肝癌切除例におけるトリメタジオン負荷試験と肝実質の 病理組織学的所見の対比について

筑波大学臨床医学系外科, 同 社会医学系**

千葉大学真核微生物研究センター*

石川 詔雄 辻 勝久 深尾 立 長田 明
山本 祐二 大塚 雅昭 轟 健 高瀬 靖廣
中野 雅行* 田中栄之介**

肝癌切除例56例において、肝予備能の評価に有用な trimethadione(TMO)負荷試験(DMO/TMO)と非癌肝実質の形態学的所見および肝機能検査(アルブミン:ALB, 総ビリルビン:BIL, プロトロンビン時間:PT, ICG 負荷試験:ICGR15)を検討した。DMO/TMO 値と ICGR15や PT との相関は、それぞれ $r = -0.495$, $r = 0.473$ であった。DMO/TMO 値は、肝硬変(LC)で0.28, 初期のLC(EC)は0.37, 肝線維症(FB)と慢性肝炎(CH)0.51, 正常(NO)が0.52を示し、またLCとEC間およびECとFB, CH, NO間に、それぞれ有意差を認めた。しかしICGR15, PTは、LCとEC間のみ有意差を認めた。LCの甲型と乙型との検討では、DMO/TMO 値やその他の検査値とも両群間に差を認めなかった。以上より DMO/TMO 値は、門脈域から中心静脈域にわたる線維隔壁形成の程度の違いやLCやCHにおける肝実質細胞総量の変化を評価しているものと考えられた。

Key words: hepatectomy, hepatic functional reserve, trimethadione tolerance test, histopathological findings of the hepatic parenchyma

緒 言

抗てんかん剤の trimethadione(TMO)¹⁾は、中性物質で消化管よりの吸収もよく、血中の蛋白質とはほとんど結合しない。それは、肝ミクロゾーム P-450の TMO N-demethylase で代謝され、唯一の代謝物である dimethadione(DMO)になる。

この TMO を用いた負荷試験は、肝ミクロゾーム機能検査法の1つであり、その値は、TMO の経口投与4時間後の血中の TMO 量と DMO 量の比(DMO/TMO 値)で示される。TMO 負荷試験は、肝機能を量的に評価することができ、慢性肝疾患例の肝機能の評価に有用である^{2)~4)}。

本研究においては、肝細胞癌(肝癌)切除例の非癌肝実質の病理組織学的所見と TMO 負荷試験の値を比較、検討した。

対象および方法

1. 対象

<1993年4月14日受理>別刷請求先: 石川 詔雄
〒305 つくば市天王台1-1-1 筑波大学臨床医学系外科

TMO 負荷試験を肝切除術の術前に行った肝癌例のうち、非癌肝実質が十分得られた56例を対象とした。

その内訳は男性51例、女性5例であり、平均年齢は 59 ± 9 歳(37歳~82歳)である。なお肝切除術の記載は日本肝癌取り扱い規約に従った⁵⁾。

2. TMO 負荷試験の方法

患者の同意を得て、早朝空腹時に2ml 採血後、ミノアレビアチン散®(TMO 66.7%含有, 大日本製薬), 6mg/kg(体重)を経口投与する。その4時間後に2mlを採血して、それぞれ検体とした。また TMO 投与の2時間後より、経口摂取を許可した。

検体は、血清に分離後、ガスクロマトグラフィーにより血中の TMO と DMO 量を測定した²⁾。なお採血後の検体処理と測定を含めて30分以内で結果が得られる。

TMO 負荷試験に先立つ1週間前より、P-450に対する酵素誘導や抑制を生ずる薬剤の投与は禁止した。

3. 一般肝機能検査

TMO 負荷試験のほか、アルブミン(ALB; g/dl), 総ビリルビン(BIL; mg/dl), プロトロンビン時間

(PT: %), ICG 負荷試験 (ICGR15: %) などの検査を行った。

各検査値は平均値と標準偏差 ($M \pm SD$) で示し, Student t-test により, 統計学的有意差検定を行った。また DMO/TMO 値とその他の検査値との相関は相関係数 (r) で示し, 相関の有意性検定は statistical analysis system (SAS) で行った。

4. 病理組織学的検討

肝組織標本は切除肝の腫瘍から十分離れた非癌肝実質および, 手術のさいにも残肝実質より, それぞれ数か所えた。そして10%ホルマリン固定, アルコール脱水後, パラフィンブロックを作成した。組織標本は, ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE) および鍍銀染色を行った。

結 果

1. 肝切除術式と肝実質の組織学的所見

肝切除術式の内訳を, Table 1 に示す。肝硬変 (LC) のうち, Nagayo's type A cirrhosis (甲型) は18例, Nagayo's type B cirrhosis (乙型) は14例であった。なお LC の分類は長与・三宅分類の甲と甲'および乙と乙'をそれぞれ長与分類の甲および乙にまとめて記載した⁶⁾。また狭い線維性の隔壁により, 不完全に囲まれ

た再生結節よりなる初期の LC⁷⁾ (early LC: EC) は13例であった (Fig. 1)。なお LC は初期のものも含めて45例 (全体の80%) であった。LC のほか, 肝線維症 (FB) と慢性肝炎 (CH) は各4例そして正常例 (NO) は3例であった。

2. 肝実質の組織所見と術前の TMO 負荷試験値およびその他の検査値

Fig. 1 A early cirrhotic liver : regenerative parenchymal nodules are separated by slender incomplete fibrous septa (Reticulin stain $\times 40$).

Table 1 Types of hepatic resections and histological findings in hepatic parenchyma in 56 patients with hepatocellular carcinoma

	Liver cirrhosis (LC)	Early cirrhosis (EC)	Liver fibrosis (FB)	Chronic hepatitis (CH)	Normal (NO)	Total
Hr2	1	0	2	1	1	5
Hr1	5	2	2	1	2	12
HrS	15	9	0	1	0	25
Hr0	11	2	0	1	0	14
Total	32	13	4	4	3	56

Table 2 Laboratory data and histological findings in hepatic parenchyma in 56 patients with hepatocellular carcinoma

	Liver cirrhosis (LC) (n=32)	Early cirrhosis (EC) (n=13)	Liver fibrosis (FB) (n=4)	Chronic hepatitis (CH) (n=4)	Normal (NO) (n=3)
DMO/TMO	0.28 ± 0.09	0.37 ± 0.05	0.51 ± 0.05	0.51 ± 0.03	0.52 ± 0.04
ICGR15 (%)	26 ± 11	14 ± 4	12 ± 6	12 ± 4	9 ± 2
PT (%)	80 ± 11	93 ± 8	93 ± 5	95 ± 5	95 ± 9
ALB (g/dl)	3.2 ± 0.5	3.4 ± 0.4	3.7 ± 0.6	4.0 ± 0.3	3.9 ± 0.7
BIL (mg/dl)	0.9 ± 0.4	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1

DMO/TMO : LC vs EC ($p < 0.005$), EC vs FB, CH and NO ($p < 0.005$)

ICGR15, PT : LC vs EC ($p < 0.005$)

Table 3 Laboratory data and histological findings in hepatic parenchyma in 32 cirrhotic patients

	Nagayo's type A cirrhosis (n=18)	Nagayo's type B cirrhosis (n=14)
DMO/TMO	0.29±0.10	0.27±0.07
ICGR15 (%)	27±12	25±9
PT (%)	80±10	80±12
ALB (g/dl)	3.1±0.5	3.3±0.5
BIL (mg/dl)	0.9±0.3	0.9±0.3

DMO/TMO, ICGR15, PT, ALB and BIL : Nagayo's type A vs Nagayo's type B (no significant differences)

DMO/TMO 値は、LC では平均 0.28, EC は 0.37, FB と CH はそれぞれ 0.51, NO は 0.52 を示し、LC と EC 間、および EC と FB, CH, NO 間に、それぞれ有意差を認めた (Table 2)。しかし FB と CH および NO の各 3 群間には、有意差を認めなかった。

ICGR15 と PT は、LC と EC 間だけに有意差を認め、EC と、FB や CH および NO の間には差を認めなかった。

LC のうち、甲型と乙型との検討では、DMO/TMO 値やその他の検査値とも、両群間に有意差を認めなかった (Table 3)。

次に TMO 負荷試験とその他の検査との相関をみた。ICGR15 とは $r = -0.495$, PT とは $r = 0.473$ であった (それぞれ $p < 0.0001$)。

考 察

肝予備能の評価に用いられる一般肝機能検査を大きく分けると、蛋白代謝に関連する血清総蛋白量や ALB 値、脂質代謝に関連する総コレステロール値やトリグリセリド値、さらに肝細胞独自の機能であるビリルビン代謝に関連する BIL 値などがある^{8)~10)}。

特に肝予備能評価法としては、蛋白代謝に関連した parameter のうち、血中での turn over の早いプレアルブミン値や、凝固因子の変動を反映するプロトロンビン時間などが用いられてきた。肝の蛋白代謝、脂質代謝およびビリルビン代謝などは、エネルギー代謝である糖代謝に依存しており、この糖代謝の場は肝細胞のミトコンドリアである。このミトコンドリア機能の parameter の 1 つである動脈血中ケトン体比については、小澤ら¹¹⁾の膨大な研究成果がある。

以上は、主に個々の肝細胞機能である質的肝細胞機能を反映する評価法として極めて重要である。

今回の検討によると、TMO 負荷試験は質的肝細胞機能を評価する検査値のうち、ALB 値や BIL 値との相関は低かったが、PT や ICGR15 とは比較的良好に相関した。

ラットの肝切除の検討によると TMO 負荷試験は、肝機能を量的に評価することができる⁴⁾。臨床例の検討でも、TMO 負荷試験は肝硬変例の重症度の評価、すなわち質的肝細胞機能に肝細胞総量を加味した量的肝細胞機能の評価にも有用であった¹²⁾。

TMO 負荷試験以外の肝ミクロゾーム機能検査法には、antipyrine (AP) 負荷試験や aminopyrine (AM) 負荷試験などがある¹³⁾¹⁴⁾。AP の代謝は酸化による薬物の第 1 相反応と、抱合による第 2 相反応の 2 つの代謝様式が関与しており、その主要代謝物は 3 つある。我々の検討によると肝硬変例に対する AP の代謝は、これらのうち第 1 相反応が障害されていた¹⁵⁾。TMO も第 1 相反応だけで代謝されるが、その代謝は、AP と同様に肝硬変例で障害されていた¹⁶⁾。しかし TMO 負荷試験は、薬物動態の解析より求める AP 負荷試験や、代謝最終産物である呼気中の ^{14}C 量で求める AM 負荷試験などとは違い、測定や解析の煩雑さもない。

新しい肝ミクロゾーム機能検査法には、P450 3A4 で代謝されるリドカインを用いた負荷試験¹⁷⁾や、我々が検討中の P450 1A2 で代謝される Caffeine を用いた負荷試験¹⁸⁾などもある。

新しい肝機能検査法が開発されるたびに、肝の形態学的所見との対比が行われてきた。ICG 負荷試験については、1960 年から 1970 年にかけて多くの報告がある¹⁹⁾²⁰⁾。それらによると、ICGR15 値は、肝硬変における肝小葉の改築の程度を反映したが、肝の炎症変化には影響されなかった。

LC における線維形成とは、門脈域と中心静脈域を結ぶ領域の線維隔壁形成である。この隔壁形成のため、類洞性の門脈圧亢進症が引き起こされる。そのため門脈血は、肝実質細胞と充分接触することなく、類洞を bypass して肝静脈に流入する。LC と EC は、この線維隔壁形成の程度に違いがある。

今回の検討でも、ICGR15 値および PT は LC と EC の間で有意差を認めたが、EC と CH 間には差を認めなかった。しかし DMO/TMO 値は、LC と EC 間および EC と CH 間にも有意差を認めた。すなわち DMO/TMO 値は、肝小葉の改築と炎症の両者の影響を評価することができた。

DMO/TMO 値が甲型 LC と乙型 LC で差がなかっ

たことや、ECとCH間に有意差を認めたことは、LCにおける線維隔壁形成の影響ばかりではなく、肝実質細胞総量の変化もDMO/TMO値の変動に影響を与えているものと考えられる。そこで肝の実質と間質の比、肝細胞密度および肝細胞総量などのparameterとDMO/TMO値とを現在、検討している²¹⁾。さらにTMOの代謝酵素をもつP450ファミリーについても同定中であり、ラットの検討では、肝の中心静脈域に比較的多いP450 2B1や常在性の450 2C11にTMOの代謝系が存在する可能性が高い²²⁾。

これらTMOの代謝系をもつP450ファミリーの肝小葉内の分布や肝再生時の変動についての検討は、肝予備能の低下した肝癌例に対する、安全な外科治療を行うために必要と考えられる。

文 献

- 1) Withrow CD: Trimethadione-biotransformation. Edited by Woodbury DM, Penry JK, Pippenger CE. Antiepileptic drugs. Raven Press, New York, 1982, p681—692
- 2) 石川詔雄, 田中栄之介, 辻 勝久ほか: 肝切除モデルにおける肝ミクロゾーム機能の測定. 日外会誌 88: 303—307, 1990
- 3) Ishikawa A, Fukao K, Tanaka E et al: Trimethadione tolerance test for the quantitative assessment of liver function in rats. J Gastroenterol Hepatol 6: 363—367, 1991
- 4) Tanaka E, Ishikawa A, Fukao K et al: Trimethadione tolerance test for one-point estimation of the severity of liver damage in cirrhotic patients. Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol 29: 333—336, 1991
- 5) 日本肝癌研究会編: 臨床・病理. 原発性肝癌取り扱い規約. 第3版, 金原出版, 東京, 1992
- 6) 森 亘, 町並陸生: 肝硬変, 飯島宗一, 石川栄世, 影山圭三ほか編. 現代病理学体系. 13B. 中山書店, 東京, 1983, p3—26
- 7) Anthony PP, Ishak KG, Nayak NC et al: The morphology of cirrhosis: definition, nomenclature, and classification. Bull WHO 55: 521—540, 1977
- 8) 安部井誠人, 田中直見, 石川詔雄ほか: 肝予備能の評価. 消化器科 13: 226—233, 1990
- 9) 岩崎洋治, 石川詔雄, 小林幸雄ほか: 肝硬変患者に対する手術適応とその予後. 外科治療 56: 251—256, 1987
- 10) Barstow L, Small RE: Liver function assessment by drug metabolism. Pharmacotherapy 10: 280—288, 1990
- 11) Lancet editorial: Ketone body ratio: An index of multiple organ failure? Lancet 1: 25—26, 1984
- 12) 石川詔雄, 深尾 立, 辻 勝久ほか: 肝癌例に対する耐術評価法の検討. Tsukuba Symposium 7: 95—99, 1991
- 13) Andreassen PB, Ranek L, Statland BE et al: Clearance of antipyrine: Dependence of quantitative liver function. Eur J Clin Invest 40: 129—134, 1974
- 14) Carlisle R, Galambos JT, Warren WD: The relationship between conventional liver tests, quantitative function tests and histopathology in cirrhosis. Dig Dis Sci 24: 358—362, 1979
- 15) Tanaka E, Ishikawa A, Etoh H et al: The Impact of liver cirrhosis and cholelithiasis on phase I and II reactions using antipyrine and trimethadione as a model substrate. Jpn J Clin Pharmacol Ther 23: 635—639, 1991
- 16) Tanaka E, Ishikawa A, Ono A et al: Trimethadione tolerance test for evaluation of functional reserve of the liver in patients with liver cirrhosis and esophageal varices. J Pharmacobio-Dyn 9: 297—302, 1986
- 17) Oellerich M, Burdelski M, Ringe B et al: Lignocaine metabolite formation as a measure of pre-transplant liver function. Lancet i: 640—642, 1989
- 18) Tanaka E, Ishikawa A, Yamamoto Y et al: A simple useful method for the determination of hepatic function in patients with liver cirrhosis using caffeine and its three major dimethyl-metabolites. Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol 30: 336—341, 1992
- 19) 高橋善弥太: 肝機能検査法の現状とその臨床的評価. 内科 11: 626—636, 1963
- 20) 金城謙一郎: Indocyanine Green 試験と Bromsulphalein 試験の異同に関する臨床的研究. 日消病会誌 70: 643—656, 1973
- 21) 辻 勝久, 石川詔雄, 深尾 立ほか: 肝癌切除例における肝予備能評価法と肝組織学的所見の対比について. 日消外会誌 26: 559, 1993
- 22) Kohno M, Imaoka S, Tanaka E et al: Trimethadione metabolism by hepatic P-450s purified from rats and humans. J Toxicol Sci 16: 270, 1991

**A Study in Histopathological Findings of the Hepatic Parenchyma and
Trimethadione Tolerance Test in Hepatectomized
Patients with Hepatocellular Carcinoma**

Akio Ishikawa, Katsuhisa Tsuji, Katashi Fukao, Akira Osada, Yuji Yamamoto, Masaaki Ohtsuka,
Takeshi Todoroki, Yasuhiro Takase, Masayuki Nakano* and Einosuke Tanaka**
Department of Surgery, Institute of Clinical Medicine and Institute of Community Medicine**,
University of Tsukuba
The Research Center for Pathologic Fungi and Microbial Toxicosis, Chiba University*

In fifty-six hepatectomized patients with hepatocellular carcinoma, histopathological examination of hepatic parenchyma were performed along with trimethadione (TMO) tolerance test which is an estimation based on serum dimethadione (DMO)/TMO ratio and liver function tests (albumin, ALB; bilirubin, BIL; prothrombin time, PT) and indocyanine green clearance test (retention at 15 min, ICGR15). The correlation ratios were $r=-0.495$ or $r=0.473$ between DMO/TMO ratio and ICGR15 or PT, respectively. The DMO/TMO ratios were 0.28 in liver cirrhosis (LC), 0.37 in early LC (EC), 0.51 in liver fibrosis (FB) and chronic hepatitis (CH) and 0.52 in normal (NO). The DMO/TMO ratio showed significant differences between LC and EC, EC and, FB, CH and NO. But it did not show significant differences between Nagayo's type A cirrhosis and Nagayo's type B cirrhosis. We concluded that the TMO tolerance test can estimate the difference of degree in the formation of septal fibrosis from portal tract to the area of central vein in EC and LC, and that of the total amount of hepatocytes in LC and FB, CH.

Reprint requests: Akio Ishikawa Department of Surgery, Institute of Clinical Medicine, University of
Tsukuba
1-1-1 Tennoudai, Tsukuba, 305 JAPAN