

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 上 義 和

副 査 教 授 古 館 正 從

副 査 教 授 西 信 三

学 位 論 文 題 名

慢性肝疾患における肝細胞の鉄沈着と 赤血球フェリチンとの関係に関する研究

《緒 言》

フェリチンは鉄貯蔵蛋白であり血清フェリチン値の測定は非侵襲的な鉄貯蔵量の指標として有用であるが、悪性腫瘍・感染・炎症・輸血などのほかに年齢・性差などの影響を受ける。特に肝障害では肝がフェリチンをもっとも多く含む臓器であるため肝組織崩壊に伴う逸脱なども加味され、血清フェリチン量の解釈が複雑となってくる。本研究ではこのような組織フェリチン逸脱の影響を受け難い赤血球内のフェリチン量を各種慢性肝疾患について測定し、それら疾患における肝組織の鉄沈着とその局在を検索して両者の関係を検討した。

《実験方法》

(対象症例) 当科にて経験した慢性肝疾患 131例を対象とし、さらにアルコール性肝硬変3例を検討に加えた。対照には健常人29例を選び、比較検討した。

《検討方法》

- ①赤血球フェリチン量はBeutler らの方法にて分離した赤血球を、Weydenらの方法に準じて浸透圧法によって溶血液を作製し、Radioimmunoassay (RIA) 法のSpac Ferritin Kit (第一ラジオアイソトープ社; 東京; 抗体はヒト肝フェリチン) を使用して測定した。単位は赤血球1個当たりの濃度を ag/cell ($\text{ag}=10^{-10}\text{g}$) として表わした。放射性ヨード ^{125}I はガンマーカウンター ARC-600 (アロカ株式会社; 東京) で測定した。
- ②病理組織学的診断はHE (Hematoxylin-Eosin) 染色の他にMasson染色・Gitter染色にて、さらに肝組織における鉄沈着の有無はBerlin blue 染色を施行して診断した。その評価は Scheuer の分類に従い、grade 1 以上を陽性とした。
- ③赤血球フェリチンの不均一性 (heterogeneity) は等電点電気泳動 (Isoelectric focusing; 以下 IEF) を用いて検討した。赤血球溶血液は熱処理・透析などの処理後、泳動した。
- ④赤血球フェリチンの糖鎖の有無は3種類のレクチン (Concanavalin-A; Con-A, Wheat germ agglutinin; WGA, Lens culinalis agglutinin; LCA) を使用して、その結合性をカラムクロマトグラフィーにて検討した。
- ⑤赤血球内の鉄量を溶血液にて日立製原子吸光度計180-60 (日立製作所; 東京) で測定した。

《結 果》

- ①健常人男性 $20.7 \pm 9.7 \text{ ag/cell}$, 女性 $11.1 \pm 5.5 \text{ ag/cell}$, 慢性肝炎男性 $47.5 \pm 34.1 \text{ ag/cell}$, 同女性 $23.3 \pm 14.2 \text{ ag/cell}$ で、肝硬変男性 $71.0 \pm 52.2 \text{ ag/cell}$, 同女性 $41.6 \pm 35.0 \text{ ag/cell}$ と慢性肝疾患、特に肝硬変患者において赤血球内のフェリチンが高値であり、女性より男性で高値であった (平均値 $\pm$ 標準偏差; $\text{MV} \pm 1\text{SD}$)。
- ②病理組織学検査で肝細胞に鉄沈着の見られた症例では、赤血球フェリチン量が 20 ag/cell 以上を示す傾向が認められた。
- ③健常人の赤血球溶血液の IEFパターンではフェリチンは pI (isoelectric point; 以下 pI , 等電点) 5.1 付近から出現し始め pI 5.7 まで続いている。peakは pI 5.2 と 5.5 に認められた。
- ④肝硬変患者の赤血球溶血液の IEFでは、 pI 6.0 前後までのより塩基性に広がる幅広いアイソフェリチンが存在することと、peakが pI 5.3 と 5.6 と健常人に比較して塩基性に偏位していることが特徴的であった。
- ⑤肝硬変に HCC (原発性肝細胞癌) を合併した症例の IEF で検出された赤血球フェリチンの幅は肝硬変のそれと類似するが、peakはさらに塩基性に偏位する傾向が認められた。
- ⑥アルコール性肝硬変の2症例では pI 7.0 付近までの極めて塩基性の強いアイソフェリチンが認めら

れ、peakも著明に塩基性を示した。

⑦3種類のレクチンと赤血球フェリチンとの結合性は認められなかった。

⑧赤血球内の鉄濃度の測定の結果、健常人では男女共にほぼ同じ値であったが慢性肝疾患患者は明らかに高値であった。鉄量とヘモグロビンの比は肝疾患において高い傾向が認められた。

《考 案》

慢性肝疾患で肝細胞の鉄沈着の有無を赤血球フェリチンの測定にて、非侵襲的に推定でき得ると考えられた。慢性肝疾患、特に肝硬変患者での赤血球寿命の短縮や骨髄と肝脾の鉄分布の解離現象、溶血の存在、その結果としての潜在的および顕性貧血・鉄利用障害などのため、フェリチン量の多い幼若赤血球が末梢血中に流出した結果が赤血球フェリチン値高値になると考えられた。一方、骨髄での鉄利用障害は網内系組織である肝臓への鉄沈着を促進する。さらに鉄利用障害により赤血球内のHb合成に用いられなかった鉄によって赤血球フェリチンの産生は増加し、そのフェリチンのpIは塩基性に偏位すると考えられた。

《結語》慢性肝疾患の赤血球についてフェリチン量を測定し、その不均一性をIEFにて検討し以下の結果を得た。

1. 赤血球フェリチンが20ag/cell 以上で肝細胞に鉄沈着の認められる傾向が示された。
2. 赤血球溶血液のIEFパターンでは肝硬変患者で塩基性のフェリチンが認められ、peakも健常人に比較して塩基性に偏位し、肝硬変患者における慢性の鉄過剰状態を示唆する所見と考えられた。
3. アルコール性肝疾患ではさらに強く塩基性に傾いており、肝細胞の鉄沈着との関連が示唆された。
4. 赤血球フェリチンと各種レクチンとの結合性は健常人および慢性肝疾患ともに認められず、pIの変動に糖鎖の影響のないことが示唆された。

以上の結果から、慢性肝疾患における肝細胞の鉄沈着を窺う上で赤血球フェリチンの質・量的検索は非侵襲的にその診断を可能にし、その有用性が示された。

以上より、本研究は博士（医学）の学位論文として妥当なものと判断される。

学 位 論 文 題 名

Intra-arterial Infusion of N-isopropyl-p [^{123}I]
Iodoamphetamine for assessing Effective Blood
Supply to Pulmonary and Hepatic Neoplasms

(N-isopropyl-p [^{123}I] Iodoamphetamine の動脈内投与による
肺および肝腫瘍への有効血流の評価)

学位論文内容の要旨

1. はじめに

悪性腫瘍に対する動注癌化学療法は、現在重要な役割を果たしているが、標的とした腫瘍に対する治療効果を高めるためには、投与量、薬剤動態、薬剤分布、投与経路などの十分な検討が必要である。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -macroaggregated albumin ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAA) は、初回循環時の毛細管塞栓物質として腫瘍組織の血流分布の評価に通常用いられている。N-isopropyl-p [^{123}I] Iodoamphetamine (^{123}I -IMP) は脂肪親和性が高く、内頸動脈より脳実質内に直接投与された時、脳血流関門を通過し、初回循環において投与量の90%以上が細胞内に分布することから、局所脳血流測定用トレーサーとして現在広く臨床応用されている薬剤である。気管支動脈や肝動脈内に投与された ^{123}I -IMPの初回循環分布も、脳組織と同様に、腫瘍を含めた肺や肝組織の血流を反映することが期待される。

この論文では、腫瘍血流を評価する目的で、肺又は肝に悪性腫瘍を有する患者に ^{123}I -IMPを動脈内投与し、 ^{123}I -IMP の初回血流分布、腫瘍集積、肺や肝組織での時間変化を研究した。さらに従来の血管造影法による腫瘍染色および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAAを用いた腫瘍描画と比較し、 ^{123}I -IMPの腫瘍血流評価薬としての有用性について検討した。

2. 対象と方法

対象は、肺癌10症例、肝腫瘍28症例である。肺癌患者10症例、転移性肝腫瘍12症例と原発性肝癌2症例においては血管造影と動注療法がなされた直後に、原発性肝癌5症例においては肝動脈塞栓術の前に、 ^{123}I -IMP 37MBq/2 mlを徐々に注入後、シンチグラフィを施行した。皮下リザーバーが装着された転移性肝腫瘍9症例においては、 ^{123}I -IMP 37MBq/2 ml投与後、1週間以内に $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAA 185MBq/2mlを投与し、シンチグラフィを施行した。検査は全て施行前に被験者の同意を得た。シンチグラフィは仰臥位にて施行し、低エネルギー・平行型コリメーターを装着した大視野型ガンマカメラを用いた。放射性薬剤投与後、3分毎の経時的イメージングと、30秒毎60分間のデータ収集を行った。

動注前後に放射性薬剤が充填されたシリンジを、ガンマカメラから20cmの距離にて1分間計測した。全肺、全肝、肺もしくは肝の局所的集積亢進部位に不定型の関心領域を設定した。 ^{123}I -IMPの投与量に対する全肺・肺腫瘍・全肝の% uptakeは、[投与1-2分後の全肺・肺腫瘍・全肝のカウント/全投与カウント] x 100% として算出した。肝腫瘍においては腫瘍/肝実質比 (T/L ratio)を算出した。腫瘍と正常組織からの30分と60分における投与後1-2分に対する washout rateについても算出した。Student's t-test により有意差を検定し、 $p < 0.05$ を有意と判定した。

3. 結果

＜肺腫瘍＞ 気管支動脈内に投与された ^{123}I -IMPは、肺腫瘍やリンパ節ばかりでなく、気管支動脈や肋間動脈にそった正常組織や縦隔にも分布した。全肺及び肺腫瘍の平均% uptakeは、それぞれ $40.6 \pm 9.2\%$ 及び $14.7 \pm 5.7\%$ であった。10腫瘍・8リンパ節・8正常肺実質の30分における平均 washout rateは、各々 39.6 ± 10.8 、 45.1 ± 11.0 、 $29.4 \pm 11.8\%$ 、60分における平均 washout rateは、各々 55.6 ± 14.2 、 62.8 ± 11.0 、 $41.4 \pm 10.6\%$ であった。30分と60分でのリンパ節と正常組織、60分での腫瘍と正常組織間の washout rateに、統計学的に有意差がみられた。

＜肝腫瘍＞ 肝動脈内投与後の ^{123}I -IMPは肝実質、胆嚢および肝腫瘍に集積した。右肝動脈にカテーテル先端が置かれた7例の平均全肝% uptakeは、 $40.2 \pm 18.2\%$ であった。原発性肝癌5症例における、 ^{123}I -IMP投与2分後の平均 T/L ratioは、 2.11 ± 0.69 、転移性肝腫瘍6症例の平均 T/L ratio は 1.37 ± 0.70 であった。 ^{123}I -IMP投与後30分の平均 washout rateは、9例の正常肝実質で $0.7 \pm 6.7\%$ 、5例の肝硬変で $15.2 \pm 11.6\%$ 、5例の原発性肝癌で $23.2 \pm 7.8\%$ 、6例の転移性肝腫瘍で $12.2 \pm 7.6\%$ であった。60分での平均 washout rateは、各々 $4.2 \pm 8.3\%$ 、 $21.6 \pm 15.3\%$ 、 $37.6 \pm 11.9\%$ 、 $17.7 \pm 9.3\%$ であった。30分、60分での平均 washout rateは肝硬変は正常肝実質よりも早く、原発性肝癌は転移性肝腫瘍よりも早かった。 ^{123}I -IMPと $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAAシンチグラフィが施行された6症例では、その集積程度と分布に相違が観察された。 ^{123}I -IMPの肝腫瘍集積と血管造影における腫瘍染の比較では、19症例中2症例において ^{123}I -IMPは陽性所見を示したが、血管造影では陰性所見を示した。

4. 考察

^{123}I -IMPの全肺および全肝の全投与量に対する平均% uptakeは、おおよそ50%かそれを下まわるものであった。 ^{123}I -IMPの動注後の臓器内分布に関しては、脳組織以外の報告はないが、% uptakeが予想された値よりも低かった原因としては、正常肺の気管支壁周囲に存在する毛細血管床を介した気管支動脈・肺動脈吻合、腫瘍周囲での前毛細管レベルでの気管支動脈・肺動脈短絡路、また肝動・静脈や肝動脈・門脈短絡路などに加え、組織吸収補正の未施行が考えられる。 ^{123}I -IMPを静注した場合、初回循環で高率に肺に集積することが知られており、その後徐々に集積は低下するものの、3時間後でも30%以上が肺に分布する。正常肺組織の washout rateの遅延は、 ^{123}I -IMP再循環後の正常肺組織への集積が関与していることが推定される。肝臓における硬変肝と正常肝の washout rateの差は、静脈内投与された ^{123}I -IMPでは、肺とは逆に緩徐に肝に集積することが報