

令和6年5月発行

岐阜県臨床検査技師会誌

Vol.52__追補

通巻156号

胆管閉塞ラットを用いた臨床検査学的検索・・・澤田 拓樹 ほか 1

一般社団法人 岐阜県臨床検査技師会

タイトル：胆管閉塞ラットを用いた臨床検査学的検索

澤田 拓樹¹⁾ 小島 穂乃果¹⁾ 鶴見 尚路菜¹⁾ 楯 理咲子¹⁾ 古田 雛子¹⁾ 松岡 涼太¹⁾
中川 泰久¹⁾

1) 岐阜医療科学大学 保健科学部 臨床検査学科 (501-3892 岐阜県関市市平賀字長峰 795-1)

要旨

総胆管閉塞は発症初期から自他覚的所見が豊富であるため早期診断が可能であるが、胆管部分閉塞では黄疸等の症状が軽度なため発見が遅れ、感染を伴う場合、肝細胞破壊および管硬化を引き起こすこともある。したがって動物実験で胆管部分閉塞初期における有用な検査所見を見出すことができれば意義深い。そこでラットの各胆管に対して外科的結紮を試みた（総胆管：CBD，右外葉胆管：RBD，右中葉胆管：RMBD，左外葉胆管：LBD および対象：SH，各群：n=3）。手術上の問題点としてラットの肝外胆管は直径約 0.1-0.3 mm と非常に細く、他の組織と同色で見分けることが困難である。そこで肝解毒機能検査に用いられるインドシアニングリーン（ICG）を門脈から静注し、排泄される色素を頼りに肝外胆管検索・結紮を行った。術後 1 週間後に腹部超音波検査を施行し、3 週後に血液・生化学検査と肝臓の病理組織学的検査を行った。術後すべての結紮群で体重増加抑制を認め、CBD，RMBD および LBD 群では顕著に抑制された。CBD 群ではすべての検査において有意所見を認めたが、その他肝外胆管部分閉塞群では有意所見を得られなかった。この理由として 1 か所の胆管閉塞だと非閉塞肝葉が病変胆管の支配肝葉の機能を代償し補った可能性が示唆される。早期の肝外胆管部分閉塞では、非侵襲的な臨床検査では有用所見を得ることが難しいため診断が困難な疾患であると言える。

キーワード：胆管閉塞，ラット，胆汁うっ滞，動物実験，外科的胆管結紮

I. 序 論

胆管閉塞を生じる要因は先天的なものをはじめウイルス感染、胆石、悪性腫瘍、自己免疫性疾患など様々であり、発症年齢層も一概ではない^{1)~5)}。胆管閉塞が進行すると胆汁のうっ滞から肝傷害が生じ、肝硬変に進展する場合がある^{6)~9)}。総胆管閉塞の場合、短期間で黄疸やビリルビン血症を認めるため短期間で異常に気が付きやすい⁸⁾。しかし、胆管部分閉塞の場合、所見に乏しいことから発見が遅れる場合がある。加えて感染を伴う場合、肝細胞破壊、肝周囲の癒着化および管硬化を引き起こし^{2),10)}、発見が遅れると慢性肝炎や肝硬変に移行するため肝移植が必要となる。そこで動物実験にて肝外胆管部分閉塞モデルを作製し、胆管閉塞初期における有用な検査所見を見出すことができれば意義深い。そこでラットを用いて外科的総胆管および肝外胆管部分閉塞モデルを作製し疾患早期の臨床検査所見が得られるかを検討した。

II. 方法

ラットの肝臓は分類上ヒトの肝葉と異なり、左外葉、左中葉、右外葉、右中葉、尾状葉の5つに分けられる^{10)~13)}。各肝葉から排泄された胆汁は総胆管に合流する。したがって、総胆管および各肝葉のうち比較的大きい右外葉、右中葉および左外葉に繋がる肝外胆管のそれぞれ1箇所について外科的結紮を行った。胆管結紮に際して、ラットの肝外胆管は直径約0.1-0.3 mmと非常に細いことに加え色調も他の組織と同色で見分けることが困難であることから本研究では、比較的用意に胆管を精査できる工夫として臨床検査の肝解毒機能検査に用いられるインドシアニングリーン (ICG) を門脈から静注して^{14),15)}、排泄された色素を頼りに肝外胆管検索・結紮を行った。

1. 対象

8週齢 slc:SD ラット (Japan SLC Ink., Shizuoka, 3Japan) 雄 (n=15) を対象とし、7日間12時間明暗環境のクリーンルーム (温度 23 ± 1 °C, 湿度 55-57%) で飼育・馴化した。試料は LabDiet®5053 (Japan SLC Ink., Shizuoka, Japan) 飲料は水道水を濾過滅菌したものを自由摂取させた。前日絶食にて9週齢時実験を開始した (体重 273.7 ± 1.4 g ; SE)。総胆管 (CBD 群), 右外葉胆管 (RBD 群), 右中葉胆管 (RMBD 群), 左外葉胆管 (LBD 群) を結紮する群および開閉腹のみを行う対照 (SH 群) の各群3匹について手術を行った。術後1週間目に腹部超音波検査を施行し、3週目に3種混合麻酔下にて開腹採血後、肝臓を摘出し、血液・生化学検査と病理組織学的検査を行った。

2. 試薬調整

2-1. 3種混合麻酔

ドルミカム注射液®10 mg (Maruishi Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka Japan), メデトミン®注「Meiji」1 mg (Meiji Seika Pharma Co., Ltd., (2023年12月7日受付・2024年3月30日受理)

およびベトルファール®5 mg (Meiji Seika Pharma Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用い、ラット1匹あたりの投与量を9週齢平均体重から換算するとドルミカム®注射液 0.12 mL (2 mg/kg), メデトミン®注 0.045 mL (0.15 mg/kg), ベトルファール® 0.15 mL (2.5 mg/kg) となり各薬剤を混合して使用した。

2-2. 肝外胆管検索用試薬

ジアグノグリーン®注射用 25 mg (Daichi-Sankyo Co., Ltd., Tokyo, Japan) アンプルに注射用水 5 mL を加え溶解して 25 mg/5 mL の ICG 注射液とした。

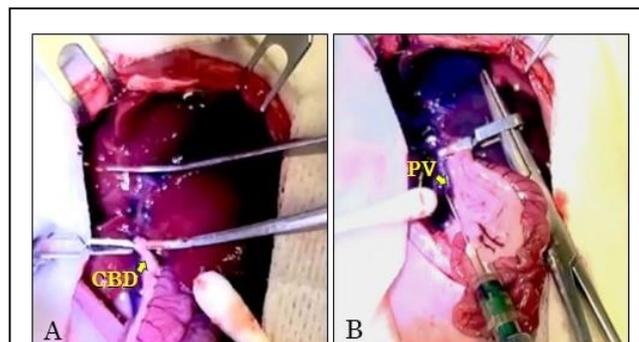


Fig. 1A and B

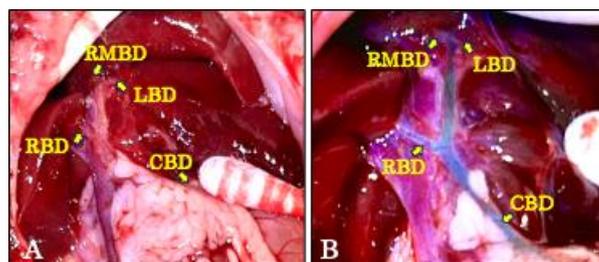


Fig. 2A and B

3. 各種胆管結紮手術手順

総胆管の検索は、滅菌綿棒で十二指腸を掻き出して下方に牽引し、セッシで総胆管と他の組織を丁寧に剥離した。その後、ICGを投与するため脳外科用血管クリップで総胆管を一時的にクランプした (Fig. 1A)。続いて、鉗子でクリップを右に展開し門脈を露出させた。26G注射針を用い、門脈から ICG 注射液を 150 μL (2 mg / kg) 投与した。ICG 投与後、肝臓が緑変したのを確認し、ICG 排泄により緑変した肝外胆管を検索した (Fig. 1B)。ICG 投与前の肝外胆管 (Fig. 2A) と比べ ICG 投与後の肝外胆管は緑変し、血管や周囲の組織との精査が容易になる (Fig. 2B)。各胆管結紮について CBD, RBD, RMBD および LBD は針付き 5-0 縫合糸で糸が覚醒後の体動によりほどけないようにするため 3-4 重結した。結紮の後、腹壁及び皮膚については 4-0 縫合糸で連続ロック縫合して閉腹した。

4. 術後経過確認

すべての群は飼育開始から安楽死までの3日ごとに体重測定を行った。術後経過観察中、目視にて皮膚の黄疸と黄色尿排泄を確認した。加えて、術後1週経過時、腹腔麻酔下にて超音波診断装置 GE Healthcare LOGIQe (GE Health care Japan Co., Ltd., Tokyo, Japan) 探触子: リニア型プローブ (6.0 - 14.0 MHz) を用いて胆管拡張と肝左外葉の縦径および厚さを測定した。

5. 血液検査および病理学的検索

5-1. 血球算定および生化学分析

術後3週経過時、三種混合麻酔を腹腔投与後、開腹し下腹部の大動・静脈をピンセットで露出させ尾大静脈より3 mL 採血。その後同量のリンゲル液 (Fuso Pharmaceutical Industries Ltd., Osaka, Japan) 3 mL と ICG を 100 μL 投与し、15分後に反対側の腹大動脈より採血した。静脈血の一部は EDTA を加えたものを、多項目自動血球分析装置 XN-450 (SYSMEX Co., Ltd., Hyogo, Japan) で血球算定を行った。一方で凝固遠心分離後 ALP, GGt, AST, ALT, 総ビリルビン (T-Bil), 直接型ビリルビン (D-Bil) および TG を 7020 型自動分析装置 (Hitachi High-tech Corp., Tokyo, Japan) を用いて測定した。さらに血中 ICG 濃度は投与前および投与15分後の血清をライフサイエンス用紫外可視分光光度計 V-730BIO (JASCO Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いて吸光度 805nm で測定し、検量線から算出した。

5-2. 病理組織科学的検索

採血後、腹部大動・静脈離断にて安楽死を行い、肝臓を摘出し臓器重量を測定、緩衝ホルマリン固定後、パラフィン切片を作製した。プレパラート標本は Masson's trichrome 染色後 x 200 (対物レンズ 20x) にて鏡検を行った。

6. 統計解析

統計解析にはエクセル統計 Ver. 1.16 (SSRI JAPAN Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いて一限および二元配置分散分析を行い、単純主効果および交互作用を見出し、有意差が出た場合は Tukey's test にて詳細な検討を行った。

III. 結果および考察

外科的胆管結紮手術の成功率は100%で全てのラットが生き残り、術中死は起こらなかった。手術翌日全てのラットは覚醒し活性化した。術後経過も良好であったが CBD 群, RMBD 群および LBD 群においては対照と比較して給餌量が減少した。

ラットの体重は術後3週で SH 群 (392 ± 7.6 g) と比較し全ての胆管結紮群で有意な体重増加抑制を認めた (CBD 群, RBD 群, RMBD 群および LBD 群; 301 ± 26.4 g, 376 ± 4.0 g, 368 ± 11.7 g および 356 ± 7.2 g)。特に CBD 群, RMBD 群および LBD 群の体重増加は顕著に抑制された。なお総胆管閉塞同様、肝外胆管閉塞においても体重増加抑制が生じることが知られている^{7), 15), 16)}。術後飼育中、CBD 群では術後2日目よりビリルビン尿の排泄および露出皮膚に黄疸を認めたが、RBD 群, RMBD 群および LBD 群の肝外胆管部分結紮群は SH 群同様にビリルビン尿の排泄および黄疸を認めなかった。さらに術後1週目に行った腹部超音波検査では CBD 群では胆汁うっ滞に伴う結紮部位上流胆管の拡張所見を認めたが、RBD 群, RMBD 群および LBD 群では胆管拡張所見を認めなかった。また、肝左葉の厚さおよび縦径の平均 (mm) では CBD 群: 13.1, 31.1, RBD 群: 11.2, 25.5, RMBD 群: 11.5, 28.2, LBD 群: 10.2, 27.7

および SH 群 9.9, 28.2 となり CBD 群は肝外胆管部分結紮群および SH 群に比して有意な肝腫大を認めたが、肝外胆管部分結紮群では SH 群に比しても有意な腫大所見は得られなかった。

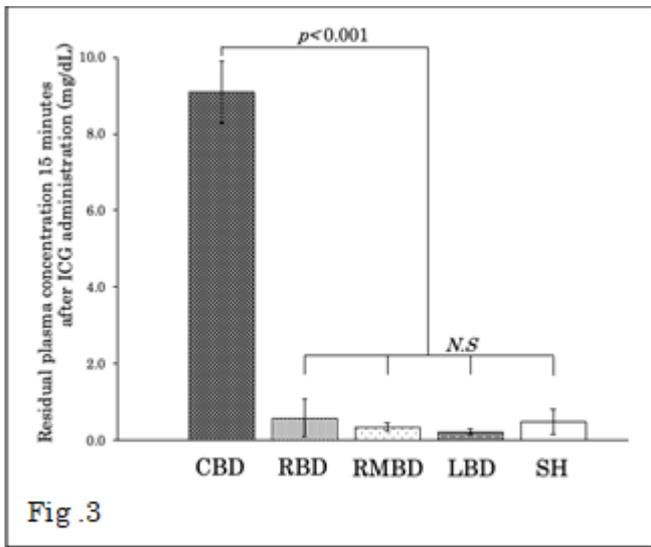
Table 1

	CBD	RBD	RMBD	LBD	SH
WBC (10 ³ /μL)	23.0 ± 24.7	61.0 ± 3.0	44.5 ± 3.0	55.1 ± 1.0	51.2 ± 6.4
RBC (10 ⁴ /μL)	778.3 ± 59.6	930.0 ± 26.3	891.7 ± 30.1	938.3 ± 8.4	891.0 ± 25.0
HGB (g/dL)	13.6 ± 0.9	16.3 ± 0.2	15.6 ± 0.5	16.3 ± 0.3	16.2 ± 0.6
HCT (%)	40.6 ± 2.2	49.5 ± 0.4	47.0 ± 1.6	49.1 ± 10.5	48.3 ± 2.1
PLT (10 ⁴ /μL)	139.9 ± 6.7	77.7 ± 2.1	64.9 ± 6.6	75.9 ± 4.8	77.0 ± 3.5
RET (%)	7.9 ± 5.2	3.4 ± 0.8	3.8 ± 0.1	3.7 ± 0.3	3.7 ± 0.3
ALP (IF) (U/L)	608 ± 48.4	212 ± 22.0	223 ± 20.5	195.7 ± 24.1	224.3 ± 12.2
GGt (U/L)	119.3 ± 40.7	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.3
AST (U/L)	903.3 ± 68.2	108.0 ± 7.2	92.3 ± 9.4	101.3 ± 10.5	82.7 ± 7.3
ALT (U/L)	182.3 ± 17.5	50.0 ± 9.0	40.7 ± 3.2	47.7 ± 4.7	48.3 ± 6.4
T-Bil (mg/dL)	8.50 ± 0.2	0.03 ± 0.0	0.02 ± 0.0	0.03 ± 0.0	0.03 ± 0.0
D-Bil (mg/dL)	5.80 ± 0.3	0.01 ± 0.0	0.01 ± 0.0	0.01 ± 0.0	0.01 ± 0.0
TG (mg/dL)	150.3 ± 10.4	36.0 ± 5.7	32.3 ± 2.2	40.7 ± 9.1	33.3 ± 10.9

(Mean ± SE)

術後 3 週目の血液および生化学検査では CBD 群で RBC, HGB および HCT の低下を認めた. これは胆管閉塞の指標である ALP および GGT 上昇が示す様に, 胆汁うっ滞による肝の閉塞性障害と T および D-Bil の増加による肝の炎症性反応から肝臓への門脈血液流入が障害され, 側副血行路から脾機能が亢進したものと考えられる (Table 1). この肝炎性傷害は WBC 増加所見や AST および ALT などの逸脱酵素上昇も矛盾しないものとなっている. 一方で RBD 群の所見は WBC が僅かに増加したのみで RMBD 群および LBD 群は SH 群と比較しても血液および生化学検査での有意な所見は得られなかった. また RBD 群での WBC の増加が示すものは, この群の肝外胆管結紮部位が支配する肝葉は RMBD 群や LBD 群に比べ約 2/3 ほどの大きさしかないため結紮による肝葉内の環境が他の肝葉に比ベシビアになったと考えられる.

ICG 試験は臨床で肝解毒機能検査に用いられており閉塞性黄疸にも有効な試験である^{17)~19)}. 術後 3 週目の血中 ICG15 分停滞率は CBD 群で有意な残存を示したものの, その他のすべての群で SH 群と比較して有意差を認めなかった (Fig. 3). 以上の結果より, 一般的な臨床検査項目では, 肝外胆管部分閉塞では総胆管閉塞に比べ有用所見に乏しいことで早期診断が困難な疾患である可能性が高い.



術後 3 週目に摘出した肝重量では CBD 群が最も増加を示したが, その他 RBD 群, RMBD 群, および LBD 群では SH 群と比較して有意な増加を示さなかった

(Fig. 4). 一方で RMBD 群と LBD 群においてはわずかな肝重量増加抑制を生じた. これは術後のラットの体重変化についての体重増加抑制の大きい群と一致したため体重との相関性が考えられる. 各肝外胆管の部分結紮群においての結紮胆管が支配する肝葉とその他の肝葉の重量比率を比較したが有意な相関性を認めなかった. しかしながら同様の実験報告では, 肝右外葉と右中葉につながる胆管を結紮した場合, 非閉塞肝葉はそれを代償するよう腫大する

(2023 年 12 月 7 日受付・2024 年 3 月 30 日受理)

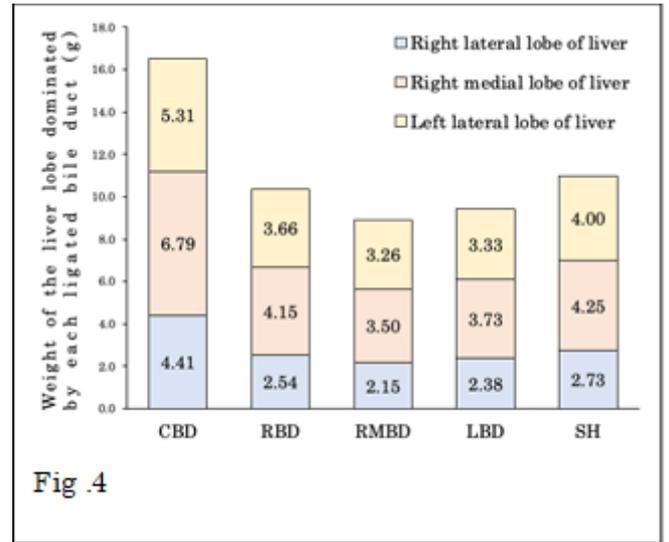


Fig. 4

という報告もあるが^{16), 18), 20), 21)}, 今回はその結果とは異なり非閉塞肝葉の腫大は生じなかった. この結果の相違が生じた理由として, 本検討での肝外胆管結紮部位は 1 ヶ所であることから, 代償する残りの非閉塞肝葉の容積比率が閉塞肝葉よりも大きくなったため個々の非閉塞肝葉への負荷が軽減されたと考えられる. したがって複数箇所の肝外胆管結紮を行うことで, 閉塞肝葉よりも非閉塞肝葉の容積比率が同等かそれ以下になれば同様の結果となる可能性が高い. 病理組織学的検査では CBD 群は胆汁うっ滞所見, 肝小葉周辺に炎症細胞の浸潤および線維化所見, さらに 100 個以上の細胆管増生を認めた^{22)~25)}

(Fig. 5). 一方でそれ以外の肝外胆管結紮群では胆汁うっ滞所見は僅かで細胆管増生は数個に留まり, 閉塞肝葉と非閉塞肝葉間に有意な病理組織学的変化を認めなかった^{22), 23), 26)}. 通常, 総胆管閉塞時, 肝小葉における胆管が新生する細胆管増生が生じる. これは胆管内の圧力の上昇と化学的刺激が胆管上皮の増殖のきっかけになると考えられている^{22), 24), 25)}. この細胆管増生は, 胆道床の容積を増やすことで胆道内圧を下げたり, 機能不全に陥った胆道をバイパスする手段を提供したりと, 様々な役割を果たす可能性があるとの報告もある^{20), 26), 27)}. したがって胆管閉塞初期では胆汁うっ滞を生じたが時間経過とともにそのうっ滞が軽減した可能性もある⁷⁾. 加えて, 部分閉塞での細胆管増生は術後 1 週目に増加し 2, 3 週目には減少するとも論じている²⁷⁾. さらに早期の胆管部分閉塞において有用な所見を得られなかった理由として Ni 氏らは結紮部位の周囲で胆管側副路が形成されていた可能性を示唆している^{18), 22), 28), 29)}. またラットの中には, 遠位葉 (右葉と尾上葉) と近位葉 (右中葉と左外葉) の間に既存の胆管側副路が存在し, 部分結紮から 10 時間後に効率的なバイパスに発達するものがあると述べている^{22), 29)}. しかしながら, 本検討においてはマクロおよびミクロ所見でもこのような側副胆道は確認することが出来なかった.

倫理的配慮

本研究は岐阜医療科学大学動物実験委員会の許可（許可番号 2023-01-03）を受けて実施した。

利益相反

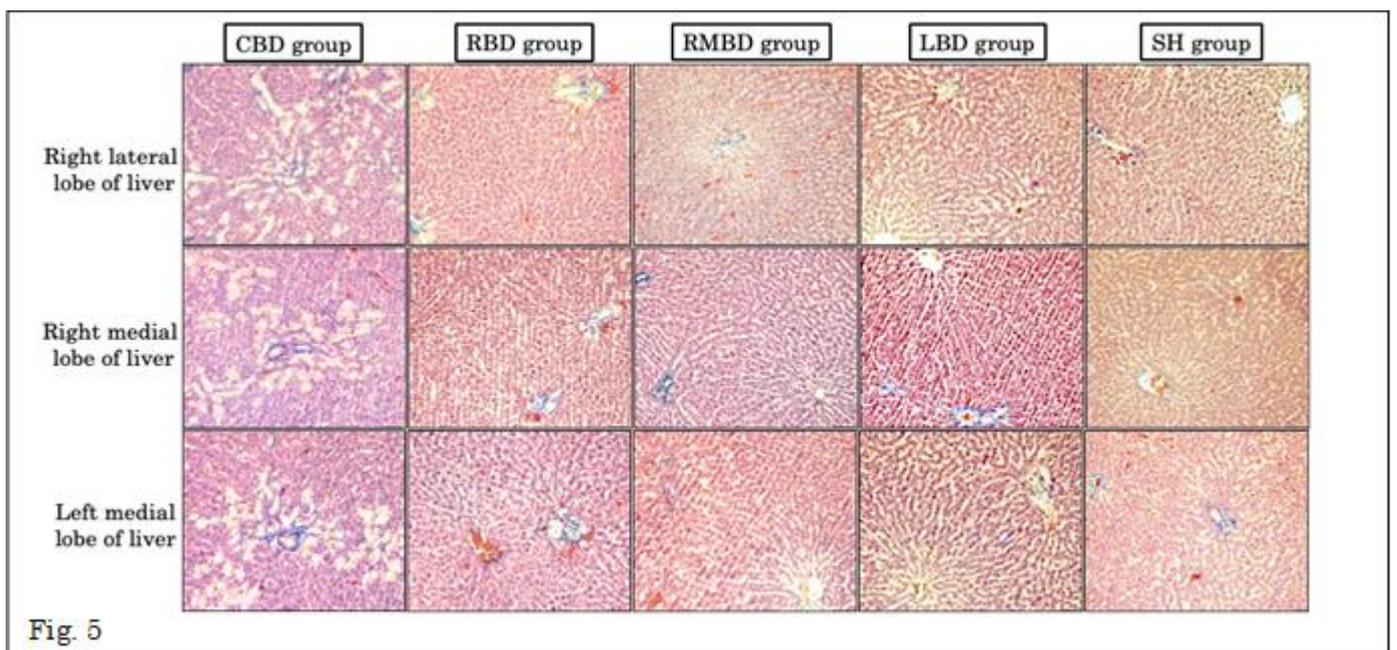
本検討におけるすべての著者は、開示すべき利益相反はありません。

一方で, Beate Richter らは非閉塞肝葉が胆汁の生成を補う可能性を示唆している^{16), 21), 30)}. 閉塞肝葉では胆汁うっ滞により総胆汁酸濃度が上昇し, 胆汁分泌が低下したとされている. ヒトの正常な肝臓は最大能力の 30-40%程しか使用していないという考えから, 1ヶ所の肝外胆管閉塞では正常肝葉が機能を代償することで胆汁排泄を補った可能性を示唆している²¹⁾. 閉塞直後, 正常な肝葉はその機能的予備能力によって肝臓全体の機能を果たすことができるが, その後は再生が進むにつれて, 予備能が必要とされることは少なくなるとしている²¹⁾. ただし, 本研究では総胆管閉塞および肝外胆管部分閉塞の比較であるために, 現時点ではこの仮説を具体的に証明することはできない. 我々は胆管結紮していない肝葉における一過性の胆汁分泌性変化は, このような葉間傍分泌メカニズムによって刺激されたと考えている.

以上の結果より肝外胆管部分閉塞の場合, 非閉塞肝葉が肝機能を代償することで総胆管閉塞の急激な変化に比べ肝臓の障害は緩徐であり, かつ比較的軽度経過するものと考えられる^{18), 27)}. ただし, ヒトも肝臓の予備力を上回った場合に症状が出てくる可能性がある. 例をあげると複数の胆管閉塞が生じた場合, 長期にわたって胆管部分閉塞が継続した場合や, 心不全などに肝臓血流量が低下した場合などが考えられる. したがってこれを実証するために様々な条件下で複数箇所の肝外胆管部分閉塞モデルを作製し検討する必要がある.

IV. 結語

総胆管閉塞と異なり, 早期の肝外胆管部分閉塞では, 非侵襲的な臨床検査では有用所見を得ることが難しいため診断が困難な疾患であると言える.



(2023年12月7日受付・2024年3月30日受理)

■文 献

- 1) 松野晃子, 他:「ラット総胆管結紮による胆管閉塞モデルの作製」, 実験動物技術, 2022; 57: 63-70.
- 2) Longmire WP Jr, Tompkins RK: "Lesions of the segmental and lobar hepatic ducts," *Ann Surg*, 1975; 182:478-495.
- 3) 中村和昭, 田上昭人:「胆道閉鎖症の病因に関する最近の知見」, *Organ Biology*, 2011;18:259-264.
- 4) 田辺義明, 他:「成人にみられた総胆管穿孔の1例」, 日臨外会誌, 1998;59:2123-2126.
- 5) Portmann BC, Roberts EA: "Developmental abnormalities and liver disease in childhood," *Mac Sween's Pathology of the Liver*, 2012: 101-156.
- 6) 秋山洋, 他:「胆道閉鎖症における葛西手術の手術成績(24年の経験から)」, 日小外会誌, 1998;34:1015-1022.
- 7) Tannuri ACA *et al.*: "Effects of selective bile duct ligation on liver parenchyma in young animals: histologic and molecular evaluations," *J Pediatr Surg*, 2012;47:513-522.
- 8) Vij M, Rela M: "Biliary atresia: pathology, etiology and pathogenesis," *Future Sci OA*, 2020; 6(5). DOI: 10.2144/fsoa-2019-0153.
- 9) Gonçalves JO *et al.*: "Dynamic expression of desmin, α -SMA and TGF- β 1 during hepatic fibrogenesis induced by selective bile duct ligation in young rats," *Braz J Med Biol Res*, 2014;47:850-857.
- 10) Aller MA *et al.*: "A half century(1961-2011) of applying microsurgery to experimental liver research," *World J Hepatol*, 2012;4:199-208.
- 11) 小暮公孝, 他:「ラット肝葉の呼称について」, 肝臓, 1986;27: 1155-1160.
- 12) Vdoviaková K *et al.*: "Surgical Anatomy of the Gastrointestinal Tract and Its Vasculature in the Laboratory Rat," *Gastroenterol Res Pract*, 2016; DOI: 10.1155/2016/2632368.
- 13) Nutmethee K *et al.*: "Anatomy of rodent and human livers: What are the differences?," *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019;1865:869-878.
- 14) 大久保裕直, 「インドシアニングリーン試験を再考する」, 日門充会誌, 2017;23:241-244.
- 15) Rassama F *et al.*: "Current Modalities for the Assessment of Future Remnant Liver Function," *Visc Med*, 2017;33:442-448.
- 16) Richter B *et al.*: "Selective biliary occlusion in rodents: description of a new technique," *Innov Surg Sci*, 2022; 7: 13-22.
- 17) 熊沢健一, 他:「ICG 検査からみた閉塞性黄疸患者に対する肝機能の評価—とくに大量負荷試験の有用性について—」, 日消外会誌, 1992;25:2483-2488.
- 18) 楠田司, 他:「胆管分枝閉塞肝葉の再生能に関する実験的研究」, 肝臓, 1990;31:678-687.
- 19) Stockmann M *et al.*: "Factors influencing the indocyanine green (ICG) test: additional impact of acute cholestasis," *Hepatogastroenterology*, 2009;56: 734-738.
- 20) Richter B *et al.*: "The Interplay Between Biliary Occlusion and Liver Regeneration: Repeated Regeneration Stimuli Restore Biliary Drainage by Promoting Hepatobiliary Remodeling in a Rat Model," *Front Surg*, 2022; 9. DOI: 10.3389/fsurg.2022.799669.
- 21) Bax HR *et al.*: "Atrophy of the liver after occlusion of the bile ducts or portal vein and compensatory hypertrophy of the unoccluded portion and its clinical importance," *Gastroenterology*, 1956;31:131-155.
- 22) Ni Y *et al.*: "Potential role of bile duct collaterals in the recovery of the biliary obstruction: experimental study in rats using microcholangiography, histology, serology and magnetic resonance imaging," *Hepatology*, 1994; 20:1557-1566.
- 23) Fickert P *et al.*: "Ursodeoxycholic acid aggravates bile infarcts in bile duct-ligated and *Mdr2* knockout mice via disruption of cholangioles," *Gastroenterology*, 2002; 123:1238-1251.
- 24) Azmaiparashvili E *et al.*: "Biliary hypertension as the cell proliferation trigger in bile duct ligated rats," *Georgian Med News*, 2009;168:111-116.
- 25) Azmaiparashvili E *et al.*: "DUCTULAR REACTION AT THE EARLY AND LATE STAGES OF BILIARY OBSTRUCTION: IS THE MECHANISM THE SAME?," *Georgian Med News*, 2019;286:100-106.
- 26) Cooper AD M. D. *et al.*: "Selective Biliary Obstruction: A Model for the Study of Lipid Metabolism in Cholestasis," *Gastroenterology*, 1974;66:574-585.
- 27) Gvidiani S *et al.*: "Ductular Reaction in Total and Partial Biliary Obstruction in Experimental Settings," *Gene Expression*, 2023;22:123-134.
- 28) Wright JE, Braithwaite JL, "The effects of ligation of the common bile duct in the rat", *J. Anat*, 1964;98: 227-233.
- 29) Bioulac-Sage P *et al.*: "Failure to induce selective cholestasis in the rat after long-term extrahepatic selective biliary obstruction," *Liver*, 1983;3:338-342.
- 30) DA Ronald M. D. *et al.*: "Bile Secretion in Selective Biliary Obstruction: Adaptation of taurocholate transport maximum to increased secretory load in the rat," *Gastroenterology*, 1977;73:129-136.

(2023年12月7日受付・2024年3月30日受理)

Clinical and laboratory searches using rats with bile duct obstruction.

Hiroki SAWADA¹⁾ Honoka KOJIMA¹⁾ Hirona TSURUMI¹⁾ Risako TATE¹⁾
Hinako FURUTA¹⁾ Ryota MATSUOKA¹⁾ Yasuhisa NAKAGAWA¹⁾

1) Department of Medical Technology School of Health Sciences Gifu
University of Science

(795-1 Nagamine Ichihiraga, Seki, Gifu, 501-3892, Japan.)

Summary

Early diagnosis of common bile duct (CBD) obstruction is feasible, but diagnosis of partial bile duct obstruction is often delayed due to mild symptoms. Moreover, hepatocellular destruction and duct sclerosis may occur when partial bile duct obstruction is associated with an infection. Therefore, animal studies are warranted to identify laboratory findings indicating early stages of partial bile duct obstruction. We surgically ligated each bile duct in rats (CBD, right lateral liver lobe bile duct [RBD], right medial liver lobe bile duct [RMBD], left lateral liver lobe bile duct [LBD], and sham [SH]; $n=3/\text{group}$). Rat extrahepatic bile ducts are very thin and difficult to distinguish from other tissues of the same color, which poses a surgical challenge. Thus, indocyanine green was injected intravenously through the portal vein, and the extrahepatic bile ducts were explored and ligated with the dye as a guide. An abdominal ultrasound was performed 1 week postoperatively. Hematologic and biochemical tests, and a histologic examination of the liver were performed 3 weeks later. Weight gain was suppressed in all postoperative ligation groups. Significant findings were detected in all tests in the CBD group, but not in the other groups. These findings suggest that the non-obstructed liver lobe may compensate for obstructed lobe function. Early-stage partial obstruction of the extrahepatic bile duct is difficult to diagnose due to the lack of useful findings based on a non-invasive clinical examination.

Key words:

Bile duct obstruction, RAT, biliary stasis, Animal experiment, Surgical bile duct ligation

Fig. 1A: The common bile duct (CBD) was temporarily clamped with cerebrovascular clips to prevent excretion of ICG dye into the gastrointestinal tract.

Fig. 1B: After rightward deployment of the cerebrovascular clip, 150 μ L of ICG dye was administered through the exposed portal vein (PV), resulting in green discoloration of the liver.

Fig. 2A: Extrahepatic bile ducts before ICG dye administration are difficult to distinguish from surrounding tissues.

Right lateral lobe bile duct (RBD), Right medial lobe bile duct (RMBD), Left lateral lobe bile duct (LBD), Common bile duct (CBD).

Fig. 2B: After ICG dye administration, the extrahepatic bile ducts turn green due to dye excretion, making them easy to distinguish from the surrounding tissues.

Right lateral lobe bile duct (RBD), Right medial lobe bile duct (RMBD), Left lateral lobe bile duct (LBD), Common bile duct (CBD).

Fig. 3: Residual plasma concentrations at 15 minutes after ICG administration showed significant residuals in the CBD group compared to SH ($p < 0.001$). On the other hand, the RBD, RMBD and LBD groups were not significantly different from the SH group.

Fig. 4: The CBD group was the heaviest in terms of weight of each liver lobe dominated by each ligated bile duct, and the RBD, RMBD, and LBD groups showed no significant increase in liver weight compared to the SH group.

Fig. 5: *Masson's trichrome*-stained microscopic images (x 200) of rat liver (right lateral lobe of liver, right medial lobe of liver, and left medial lobe of liver) at 3 weeks postoperatively.

Table 1: Results of blood cell counts and biochemical tests in rats 3 weeks postoperatively.

「 令和5年度 岐阜県臨床検査技師会誌 」

発行・代表 (一社) 岐阜県臨床検査技師会 棚村 一彦

編集 学術部 学術部長 森本 剛史(代表者)