

(様式4)

学位論文の内容の要旨

今枝 真澄 印

(学位論文のタイトル)

Long-term pathological and immunohistochemical features in the liver after
intraoperative whole-liver irradiation in rats

(ラットでの術中全肝照射後の長期的な病理学的、免疫組織学的検討)

(学位論文の要旨)

手術が肝細胞癌に対する根治的治療であることは知られているが、腫瘍の門脈浸潤や多発病変、肝硬変による肝機能障害のため、適応とならないケースも少なくない。近年では肝腫瘍に対する体幹部定位放射線治療や陽子線・重粒子線などの高精度放射線治療の有用性が報告されており、放射線治療の重要性が高まってきている。しかし、放射線治療の照射範囲には線維化が生じ、肝機能を損なう可能性があるため、病巣のみに集中した放射線照射を行うことが重要であるとともに、耐受可能な照射線量や照射容積を確認し、照射後にどのような現象が生じているのかを検討することは安全な放射線治療の提供に結びつくものと考えられる。

照射肝の線維化に関しては、肺と同様、TGF- β 1が最も重要なサイトカインであることは知られている。しかしながら、肝へのX線外部照射施行後には腸管障害が生じるため、これまで照射肝の長期観察はほとんど行われていない。今回、開腹下で照射を行うことで、肝のみに照射することが実現でき、30Gyの大線量照射後の肝障害について、長期間観察可能なラットモデルを確立した。照射後の生存率を解析するとともに、摘出肝の経時的な組織学的変化を主に免疫組織化学染色法を用い、肝細胞死や増殖、また肝線維化の指標となるマーカーのTGF- β 1や α SMA発現について検討した。

生後6週のWisterラット雄を用い、開腹下に0Gy(コントロール)、15Gy、30Gyの全肝照射を施行した。遮蔽率98%のタングステンシートを肝背面、上下に配置し、肺および消化管を遮蔽した。肝機能評価としてそれぞれ照射後24時間、1週、2週、4週および40週後の血清学的評価、肝組織の細胞増殖・肝組織線維化を病理組織学的に検討した。血清学的評価として血清アルブミン値、AST値、ALT値を測定した。肝の組織学的評価として、HE染色、Azan-Mallory染色を行い評価した。また、免疫化学組織学的手法を用い、肝細胞死と増殖を見るため、TUNEL染色、Ki-67(MIB1)発現の経時的評価を行うとともに、TGF- β 1、 α -SMA発現の変化についても検討した。

コントロール群と15Gy群で死亡したラットはいなかったが、30Gy群では60%のラットが死亡した。死亡ラットのほぼ全例で解剖時に肝腫大を認め、黄疸所見も死亡した6匹中の4匹(67%)に見られ、胸水や腹水の見られたものもあった。一方、解剖時に明らかな消化管穿孔の所見は認めなかった。血液学的には30Gy照射群では照射40週後のASTはコントロール群と比較し有意に高値であった。また、アルブミン値は15Gy群では照射2週後までは低下傾向にあり、その後はコントロール群と同程度まで回復したが、30Gy群では照射40週後でも有意に低値であった。肝細胞数については照射した群で照射4週後には有意に減少したが、15Gy群では40週後には肝細胞数はコン

コントロール群と同程度の回復が見られた。同様にアポトーシス陽性細胞の割合については照射した2群とも照射4週後までコントロール群と比較し上昇したが、15Gy群では40週後にはコントロール群と同程度まで減少した。一方、40週後のKi-67（MIB1）陽性率は15Gy群、30Gy群はともにコントロールと比較し高値を示した。照射した肝臓は30Gy群では、40週後も照射による影響が続いているが、線量の少ない15Gy群では肝のダメージが一部回復していることが、生存率の差に起因するものと考えられた。

アザン染色では30Gy照射群でのみ肝小葉構築の乱れや線維性隔壁などの線維化の所見が認められた。しかし、 α -SMAおよびTGF- β の発現は15Gy・30Gy照射群はともに2週から40週後にかけて、コントロール群と比較し有意な上昇が認められたため、長期的に照射肝の線維化への誘導が持続している可能性があると思われた。

我々は40週にわたって観察可能な放射線誘発性肝障害ラットモデルの作成を確立し、照射での肝障害メカニズムを病理学的に検討した。15Gy群と30Gy群では肝の細胞数やアポトーシス細胞の割合、Ki-67陽性細胞率に違いがあり、15Gy群では放射線肝障害からの回復傾向がみられるものの、TGF- β 1や α -SMAの発現の結果から、15Gy群でさえも照射40週後にも肝線維化へのシグナルが持続していることを示した。今回の結果から将来的には、照射後の肝線維化を抑制する薬剤の開発にも応用できると考えている。