

学 位 論 文 題 名

Magnetic Resonance Imaging
of Hereditary Spontaneous Hepatitis
in Long-Evans Cinnamon Rats

（Long-Evans Cinnamon ラットの遺伝性自然発症肝炎の磁気共鳴画像）

学位論文内容の要旨

はじめに

多くの研究者が肝病変モデル動物の磁気共鳴画像と磁気共鳴スペクトロスコピーを報告している。これらの肝病変モデルのほとんどは、四塩化炭素、エタノールなどの薬物、あるいは、移植腫瘍によって作成されている。Long-Evans Cinnamon (LEC)ラットは遺伝的に肝炎を自然発症するので、これらのモデルより人間の肝疾患に類似していると考えられる。

LECラットは銅代謝に異常があり、肝内に著明に銅が蓄積し、血中のセルロプラスミンが低い。さらに、鉄、マンガン等の他の金属の代謝にも異常があることも報告されている。

ある種の金属は磁気共鳴画像の信号強度に影響を与えることが報告されている。ヘモクロマトーシス等で肝臓に蓄積した鉄は信号強度を低下させ、最近では、肝細胞癌内に蓄積した銅が信号強度を増強させる可能性が報告されている。今回我々は、LECラットの急性肝炎、慢性肝炎期の磁気共鳴画像について報告する。

対象及び方法

肝炎発症前 8 頭、急性肝炎期 6 頭、慢性肝炎期 5 頭の計 19 頭の LEC ラットから磁気共鳴画像を撮影した。肝疾患の病気は、週齢と黄疸の有無などの所見から判断したが、画像撮影後、血液検査の GPT 値と病理所見から確認した。

磁気共鳴画像撮影装置は、SIS 社製 sis300/183（静磁場強度 7.05T、 ^1H 共鳴周波数 300MHz、183mm 水平ボア）である。抱水クロラル 150-400mg/kg で麻酔後、89mm 径鞍型コイル内に仰臥位にて固定して撮影した。撮影シーケンスは TR500 ミリ秒、TE13 ミリ秒の、プロトン密度強調画像を撮影した。画像のスライス厚は 2mm で、ほぼ肝臓全体を 0.5mm 間隔で 12 枚撮影した。

信号強度の比較は、横隔膜から約 7.5mm の肝臓が最も大きく写るスライスで肝臓内と腹・背筋の各 4 点から測定し、その平均値の比を計算して行なった。

磁気共鳴画像を撮影後、下大静脈から採血を行ない、解剖して肝臓を摘出してホルマリン固定し、肝病変の確認のためヘマトキシリン・エオジン染色、銅染色として Timm's 法、銅結合蛋白を見るためにオルセイン染色、鉄染色として Berlin-blue 法を施行した。

統計分析は、肝炎発症前、慢性肝炎期と急性肝炎期の比較には Smith-

Satterthwaite法を、肝炎発症前と慢性肝炎期比較にはStudent's t-testを用いた。

結果

ヘマトキシリン・エオジン染色において、急性肝炎と判定された肝臓は細胞構築の破壊、巨大な核を持った肝細胞の腫大、点状壊死、Kupffer細胞などの炎症細胞の浸潤が認められた。慢性肝炎と考えられた肝臓には壊死や細胞浸潤は軽度であるが、卵形細胞と小肝細胞が肝小葉の辺縁に認められた。肝炎発症前の肝臓には病理組織学的な異常は認められなかった。これらの所見は人間の肝炎の病理組織像とはほぼ対応していた。

総ビリルビン値は急性肝炎期で有意に高く、GPT値は急性肝炎期で上昇し、慢性肝炎期でやや低下するものの高値を持続していた。

全病期を通じて、磁気共鳴画像での肝の信号強度は均一であった。肝臓／筋肉の信号強度比は急性肝炎期で 0.208 ± 0.067 と肝炎発症前の 0.603 ± 0.195 より有意に低下し、慢性肝炎期には 0.672 ± 0.160 と回復していた。

Timm's法では全病期の肝臓に著名な銅の沈着が認められたが、オルセイン染色ではなにも染色されなかった。Berlin-blue染色により、急性肝炎期に肝細胞の内外に多量の、慢性肝炎期には少量の鉄が認められたが、肝炎発症前には鉄の沈着はなかった。

考察

本研究によって、LECラットの肝臓のプロトン密度強調磁気共鳴画像の信号強度は、急性肝炎期に有意に低下し、慢性肝炎期に回復することが明らかになった。周知のようにLECラットは銅代謝に異常があり、肝臓内に多量の銅が蓄積する。また、最近では鉄の代謝異常による肝臓内への鉄の蓄積も報告されている。銅結合蛋白はオルセイン染色で検索するかぎり認められていない。

この急性肝炎期の信号強度の低下は何に由来するのであろうか。肝臓内の銅の磁気共鳴画像の信号強度に及ぼす影響については未だに議論がある。Ebaraらは人間の肝細胞癌にある2価銅イオンの常磁性効果がT1緩和時間を短縮し、T1強調画像の信号強度の上昇をもたらすと報告している。一方、Kitagawaらは肝臓内の銅は蛋白と結合した反磁性体であり、磁気共鳴画像の信号強度には影響しないと考えている。しかし、本研究において銅はいずれの病期にも多量に存在していた。したがって銅による信号低下の可能性は低い。一方、肝炎の病期に一致して鉄沈着の程度は変化していた。すなわち、信号強度の低下にあわせて多量の鉄が肝内に沈着していた。

頻回の輸血などによるヘモクロマトーシスによる肝臓への鉄の過剰蓄積はT2緩和時間を短縮し、プロトン密度強調磁気共鳴画像の信号強度を低下させることが知られている。これは、ferritinなどタンパクに結合した鉄が局所的に磁場を不均一にするために起こる。加えて、今回使用したような超高磁場装置では信号強度の低下効果は一層大きい。

結語

LECラットの肝炎期の磁気共鳴画像信号強度は肝内に蓄積する銅よりもむしろ鉄の影響を強く受けて低下した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 宮 坂 和 男
副 査 教 授 武 市 紀 年
副 査 教 授 安 田 慶 秀

学 位 論 文 題 名

Magnetic Resonance Imaging of Hereditary Spontaneous Hepatitis in Long-Evans Cinnamon Rats

(Long-Evans Cinnamon ラットの遺伝性自然発症肝炎の磁気共鳴画像)

【研究目的】

本学動物実験施設で樹立されたLECラットは銅代謝に異常があり、肝内に著明に銅が蓄積し、血中のセルロプラスミンが低い。さらに、鉄、マンガン等の他の金属の代謝にも異常があることも報告されている。

ある種の金属は磁気共鳴画像の信号強度に影響を与えることが報告されている。ヘモクロマトーシス等で肝臓に蓄積した鉄は信号強度を低下させ、最近では、肝細胞癌内に蓄積した銅が信号強度を増強させる可能性が報告されている。本研究では、LECラットの急性肝炎、慢性肝炎期の磁気共鳴画像から、肝内蓄積金属と磁気共鳴画像の信号強度の関係を求めることを目的とする。

【対象と方法】

肝炎発症前8頭、急性肝炎期6頭、慢性肝炎期5頭の計19頭のLECラットから磁気共鳴画像を撮影した。肝疾患の病気は、週齢と黄疸の有無などの所見から判断したが、画像撮影後、血液検査のGPT値と病理所見から確認した。

磁気共鳴画像撮影装置は、SIS社製sis300/183（静磁場強度7.05T、 ^1H 共鳴周波数300MHz、183mm水平ボア）である。抱水クロラル150-400mg/kgで麻酔後、メーカー提供の89mm径鞍型コイル内に仰臥位にて固定して撮影した。撮影シーケンスはTR時間500ミリ秒、TE時間13ミリ秒であるが、この装置における肝臓T2時間は短く、プロトン密度強調画像となった。画像のスライス厚は2mmで、ほぼ肝臓全体を0.5mm間隔で12枚撮影した。

信号強度の比較は、横隔膜から約7.5mmの肝臓が最も大きく写るスライスで肝臓内と腹・背筋の各4点から測定し、その平均値の比を計算して行なった。

磁気共鳴画像を撮影後、下大静脈から採血を行ない、解剖して肝臓を摘出してホルマリン固定し、肝病変の確認のためヘマトキシリン・エオジン染色、銅染色としてTimm's法、銅結合蛋白を見るためにオルセイン染色、鉄染色としてBerlin-blue法を施行した。

【研究結果とまとめ】

ヘマトキシリン・エオジン染色において、急性肝炎と判定された肝臓は細胞構築の破壊、巨大な核を持った肝細胞の腫大、点状壊死、Kupffer細胞などの炎症細胞の浸潤が認められた。慢性肝炎と考えられた肝臓には壊死や細胞浸潤は軽度であるが、卵形細胞と小肝細胞が肝小葉の辺縁に認められた。肝炎発症前の肝臓には病理組織学的な異常は認められなかった。これらの所見は人間の肝炎の病理組織像とほぼ対応していた。

総ビリルビン値は急性肝炎期で有意に高く、GPT値は急性肝炎期で上昇し、慢性肝炎期でやや低下するものの高値を持続していた。

全病期を通じて、磁気共鳴画像での肝の信号強度は均一であった。肝臓／筋肉の信号強度比は急性肝炎期で 0.208 ± 0.067 と肝炎発症前の 0.603 ± 0.195 より有意に低下し、慢性肝炎期には 0.672 ± 0.160 と回復していた。

Timm's法では全病期の肝臓に著名な銅の沈着が認められたが、オルセイン染色ではなにも染色されなかった。Berlin-blue染色により、急性肝炎期に肝細胞の内外に多量の、慢性肝炎期には少量の鉄が認められたが、肝炎発症前には鉄の沈着はなかった。

以上の結果から、LECラットの急性・慢性肝炎期の磁気共鳴画像信号強度は肝内に蓄積する銅の影響はほとんど受けず、鉄の影響を強く受けることが分かった。

口頭発表時および個別審査において、武市教授より、量的には銅より少ない鉄が磁気共鳴画像の信号強度により大きく影響を及ぼすことについて、安田教授から、肝炎期に増加した血流が信号強度に及ぼす影響、本研究の臨床応用、肝内の銅蓄積量、細川教授から、他の原因による肝炎での磁気共鳴画像について等につき質問がなされたが、学位申請者は概ね妥当な回答を行なった。副査の武市・安田両教授にはそれぞれ個別に面談し、試問の結果、両教授の判定は合格であった。

以上、Long-Evans Cinnamon ラットの遺伝性自然発症肝炎をモデルに肝内蓄積金属と磁気共鳴画像の信号強度の関係を明らかにした本研究は独創性に富み、博士（医学）の学位に値するものと判断した。