

学 位 論 文 題 名

^{99m}Tc -GSAを用いたラット肝血行遮断モデルにおける
肝血流量の評価

学位論文内容の要旨

I. 目 的

近年、肝臓外科の進歩に伴い、肝切除術が広く行われるようになり、術前の肝予備能の正確な評価がますます重要になっている。一方、近年、肝細胞の細胞膜表面に存在するアシアロ糖蛋白受容体に特異的に結合するガラクトシル人血清アルブミンジェチルトリアミン五酢酸テクネシウム(^{99m}Tc -DTPA-galactosyl-human serum albumin: 以下GSA)注射液が開発され、これを用いたシンチグラフィが可能となった。アシアロ糖蛋白受容体は肝疾患の病態によって減少することが知られており、GSAの肝への集積率および血中からの消失率を解析することによって、既存の検査法とは異なる観点から肝疾患の病態や肝機能の評価が可能になると期待されている。GSAの体内分布、代謝経路などについては、これまでも多くのモデルによる検討が行われているが、肝血流の変化がGSAの肝集積に及ぼす影響についての詳細な検討はいまだなされていない。そこで、本研究では肝血行遮断がGSAの肝集積に及ぼす影響を解析し、GSAによる肝血流評価の有用性を明らかにする目的で、正常肝ラットおよび四塩化炭素投与によって作成した肝障害ラットの肝血行遮断モデルを用いて、GSAの血中消失および肝集積をあらわすパラメータを測定し、レーザードップラー血流計によって測定された肝組織血流量との相関性について検討を行った。

II. 方 法

1. 実験動物

Wistar系雄性ラットを用い、以下の2群に分けた。

- 1) 正常肝群：体重300 g 前後の未処置のラットを用いた。
- 2) 肝障害群：体重150 g 前後のラットを用い、フェノバルビタール水溶液35mg/dl自由飲水下に、四塩化炭素とオリーブ油の等量混合液を0.2ml/100 g 体重、週2回、13週間皮下注射し、慢性肝障害ラットを作成した。

2. 肝血流遮断モデルの作成

エーテル麻酔下に開腹し、以下の操作によって上記の両群をさらに各々4亜群に分けた。

- 1) 単開腹 (simple laparotomy : 以下LAP) 亜群 (正常肝群n=11, 肝障害群n=12)
- 2) 肝動脈結紮 (hepatic artery ligation : 以下HAL) 亜群 (正常肝群n=11, 肝障害群n=11)
- 3) 門脈結紮 (portal vein ligation : 以下PVL) 亜群 (正常肝群n=11, 肝障害群n=11)
- 4) 肝動脈および門脈結紮 (以下HAL+PVL) 亜群 (正常肝群n=10, 肝障害群n=11)

3. GSAの投与, データ収集および解析

GSA $50 \mu\text{g}/100 \text{g}$ 体重を左大腿静脈より注射し、ガンマカメラを用いて20秒/frame (128×128 matrix)で15分間データを収集した。データの解析には核医学専用コンピュータを用い、心臓および肝臓に関心領域を設定して時間放射能曲線 (time activity curve : 以下TAC) を作成し、以下の4つのパラメータを算出した。

- 1) 血中消失率の指標として2分後に対する4分後の心臓のカウンtr比 (H_4/H_2 :以下HH4)
- 2) 肝摂取率の指標として4分後の心臓+肝臓のカウンtrに対する4分後の肝臓のカウンtr比 ($L_4/(H_4+L_4)$: 以下LHL4)
- 3) 心臓のTACを2指数関数フィッティング処理して得られる第1相の心消失係数 (K_d)
- 4) 肝臓のTACを立ち上がり指数関数フィッティング処理して得られる肝摂取係数 (K_u)

4. 肝組織血流量の測定

肝組織血流量はレーザードップラー血流計を用い、肝外側左葉にプローブを固定し、肝血流遮断前、遮断後2分毎の組織血流量を測定した。結果は肝血流遮断前値に対する遮断後の値の変化率：肝組織血流変化率 (hepatic tissue blood flow ratio:以下HTBFR) として算出した。

III. 結 果

1. GSAパラメータ

正常肝群のHH4はLAP, HAL, PVLおよびHAL+PVL各亜群でそれぞれ0.58, 0.64, 0.85, 0.97であり, LHL4は0.96, 0.94, 0.72, 0.34, K_d は0.53, 0.46, 0.27, 0.13, K_u は0.37, 0.32, 0.24, 0.19であった。

肝障害群ではHH4は0.70, 0.83, 0.90, 0.95であり, LHL4は0.91, 0.85, 0.47, 0.33, K_d は0.45, 0.32, 0.20, 0.11, K_u は0.23, 0.18, 0.13, 0.11であった。

2. 肝組織血流変化率(HTBFR)

血流遮断後, HTBFRは速やかに減少し, その後安定した値を示した。各亜群間の比較では正常肝群でも, 肝障害群においてもそれぞれLAP, HAL, PVLおよびHAL+PVLの順に有意に低値を示した。

3. HTBFRとGSAパラメータの相関性

正常肝群および肝障害群の両群において, HTBFRとHH4, LHL4, K_d および K_u との間には, いずれも有意な高い相関が認められた。

IV. 考 察

肝障害群では肝血行遮断後、HTBFRの有意な減少に伴い、LAP亜群に比べてHH4はHAL,PVL, HAL+PVL亜群の順に有意に増加し、LHL4, KdおよびKuはHAL, PVL, HAL+PVL亜群の順に有意に低値を示した。正常肝群においては、LAP亜群とHAL亜群との間には有意差を認めなかったが、その他の組み合わせの間では、HH4, LHL4, KdおよびKuの値に肝障害群と同様な有意差が認められた。またHTBFRとHH4, LHL4, KdおよびKuの間には正常肝群、肝障害群のいずれにおいてもそれぞれ有意な高い相関が認められた。すなわち、今回検討したGSAパラメータは肝血流量の変化と有意に相関することが示された。正常肝群と肝障害群との比較でみると、LAP亜群では、正常肝群と肝障害群との間でHH4, LHL4, KdおよびKuのすべてに有意差を認めており、GSAパラメータは慢性肝障害による有効肝細胞数の減少を良く反映することが示唆された。またHAL亜群でも正常肝群と肝障害群との間で4つのパラメータすべてに有意差が認められたが、PVL亜群およびHAL+PVL亜群では一部に有意差が認められなかった。すなわちGSAパラメータは慢性肝障害による有効肝細胞数の減少を反映するが、極端に肝血流の減少した状態では肝障害度の差としては評価できない場合もあることが示唆された。正常肝群においてHAL亜群でHTBFRが20%低下しているにもかかわらず、LAP亜群との間でGSAパラメータの値に有意差が認められなかった理由として、GSAの肝集積における濃度依存性の影響が考えられた。すなわち本研究における投与量が比較的高濃度なため、20%前後の血流変化は肝細胞レセプター飽和に有意に影響しなかったのではないかと推測される。このことは、少量の肝血流変化を評価するためには、受容体活性を考慮にいたした投与量の調節が必要となる場合もあることを示していると考えられた。

V. 結 語

1. GSAパラメータは正常肝においても慢性肝障害においても血行遮断による肝血流量の変化と有意に相関することが示された。
2. GSAパラメータは慢性肝障害による有効肝細胞数の減少によっても影響されることが示された。
しかし、門脈遮断および肝動脈門脈遮断といった極端に肝血流の減少した状態では慢性肝障害と正常肝との差を評価することが困難な場合もあることが示唆された。
3. GSAパラメータによって少量の肝血流変化を評価するためには、受容体活性を考慮にいたした投与量の調節が必要となる場合もあることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 加 藤 紘 之

副 査 教 授 安 田 慶 秀

副 査 教 授 玉 木 長 良

学 位 論 文 題 名

^{99m}Tc -GSAを用いたラット肝血行遮断モデルにおける

肝血流量の評価

近年、肝細胞の細胞膜表面に存在するアシアロ糖蛋白受容体に特異的に結合するガラクトシル人血清アルブミンジエチルトリアミン五酢酸テクネシウム(以下GSA)注射液が開発され、これを用いたシンチグラフィが可能となった。アシアロ糖蛋白受容体は肝疾患の病態によって減少することが知られており、GSAの肝への集積率および血中からの消失率を解析することによって、既存の検査法とは異なる観点から肝機能の評価が可能になると期待されている。本研究では肝血行遮断がGSAの肝集積に及ぼす影響を解析し、GSAによる肝血流評価の有用性を明らかにする目的で、正常肝ラットおよび四塩化炭素投与によって作成した肝障害ラットの肝血行遮断モデルを用いて、GSAの血中消失および肝集積をあらわすパラメータを測定し、レーザードップラー血流計によって測定された肝組織血流量との相関性について検討を行った。

実験動物にはWistar系雄性ラットを用い、体重300g前後の未処置のラット(正常肝群)、および体重150g前後のラットに四塩化炭素とオリーブ油の等量混合液を0.2ml/100g体重、週2回、13週間皮下注射して作成した慢性肝障害ラット(肝障害群)の2群に分けた。両群をエーテル麻酔下に開腹し、以下の操作によってさらに各々4亜群に分けた。1)単開腹亜群(simple laparotomy:以下LAP)、2)肝動脈結紮亜群(hepatic artery ligation:以下HAL)、3)門脈結紮亜群(portal vein ligation:以下PVL)、4)肝動脈および門脈結紮亜群(以下HAL+PVL)

開腹後ただちにレーザードップラー血流計のプロブを肝表面に固定し、肝血流遮断前、遮断後2分毎の組織血流量を測定した。結果は肝血流遮断前値に対する遮断後の値の変化率:肝組織血流変化率(hepatic tissue blood flow ratio:以下HTBFR)として算出した。また、遮断と同時にGSA 50 μg /100g体重を左大腿静脈より注射し、ガンマカメラを用いて20秒/frame(128 $\times$ 128 matrix)で15分間データを収集した。データの解析には核医学専用コンピュータを用い、心臓および肝臓に関心領域を設定して時間放射能曲線(time activity curve:以下TAC)を作成し、以下の4つのパラメータを算出した。1)血中消失率の指標として2分後に対する4分後の心臓のカウント比(以下HH4)、2)肝摂取率の指標として4分後の心臓+肝臓のカウントに対する4分後の肝臓のカウント比(L4/(H4+L4):以下LHL4)、3)心臓のTACを2指数関数フィッティング処理して得られる第1相の心消失係数(Kd)、4)肝臓のTACを立ち上がり指数関数フィッティング処理して得られる肝摂取係数(Ku)

その結果、HTBFRは血行遮断後、速やかに減少し、その後安定した値を示した。各亜群間の比較では正常肝群でも、肝障害群においてもそれぞれLAP、HAL、PVLおよびHAL+PVLの順に有意に低値を示した。また、正常肝群のHH4はLAP、HAL、PVLおよびHAL+PVL各亜群

でそれぞれ0.58, 0.64, 0.85, 0.97であり, LHL4は0.96, 0.94, 0.72, 0.34, Kdは0.53, 0.46, 0.27, 0.13, Kuは0.37, 0.32, 0.24, 0.19であった。一方, 肝障害群ではHH4は0.70, 0.83, 0.90, 0.95であり, LHL4は0.91, 0.85, 0.47, 0.33, Kdは0.45, 0.32, 0.20, 0.11, Kuは0.23, 0.18, 0.13, 0.11であった。肝障害群では肝血行遮断後, HTBFRの有意な減少に伴い, LAP亜群に比べてHH4はHAL, PVL, HAL+PVL亜群の順に有意に増加し, LHL4, KdおよびKuはHAL, PVL, HAL+PVL亜群の順に有意に低値を示した。正常肝群においては, LAP亜群とHAL亜群との間には有意差を認めなかったが, その他の組み合わせの間では, HH4, LHL4, KdおよびKuの値に肝障害群と同様な有意差が認められた。またHTBFRとHH4, LHL4, KdおよびKuとの間には正常肝群, 肝障害群のいずれにおいてもそれぞれ有意な高い相関が認められた。すなわち, 今回検討したGSAパラメータは肝血流量の変化と有意に相関することが示された。正常肝群と肝障害群との比較でみると, LAP亜群では, 正常肝群と肝障害群との間でHH4, LHL4, KdおよびKuのすべてに有意差を認めており, GSAパラメータは慢性肝障害による有効肝細胞数の減少を良く反映することが示唆された。また HAL亜群でも正常肝群と肝障害群との間で4つのパラメータすべてに有意差が認められたが, PVL亜群およびHAL+PVL亜群では一部に有意差が認められなかった。すなわちGSAパラメータは慢性肝障害による有効肝細胞数の減少を反映するが, 極端に肝血流の減少した状態では肝障害度の差としては評価できない場合もあることが示唆された。

以上の結果より, GSAパラメータは正常肝においても慢性肝障害においても血行遮断による肝血流量の変化と有意に相関することが示された。また, GSAパラメータは慢性肝障害による有効肝細胞数の減少によっても影響されることが示された。

口頭発表において玉木長良教授より今回の GSAパラメータの変化における肝血行遮断による肝細胞自体のダメージの影響の有無, また長期的な血行遮断を行った場合のGSAパラメータの変化について, 安田慶秀教授より従来のレーザードップラー法による肝組織血流測定と比べて有利な点, 肝の特異的な疾患を評価する新しい診断法としての可能性についての質問があったが, 申請者はおおむね妥当な回答をした。また玉木長良, 安田慶秀両教授にはさらに個別に審査をいただき, 合格と判定された。

GSAによる肝血流評価の有用性に関して, 動物実験モデルを用いて, 従来用いられてきたレーザードップラー血流計による測定法との比較を加えて詳細に検討した本研究の意義は大きく, 本論文は博士(医学)の学位授与に値するものと考ええる。