 術後20-25日群	5匹
2) 術後40日群	2匹
3) 60-70日群	8匹
4) 90日群	2匹

2. 術後7日以内死亡例（12例）の原因

術後0日、2例（麻酔死）、術後3日、2例、術後4日、1例、術後5日、3例、術後6日、1例、術後7日、3例の計12例（41.4%）が死亡した。深麻酔のため術中に2例が失われた。残りの10例では8例が腸管グラフトの捻転あるいは何らかの原因による腸管グラフトを栄養する腸間膜動静脈の血流不全に起因するグラフトの壊死が死亡原因となっていた。その他、1例では肝左葉摘出時に肝中葉の肝静脈根部を同時に結紮してしまったことによる肝中葉の鬱血による死亡、もう1例では食事摂取不十分による死亡が認められた。大網を充填してあるため原法と異なり腸管グラフトを遺残肝に固定しなかったがこれが原因となってグラフトの捻転や有茎腸管内の動静脈の蛇行を招き血流不全が生じ、結果的にグラフト壊死が招来されたものと考えられた。

3. 有茎分節腸管内肝組織片大網共充填法における充填肝組織片の生着例

Guputa 等による腸管グラフト内にミンチした肝組織片を充填して補助肝臓を作成する原法に対して、新たに大網を肝組織片と共に共充填することで腸管グラフトへの血流を補助した結果、予想通り充填した肝組織片の増大と生着の延長が認められた。

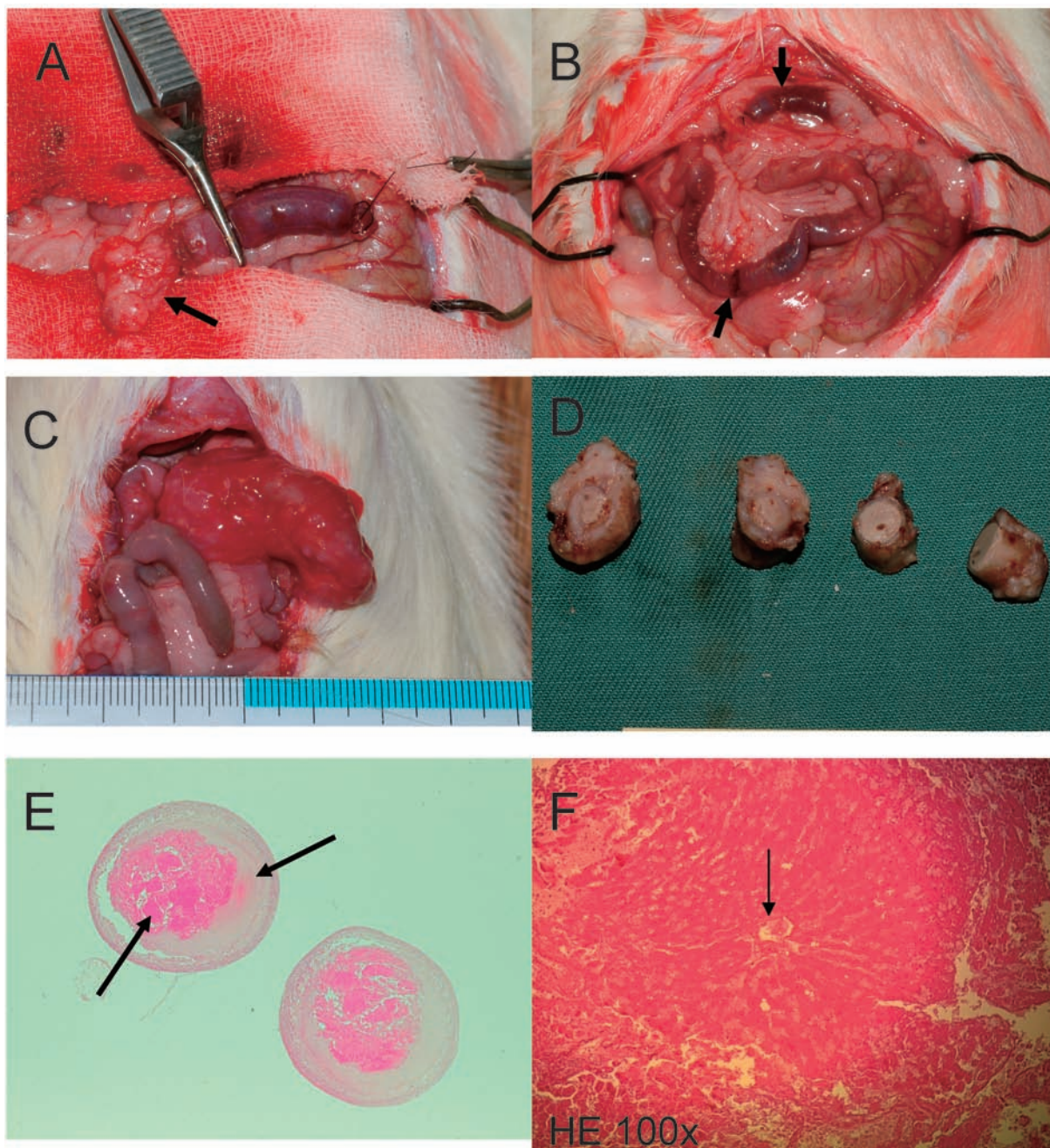


図2 有茎分節腸管グラフト内肝組織片大網共充填 25 日例

- A : 腸管グラフトに大網を充填 (矢印) した後, 大網が脱出しないようにブルドッグ鉗子をかけて肝組織片を充填する.
 B : 大網, 肝組織片を共充填した腸管グラフト (矢印) と遺残空腸の端々吻合 (矢印).
 C : 術後 25 日目の肝組織片大網を共充填した腸管グラフト. 腫大したグラフト周囲に血管が増生している.
 D : フォルマリン固定後のグラフト断面. 内腔には肌色をした肝組織が充満し壊死組織は認められない.
 E : 断面のルーベ像, 中心の好酸性の部分に充填肝組織片 (矢印), 周囲の淡く染まっている部分は共充填した大網 (矢印). HE 1x.
 F : 中心静脈を思わせる管腔 (矢印) に向かって肝細胞板と類洞を思わせる細かな管腔が収斂している. HE100x.

以下, 典型例を提示する.

3-1. 術後20-25日群の特徴 (25日例) (図2)

原法では充填肝組織片の一部が壊死におちいってしまう 20-25 日後でも充填した肝組織片には壊死部分が全く認められなかった.

図2は肝組織片と大網を腸管グラフト内に共充填して

25 日目にそれを摘出したものである. 図2-A は大網を充填した後, 大網が脱出しないようにブルドッグ鉗子をかけてから腸管グラフト内に肝組織片を充填したところを示す. 図2-B は肝組織片と大網を共充填した腸管グラフトとグラフトを単離した後の遺残空腸を端々吻合したところを示す. 図2-C は術後 25 日目の腸管グラフトを示す. グラフト周囲に血管が増生しグラフトも大きく腫

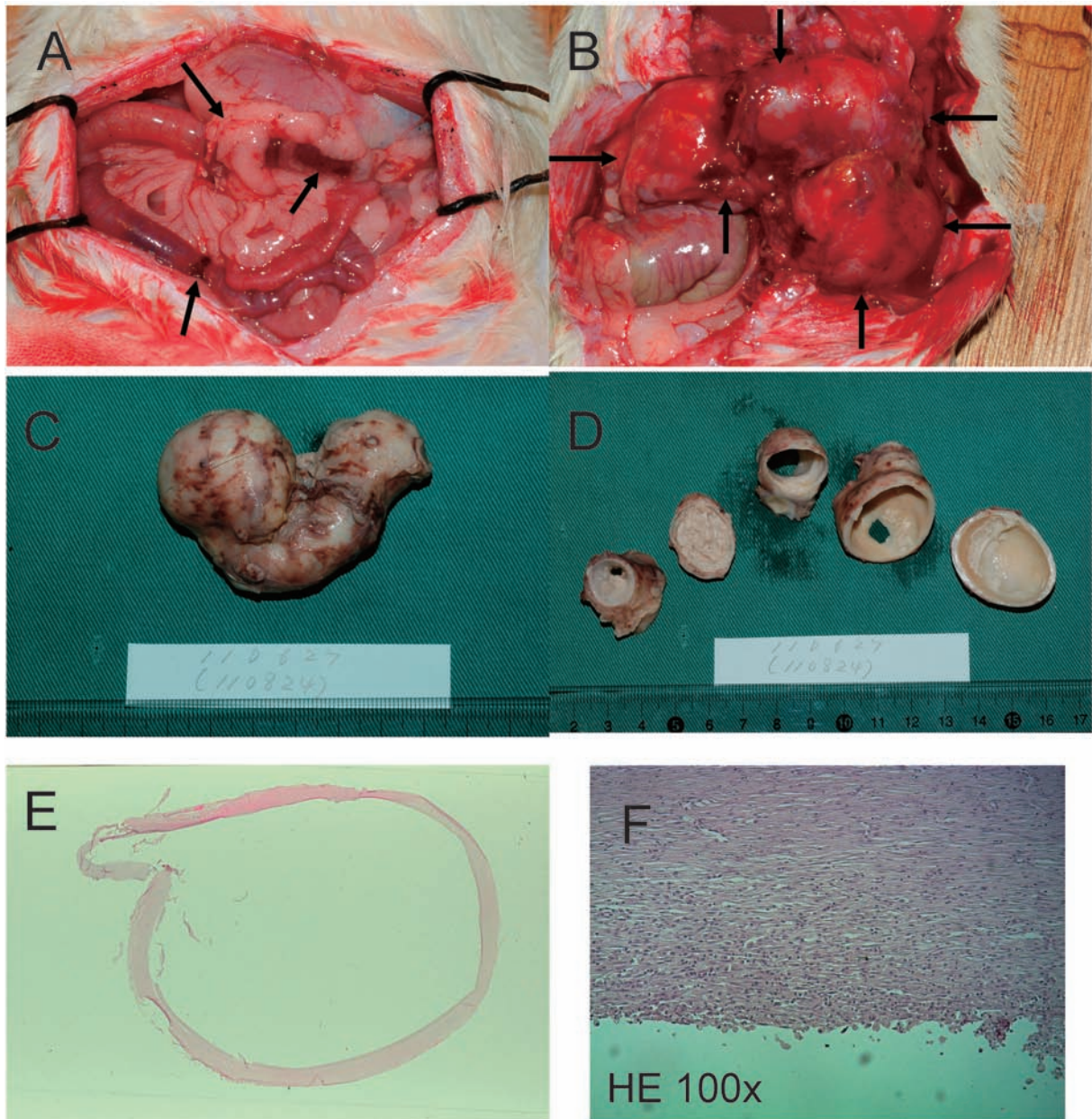


図3 有茎分節腸管グラフト内肝組織片大網共充填 60 日例
 A : 大網 (矢印) と肝組織片を共充填した腸管グラフト (矢印) ならびに遺残空腸を端々吻合 (矢印).
 B : 直径, 長径とも超巨大化し大蛇がのたうち回るように屈曲して腹腔内を占める腸管グラフト (矢印).
 C : フォルマリン固定後の腸管グラフト.
 D : フォルマリン固定後の腸管グラフトの断面. 粥状の内容物は殆ど流出してしまっ
 E : 腸管グラフトのルーベ像. 径 30mm. HE 1x.
 F : 腸管グラフト壁の組織像. 粘膜は完全に脱落している. HE100x.

大していた. 図2-D は摘出した腸管グラフトをフォルマリン固定した後の断面を示す. グラフトは硬圧迫性に腫大し内腔には肌色をした肝組織が充填している. 壊死組織は認められなかった. 図2-E はその断面を HE 染色したルーベ像であるが充填した肝組織が腸管グラフト内腔に充填しているのが認められた. 中心の好酸性に染まっている部分が充填肝組織片で, 周囲の淡く染まっている部分が充填した大網である. 強拡大で見ると大網片が層状に詰まっているのが認められた. 図2-F はその組織像である. 中心にある中心静脈を思わせる管腔 (矢印) に向

かって肝細胞板と類洞を思わせる細かな管腔が収斂しているのが見て取れる. あたかも正常肝組織の肝小葉を見るときである.

3-2. 術後60-70日群の特徴

原法では充填した肝組織片の殆どが壊死におちいってしまう 60-70 日後でも部分的に充填肝組織片の生着する例が認められた. また, 腸管グラフトそのものも原法に比し大きくなる傾向が認められた.

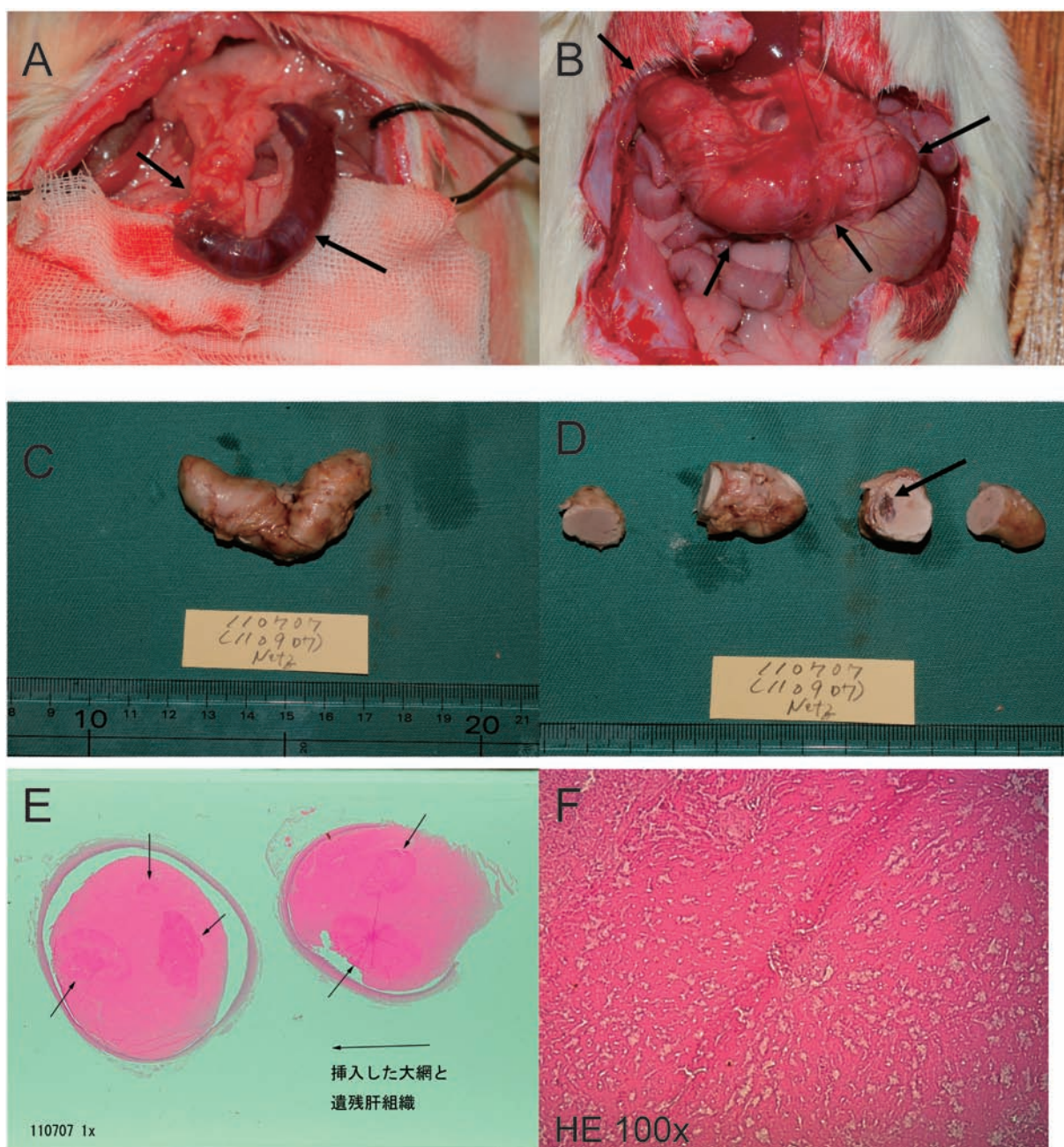


図4 有茎分節腸管グラフト内肝組織片大網共充填60日例

- A: 大網(矢印)と肝組織片を共充填した腸管グラフト(矢印).
 B: 大きく腫大した腸管グラフト(矢印). 周囲に血管が増生している.
 C: フォルマリン固定後の腸管グラフト.
 D: フォルマリン固定後の腸管グラフトの断面. 肌色の壊死部分と茶褐色の遺残肝組織(矢印).
 E: 断面のルーベ像. 強好酸性の部分が遺残充填肝組織片(矢印), 共充填した大網(矢印). 弱好酸性の部分は壊死部分. HE 1x.
 F: 中心静脈を思わせる管腔は認められないものの肝細胞板と類洞を思わせる細かな管腔が中心に向かって収斂している. HE100x.

3-2-1. 腸管グラフトが超巨大化した例(図3)

図3は肝組織片と大網を腸管グラフト内に共充填して60日目にそれを摘出したものであるが腸管グラフトが超巨大化した例である.

図3-A 肝組織片大網共充填有茎分節腸管グラフトならびに遺残空腸を端々吻合したところを示す. 作成した腸管グラフトは直径5mmほど, 長径は30mmほどであった. 図3-Bは術後60日目に開腹したときのもので

ある. 腸管グラフトは直径, 長径とも超巨大化して直線的には腹腔内に納まらずのたうち回るように屈曲して腹腔内を占めていた. 屈曲したままの長径が80mmほどあり伸展させると100mmを超える長さであった. また, 直径も大きな部位では30mmほどに腫大していた. 触診では軟圧迫性で内容物は泥状のものと推察された. 図3-Cは摘出した腸管グラフトをフォルマリン固定したもので図3-Dはその断面を示す. 内容物は殆ど流出してしま

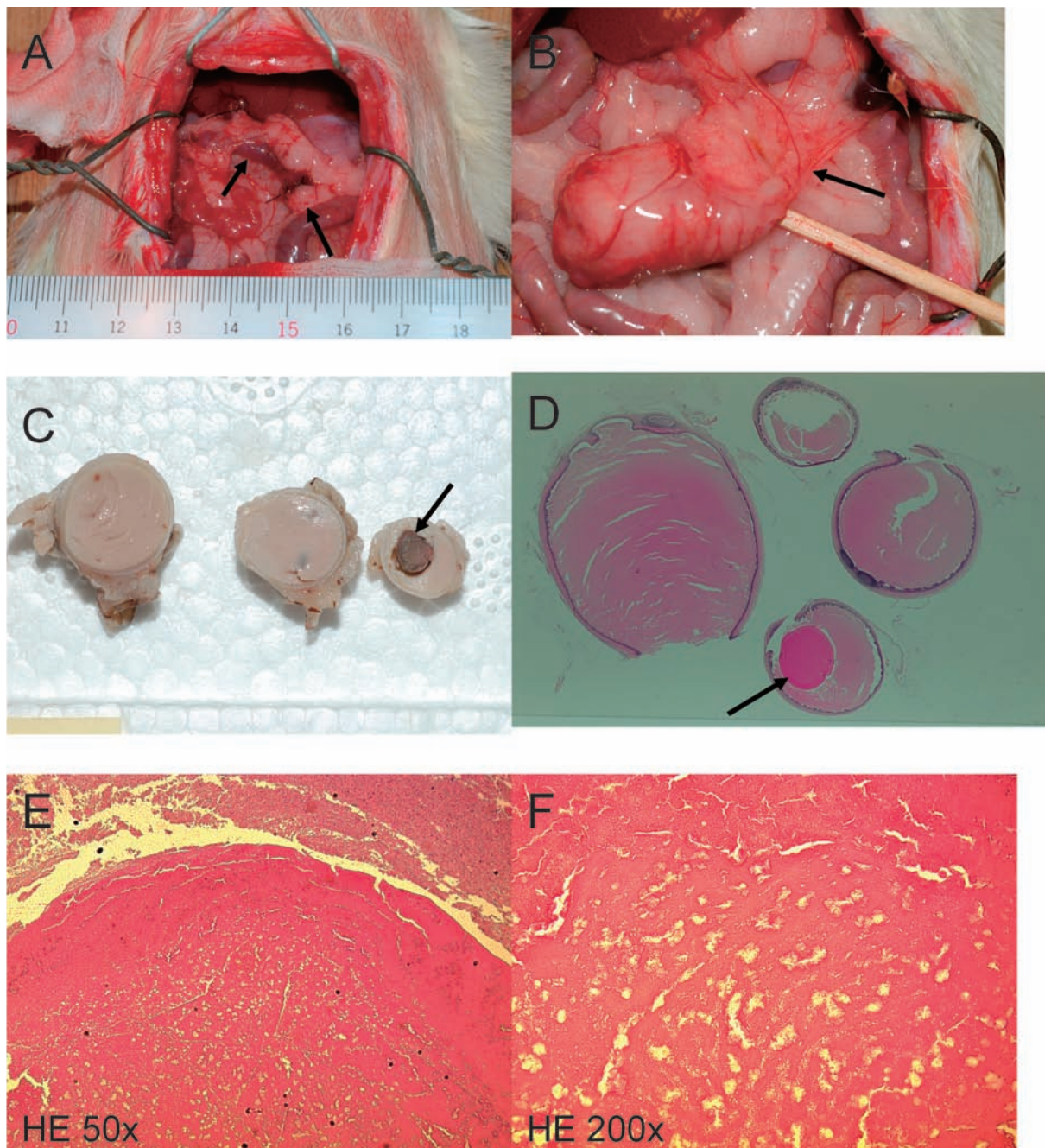


図5 有茎分節腸管グラフト内肝組織片大網共充填90日例

- A: 大網(矢印)と肝組織片を共充填した腸管グラフト(矢印). 本例では腸管グラフトの左側から大網を充填してある.
 B: 周囲に血管が増生し大きく腫大した腸管グラフト. 矢印は左側に充填した大網.
 C: フォルマリン固定後の腸管グラフトの断面. 肌色の壊死部分と茶褐色の遺残肝組織(矢印).
 D: 断面のルーペ像. 強好酸性の部分が遺残充填肝組織(矢印). HE 1x.
 E: 遺残肝組織の組織像. 周囲を層状の組織が囲み内部に多数の不整形の管状構造が散在している. HE50x.
 F: 多数の不整形の管状構造は互いに連絡しているが中心静脈を思わせる管腔は認められない. 細かな管腔が中心に向かって収斂しているように見える. HE200x.

い、一部に泥状の壊死物質が遺残していた。図3-EはHE染色した腸管グラフトのルーペ像である。肥厚した腸管グラフト壁には小腸粘膜の遺残を全く認めなかった。図3-Fはその組織像である。粘膜が脱落しているが分節腸管グラフト壁の筋層、特に内輪層の肥厚が認められる。

3-2-2. 腸管グラフトの腫大と充填肝組織の遺残例

(図4)

図4は肝組織片と大網を腸管グラフト内に共充填して60日目にそれを摘出したものであるがグラフトの増大と部分的に肝組織片の生着が認められた例である。

図4-Aは肝組織片大網共充填有茎分節腸管グラフトを示す。作成したグラフトは径5mmほど、長径30mmほ

どである。図4-Bは術後60日目の有茎分節腸管グラフトを示す。腸管グラフト周囲に血管が増生しグラフトも大きく腫大している。径10mm以上、長径は屈曲したままで60mm以上で、伸展させると70mmは超えていた。触診では相対的には軟圧迫性で一部硬圧迫性であった。内容物には泥状の部分と硬い肝組織の遺残を思わせる部分が認められた。図4-Cは摘出した腸管グラフトをホルマリン固定したものである。図4-Dはその断面を示す。腸管グラフトは固く腫大し内腔には泥状の肌色をした組織が充満しているが一部に茶褐色の肝組織の遺残を思わせる部分が認められる。図4-Eはその断面をHE染色したルーベ像であるが好酸性に染まる泥状の組織の中にやや濃く好酸性に染まる遺残肝組織塊が認められた。図4-Fは遺残肝組織塊の組織像である。中心には明らかに中心静脈を思わせる管腔は認められないものの、中心に向かって肝細胞板と類洞を思わせる細かな管腔が収斂しているのが見て取れる。正常肝組織類似構造を呈しているようにみえる。

3-3. 術後90日群の特徴 (90日例)

原法では充填肝組織片が完全に壊死におちいってしまう90日後でも部分的に充填肝組織片の生着する例が認められた。

図5は肝組織片と大綱を有茎分節腸管グラフト内に共充填して90日目にそれを摘出したものである。図5-Aは肝組織片大綱共充填有茎分節腸管グラフトを示す。本例では腸管グラフトの左側から大綱を充填してある。作成したグラフトは径5mm以下、長径25mmほどである。図5-Bは術後90日目の腸管グラフトを示す。グラフト周囲に血管が増生しグラフトも大きく腫大している。長径は40mmほどで大綱を充填した左側は細くなっていたが対側の右側は径10mm以上に腫大していた。また、長径は40mmほどであった。触診では軟圧迫性で内容物は大部分が泥状を呈していた。しかし、やや、細めの大綱挿入部は硬圧迫性で肝組織の遺残を思わせる部分が認められた。図5-Cは摘出した腸管グラフトをホルマリン固定したその断面を示す。グラフトは固く腫大し内腔には泥状の肌色をした組織が充満しているが、細くなった左側端には一部に褐色の肝組織の遺残を思わせる部分が認められた。図5-Dはその断面をHE染色したルーベ像であるが大部分は好酸性に染まる泥状の組織が充満していたがグラフトの細くなった部分には好酸性に濃く染まる遺残肝組織塊が認められた。図5-Eは遺残肝組織塊の組織像である。低倍率で見ると周囲を層状の組織が囲み内部に多数の不整形の管状構造が散在していた。図5-Fはその強拡大像であるが不整形の管状構造は互いに連絡しているように見え類洞構造の変性したものと考えられ

た。中心には中心静脈を思わせる管腔は認められないものの、中心に向かって肝細胞板と類洞を思わせる細かな管腔が収斂しているように見て取れる。変性はしているものの正常肝組織類似構造を呈しているようにみえる。

4. 結果のまとめ

原法では有茎分節腸管グラフト内に充填した肝組織片が完全に壊死におちいってしまう90日後でも腸管グラフト内に部分的ではあるが充填した肝組織片の生着する例が認められた。しかし、グラフトの捻転が主因で術後早期に失われる例もあった。

考 察

重症肝不全を治療するには現在では肝移植がもっとも効果的な方法であるが肝移植に頼らないで肝不全に対処することが出来るように様々な補助肝臓の作成方法が試みられてきている。しかし、体外型人工肝臓は複雑な機構を必要とし高価であり一般化するのが難しい。これまでは主として単離した肝細胞を移植し生体内で肝機能を発揮させようとする試みが行われてきている。¹⁻⁶ 肝細胞を生体に移植して補助肝臓を作成する試みは本邦では水戸らによる脾内肝細胞移植の研究¹を嚆矢とする。そして実験的にはこれまでに前眼房、腎被膜下、腹腔内、腸間膜脂肪織、腹壁皮下など20個所以上の部位への肝細胞移植が試みられてきている。² 近年、その肝細胞移植法にも工夫が凝らされ、不死化処置を施した肝細胞の移植、³ 増殖力と多分化能を有する肝の幹細胞の移植、⁴ 胚性幹細胞を肝細胞に分化させ、それを特殊コーティングした人工膜の袋に充填し、それを皮下に移植、⁵ 肝細胞を特殊コーティングした人工膜に播種し、あらかじめ皮下に埋め込んでおいたvascularizationを促す処置を施したプレートを引き抜いたところにそれを移植、⁶ などの方法が行われて効果を上げてきている。また、最近では十分な肝機能を発揮させるために肝細胞の立体的培養法の開発も精力的に行われている。¹³ 慶応大理工学部の須藤等は小型肝細胞を培養した二枚の多孔性薄膜を貼り合わせることでプレート間に毛細胆管を再生させることで肝細胞索の再構築を目指している。^{14,15} 東大生産技術研究所の竹内研究室では特殊なplateを開発し、平面的に肝細胞を培養したPlateを、後に、折り紙のように立体化させるという立体細胞培養法を開発した。¹⁶ また、慶応大医学部外科のグループでは豚肝臓の細胞を除去したあとの肝臓の骨格化したものに改めて別の豚から単離した肝細胞を移植することに成功したと報告している。¹⁷

上記の諸研究は一旦、単離した肝細胞に工夫を加えて肝機能を発揮するように再構築して培養する方法が基本になっているが、これに対してGuputa等の開発した有

茎分節腸管グラフト内にミンチした肝組織片を充填して補助肝臓を作成する方法では最初から肝臓の最小機能単位である肝小葉をそのままの構造を維持したまま移植できるので、わざわざ肝小葉に含まれる肝細胞、類洞内皮細胞、星細胞、Kupffer細胞などの諸細胞を立体的に再配置する処置の必要がない。^{7,8} また、本法は肝細胞量で比較するならば、肝細胞移植に比較して遙かに大量の肝細胞量(上記の肝小葉を構成する基本細胞集団)を移植できる利点もある。しかし、その後、Guputaらのグループからこの肝組織片充填腸管グラフト法に関しての続報が見られないこと、また、本法を追試したという世界の他の研究グループからの報告も見られないことが気にかかる。これは有茎分節腸管グラフト内に充填した肝組織片が早期には融合して肝の基本構造を再構成して増殖するがある時点から次第に壊死、融解方向への道筋をたどってしまうこと、そして、その原因としては肝組織片の増殖、増大に伴う血流の維持が不十分になってしまうこと、などの理由により本法は臨床応用には向かないのではないかと考えられたためと推測される。我々の実験報告⁹は世界でもGuputa等の報告に続くものであるが、今回、我々は本法の弱点を解決するために、充填した肝組織片への血流を増大させてグラフトの維持、増大をはかる目的で肝組織片と共に血流の豊富な大網を腸管グラフト内に共充填することを試みた。周知のように大網は abdominal policeman¹⁸⁻²¹ と言われるように腹腔内の炎症臓器に癒着し炎症部を覆って病変が他に波及するのを防いでいる。これは虫垂炎の手術の際などによく経験するところであるが、その幅広く長い flap 状の特性を生かして食道胃管吻合部周囲に有茎の大網を充填し死腔を塞ぐと共にその血流を利用して血流不足による縫合不全を防ぐことにも用いられている。¹⁰ また、狭窄した冠動脈へのバイパス手術では右胃大網動脈が用いられることもある。^{12,22,23} 我々の実験では大網を共充填することで予想通り腸管グラフト内に充填した肝組織片の生着延長効果が認められた。原法と比較すると肝組織片充填 30 日前後では原法では遺残する肝組織片が壊死により半分ほどになってしまっていたのに対し肝組織片大網共充填法では、ほぼ、全ての充填した肝組織片が遺残していた。しかも原法では充填された肝組織片には組織学的に完全な肝細胞索の遺残は認められず、若干、変性した形状を示していたのに対し、⁹ この大網共充填法では、ほぼ、完全な肝小葉を思わせる肝細胞索構造が遺残していた(図2)。また、原法では充填した肝組織片が殆ど壊死に陥ってしまう 60 日後(図4)、90 日後(図5)でも肝組織片の一部が遺残して肝の基本構造を維持していたことは共充填した大網の血流補助効果と考えられた。特に、図3に示した 60 日例では腸管グラフトそのものが超巨大化しており大網の血流が

直接、腸管グラフトの血流と交通した可能性が推測された。しかし、我々の施行した肝組織片大網共充填法ではプラス面だけでなくマイナス面も認められた。結果に示したようにマイナス面としては 29 例中 12 例が術後 7 日以内に死亡したことが挙げられる。この原因としては大網を共充填するという操作が複雑になるため手術時間が長くなること、大網を充填するため腸管グラフトを遺残肝に固定することが難しくなり、そのためにグラフトが捻転を起こしやすくなること、また、腸管グラフトの栄養を支える腸間膜動静脈がまっすぐに伸展しないで蛇行したままの状態になってしまうこと、これらが原因となり腸管グラフトへの血流が途絶、あるいは不十分になり腸管グラフトの壊死が招来されるためと考えられた。

以上、動物実験を主にした補助肝臓に関する研究を見てきたが、従前には実臨床での肝細胞移植の試みも精力的に検討されたこともあった。²⁴ しかし、肝移植に比較して効果に乏しかったため、その後の実臨床での肝細胞移植の発展は殆ど見られなかった。しかし、近年になり再び実臨床の場で肝細胞移植の試みが行われようとしてきている。^{25,26} これらは基本的には単離し保存しておいた肝細胞を患者の門脈内に輸注して患者の肝臓に生着した肝細胞に本来の機能を発揮させようとするものである。しかし、その効果は肝移植に勝るものではなく、いまだ、挑戦的段階にあるといえよう。

我々が第1報で、この有茎分節腸管グラフトに他の臓器の機能細胞を充填することでその代用臓器としても利用できることを指摘したが、⁹ 既に、Iwasaki等は胎児の膵臓を有茎分節腸管グラフト内に充填してその効果を見ている。²⁷ また、近年、Guputaらは、糖尿病ラットに有茎分節腸管グラフトを作成し、その腸管グラフト内に別の正常ラットから単離した膵島細胞を充填して代用膵臓を作成することで、60日間、血糖を正常に保つことが出来たという報告をしている。²⁸ 有茎分節腸管グラフトを用いた機能細胞移植法はいろいろな発展の可能性を秘めているといえよう。

結 語

今回、Guputa等の開発した有茎分節腸管グラフト内にミンチした肝組織片を充填して補助肝臓を作成する原法に対して、新たに大網を共充填することで充填肝組織片への血流を補助し肝組織片の増殖と生着の延長を計ったが、結果的には予想通りの肝組織片生着延長効果が認められた。但し、腸管グラフトそのものの壊死により早期に失う例も多かった。グラフトの固定方等の改良を加えれば、更に、良好な結果が期待できる。また、異所性に移植した肝臓の維持には門脈血流が必須であるとの論文

もあり、今回行った大網充填法での大網の血流だけでは門脈血として不十分であると考えられる。更に、門脈血流を考慮した術式の開発が求められている。²⁹

謝 辞

本研究は群馬大学動物実験委員会の承認の元に群馬大学医学系研究科動物実験施設で行われた。また、科学研究費(挑戦的萌芽研究 21659314, 2365936)の補助金によって行われた。

文 献

- Mito M, Ebata H, Kusano M, et al. Morphology and function of isolated hepatocytes transplanted into rat spleen. *Transplantation* 1979; 28(6): 499-505.
- Gupta S. Hepatocyte transplantation: novel applications. In: Strain AJ, Diehl AM(eds). *Tissue engineering, stem cells, and gene therapies*. London: Chapman & Hall 1998: 577-607.
- Ohashi K, Park F, Kay MA. Hepatocyte transplantation: clinical and experimental application. *J Mol Med (Berl)* 2001; 79(11): 617-630.
- Shibata C, Mizuguchi T, Kikkawa Y, et al. Liver repopulation and long-term function of rat small hepatocyte transplantation as an alternative cell source for hepatocyte transplantation. *Liver Transpl* 2006; 12(1): 78-87.
- Soto-Gutiérrez A, Kobayashi N, Rivas-Carrillo JD, et al. Reversal of mouse hepatic failure using an implanted liver-assist device containing ES cell-derived hepatocytes. *Nat Biotechnol* 2006; 24(11): 1412-1419.
- Ohashi K, Yokoyama T, Yamato M, et al. Engineering functional two- and three-dimensional liver systems in vivo using hepatic tissue sheets. *Nat Med* 2007; 13(7): 880-885.
- Berishvili E, Liponava E, Kochlavashvili N, et al. Heterotopic auxiliary liver in an isolated and vascularized segment of the small intestine in rats. *Transplantation* 2003; 75(11): 1827-1832.
- Joseph B, Berishvili E, Bente D, et al. Isolated small intestinal segments support auxiliary livers with maintenance of hepatic functions. *Nat Med* 2004; 10(7): 749-753.
- 小暮公孝, 石崎政利, 根本雅明ら. 有茎分節腸管内肝組織片充填式補助肝臓の開発—第1報. *KITAKANTO Med J* 2013; 63(2): 133-140.
- 小林孝一郎. 有茎大網移植における浄化, 抗炎症作用と血管新生に関する実験的研究. *金沢大学十全医学会雑誌* 1993; 102(1): 70-80.
- 財間正純, 光吉 明, 藤村直幸. 左気管支環状合併切除を行った胸部食道癌の1例とその手術手技の検討. *日本消化器外科学会雑誌* 1998; 31(9): 2024-2027.
- 広松 孝, 長谷川洋, 坂本栄至ら. 胃大網動脈による冠状動脈バイパス術後の食道癌手術の一例. *日本臨床外科学会雑誌* 2006; 67(4): 784-789.
- 谷水直樹, 三高俊広. 肝上皮細胞による組織構造形成. *生化学* 2012; 84(8): 658-665.
- Sudo R, Mitaka T, Ikeda M, et al. Maintenance of cell morphology and function by vertical cell-cell adhesion in three-dimensional stacked-up culture of rat hepatocyte. *Journal of Biomechanical Science and Engineering* 2008; 3(2): 235-248.
- Kasuya J, Sudo R, Tamogami R, et al. Reconstruction of 3D stacked-up hepatocyte tissues by degradation of microporous poly (D, L-lactide-co-glycolide acids) membranes. *Biomaterials* 2012; 33(9): 2693-2700.
- Kuribayashi-Shigetomi K, Onoe H, Takeuchi S. Cell origami: Self-folding of three-dimensional cell-laden microstructures driven by cell traction force. *PLoS ONE* 2012; 7(12): 1-8.
- Yagi H, Fukumitsu K, Fukuda K, et al. Human-scale whole-organ bioengineering for liver transplantation: A regenerative medicine approach. *Cell Transplant* 2013; 22(2): 231-242.
- No authors listed. The abdominal policeman. *Br Med J* 1963; 2: 963-964.
- Walker F. C. The protective function of the greater omentum. *Ann R Coll Surg Engl* 1963; 33(5): 282-306.
- Sompayrac SW, Mindelzum RE, Silverman PM, et al. The greater omentum. *AJR* 1997; 168: 683-687.
- Platell C, Cooper D, Papadimitriou JM, et al. The omentum. *World J Gastroenterology* 2000; 6(2): 169-176.
- 三重野繁敏, 近藤敬一郎, 小澤英樹ら. 横隔膜経路による右冠動脈バイパス再手術法. *冠疾患誌* 2009; 15: 132-134.
- 松本圭五, 鈴木昌八, 落合秀人ら. 右大網動脈による冠状動脈バイパス術後に肝中央2区域切除術を施行した非B非C型肝細胞癌の1例. *日本外科系連合会雑誌* 2011; 36(2): 197-202.
- Mito M, Kusano M. Hepatocyte transplantation in man. *Cell Transplant* 1993; 2: 65-74.
- Lee KW, Lee JH, Shin SW, et al. Hepatocyte transplantation for glycogen storage disease type Ib. *Cell Transplant* 2007; 16: 629-637.
- Gomez M, Manyalich M, Meyburg J, et al. Hepatocyte isolation from livers not suitable for whole organ transplantation and first clinical series of hepatocyte transplantation. 10th International Society for Organ Donation and Procurement, Berlin, 4-7 Oct, 2009.
- Fujimoto Y, Uemoto S, Murakami T, et al. Use of rat segmental intestine for fetal pancreatic transplantation. *Microsurgery* 2010; 30(4): 296-301.
- Kakabadze Z, Gupta S, Brandhorst D, et al. Long-term engraftment and function of transplanted pancreatic islets in vascularized segments of small intestine. *Transplant Int* 2011; 24(2): 175-183.

29. de Jonge J, Madern GC, Terpstra OT, et al. Directing portal flow is essential for graft survival in auxiliary partial heterotopic liver transplantation in the dog. *J Pediatr Surg* 1999; 34(8): 1265-1268.

Second Report on the Development of an Auxiliary Liver Using a Small Intestinal Segment Packed with Liver Microfragments and a Greater Omentum

Kimitaka Kogure,¹ Masatoshi Ishizaki,² Masaaki Nemoto,³
 Hiroyuki Kuwano,⁴ Itaru Kojima,¹ Hiroki Isomura,⁵
 Hiroo Hoshino⁶ and Masatoshi Makuuchi⁷

- 1 Laboratory of Cell Physiology, Institute for Molecular and Cellular Regulation, Gunma University, 3-39-15 Showa-machi, Maebashi, Gunma 371-8512, Japan
- 2 Public Fujioka General Hospital, 942-1 Fujioka, Fujioka, Gunma 375-8503, Japan
- 3 Hokumou Hospital, 237-1 Arima, Shibukawa, Gunma 377-0005, Japan
- 4 Department of General Surgical Science (Surgery I), Gunma University Graduate School of Medicine, 3-39-22 Showa-machi, Maebashi, Gunma 371-8511, Japan
- 5 Department of Hygiene, Gunma University Graduate School of Medicine, 3-39-22 Showa-machi, Maebashi, Gunma 371-8511, Japan
- 6 Advanced Scientific Research Leaders Development Unit, Gunma University, 3-39-22 Showa-machi, Maebashi, Gunma 371-8511, Japan
- 7 Japanese Red Cross Medical Center, 4-1-22 Hiroo, Shibuya, Tokyo 150-8935, Japan

Objective: This study was conducted to improve the survival of an auxiliary liver constructed using a small intestinal segment packed with liver microfragments and the co-insertion of greater omentum. **Design:** Male Wistar rats (300-400 g) were used. A jejunal segment (2-3 cm) was isolated together with a feeding pedicle. After the removal of the mucosa, the intestinal segment was filled with greater omentum and liver microfragments obtained from the left liver of the same individual rat to accelerate the blood flow to the auxiliary liver. Groups of 2-8 rats were killed at various intervals, and the viabilities of the liver grafts were analyzed histologically. **Results:** The engrafted liver microfragments were reorganized in the segmental intestine and exhibited an almost normal histological structure of the liver even after 60 or 90 days although the grafts became completely necrotic when greater omentum was not included in the grafts. However, a notable number of cases were lost because of the twisting of the intestinal graft. **Conclusions:** The co-insertion of greater omentum with the liver microfragments extended the survival of the engrafted liver tissue. However, the development of a technique to prevent graft twisting is needed to further improve the survival rate. (*Kitakanto Med J* 2013; 63: 223~232)

Key words: liver failure, auxiliary liver, small intestinal segment