

# シスプラチン誘導性ラット腎障害における タウリンの保護作用に関する検討

恒川 雅洋

医療科学専攻

(指導教員：馬 寧 教授)

## はじめに

シスプラチン (CDDP) は抗腫瘍スペクトルが広く、強い抗腫瘍効果が認められているので、がん化学療法のための薬剤の1つとして使用されている。しかし、腎障害、悪心・嘔吐、骨髄抑制等の副作用がある。特に腎障害はCDDPの用量を制限する要因になっており、腎障害が起きた場合は投与を中止あるいは減量しなければならないのが現状である。CDDPによる腎障害の発症メカニズムの詳細は不明だが、活性酸素による尿細管の障害により引き起こされることが示唆されている。CDDPによる腎障害を予防するための方法は、今のところCDDP投与前後の大量の輸液療法しか存在しない。

タウリンは浸透圧調節、細胞膜の安定化、抗炎症作用、抗酸化作用などを介して、細胞や器官のホメオスタシス維持に寄与しており、様々な疾患の予防にも有効であることが判ってきている。疫学調査から、食事によるタウリン摂取量の多い地域では肥満や高血圧などの生活習慣病が少なく、循環器疾患による死亡率も低いことが示されている。健康を維持するためにタウリンの活用は、今後の大きなテーマの1つであると考えられている。

## 目的

本研究ではCDDP誘導性腎障害ラットを用いてタウリンの局在変化・炎症反応・酸化ストレスの側面からタウ

リンによるCDDP投与時の腎臓保護作用について検討することを目的とする。

## 方法

ラット (Slc:Wistar, オス, 7週齢, n=60) を1グループ各10匹として、以下の通り6グループに分けてCDDP腎障害モデルラットを作成した。(1) Control群 (生理食塩水腹腔内注射 i.p.), (2) Control+Tau群 (5% タウリン飲水 + 生理食塩水 i.p.), (3) CDDP-Low群 (CDDP 15mg/kg, i.p.), (4) CDDP-High群 (CDDP 25mg/kg, i.p.), (5) CDDP-Low+Tau群 (5% タウリン飲水 + CDDP 15mg/kg, i.p.), (6) CDDP-High+Tau群 (5% タウリン飲水 + CDDP 25mg/kg, i.p.)。

タウリンの投与は、CDDP投与4日前から5% タウリン飲用水として投与し、実験終了まで続けた (図1)。CDDP投与3日後に腎臓を摘出し、4%パラホルムアルデヒド + 0.5% グルタルアルデヒド PBS 固定液にて浸漬固定し、パラフィン包埋を行った。その後病理切片を作成し、染

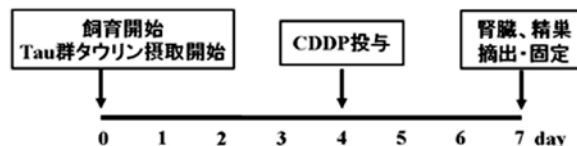


図1 腎不全モデル作成スケジュール

色のために脱パラフィン，親水処理をした。細胞の病理変化を観察のために HE 染色した。酸化ストレスを確認するために 8-OHdG を，炎症反応を確認するために CD68 を，タウリンの局在について調べるためにタウリンとタウリントランスポーター（TauT），p53 を免疫組織化学法にて染色した。細胞の病理変化をオリンパス BX51 顕微鏡にて 200 倍で観察し，撮影した。

## 結 果

### 1. CDDP 誘導性腎障害における病理変化

Control+Tau 群は Control 群とは変化が見られなかった。Control 群と比べると CDDP-Low 群は近位尿細管の上皮細胞に壊死・刷子緑の消失が認められた。CDDP-High 群ではさらに近位尿細管の上皮細胞の脱落が認められた。CDDP-Low+Tau 群と CDDP-High+Tau 群は，それぞれ近位尿細管の近位尿細管の上皮細胞に壊死・刷子緑の消失に軽減が認められた。

### 2. CDDP 誘導性腎障害時のタウリン局在とタウリン輸送システムの局在

全ての群において集合管にタウリンの局在が確認された。Control 群とタウリン投与群においては近位尿細管と遠位尿細管にタウリンが局在していた。CDDP-Low+Tau 群と CDDP-High+Tau 群ではタウリン非投与群とくらべてタウリンの染色性が増加した。

TauT は Control 群では近位尿細管に発現が認められた。CDDP 投与群では発現が减弱していた。CDDP-Low+Tau 群と CDDP-High+Tau 群では，CDDP-Low 群と CDDP-High 群 TauT に比べいずれも TauT の発現が認められた。

### 3. CDDP 誘導性腎障害時の TauT の down regulation 因子 p53 の発現

Control 群では近位尿細管にわずかに p53 の発現が認められた。タウリン非投与群では発現の増強が認められた。タウリン投与群では p53 の発現が減少していた。

### 4. CDDP 誘導性腎障害に対する CD68・8-OHdG 染色の解析

Control 群では CD68 陽性細胞は見られなかった。

CDDP-High 群では尿細管間質に CD68 の陽性細胞が強く認め，多数のマクロファージの浸潤が認められた。CDDP-Low 群は，CDDP-High 群より少ないが尿細管間質に CD68 陽性細胞が認められた。CDDP-Low+Tau 群と CDDP-High+Tau 群ではそれぞれ CDDP-Low 群と CDDP-High 群と比較して CD68 陽性細胞数は減少していた。

Control 群では 8-OHdG の発現は認められなかった。CDDP-Low 群では集合管の上皮細胞の核に 8-OHdG の発現が認められた。CDDP-High 群では近位尿細管，遠位尿細管，集合管の上皮細胞の核の部分に発現の増強が認められた。CDDP-Low+Tau 群と CDDP-High+Tau 群では 8-OHdG の発現がそれぞれ CDDP-Low 群と CDDP-High 群より減弱していた。

## 考 察

CDDP とタウリンを投与されたラットは，CDDP のみ投与されたラットと比べて腎臓における線維化された部位が少なかったということが報告されている。CDDP を投与されたラットではマクロファージは増加を示し，CDDP とタウリンを投与したラットのマクロファージの数は，CDDP のみ投与したラットより少なかった。タウリンがマクロファージ浸潤の増加を抑えることで腎臓間質性線維症を減少させていることが示されているが [1]，タウリンの作用機序については詳しくわかっていない。

本研究では，CDDP 誘導性腎障害は CD68 と 8-OHdG，p53 の染色性の解析より，炎症反応・酸化ストレスの増加により DNA 損傷が起き，p53 が活性化され，ミトコンドリア経路のアポトーシスを誘導することが原因の 1 つであると考えられた。CDDP 誘導性腎障害ラットにタウリンを摂取させると，TauT の down regulation に関与する p53 を減少させ，TauT の発現の減少を防ぐことで近位尿細管のタウリン濃度を維持する。より多くのタウリンが，タウリン・クロラミンとなって尿細管性上皮細胞の炎症因子・酸化ストレスをさらに軽減させることが考えられ，タウリンが CDDP 誘導性腎障害に対して腎保護作用を果たすことが示唆された。

# 急性肺血栓塞栓症の重症度と下肢深部静脈血栓の 中枢端に関する検討

—Computed Tomographic VenographyとUltrasonographyを用いた静脈別血栓検索—

小林 悟士

医療科学専攻

(指導教員：安田 鋭介 教授)

## はじめに

肺血栓塞栓症（以下 PTE）の塞栓子の 9 割以上は下肢の深部静脈血栓症（以下 DVT）であると報告されている。PTE の塞栓子は通常血栓の中枢側への進展過程において血栓の先端部が切離されて生じると考えられている。塞栓子化後の下肢残存血栓の最も中枢側の静脈部位を中枢端という。PTE は発症時期により発症 2 週間以内であれば急性、発症 2 週間以降から 6ヶ月以内であれば亜急性、発症 6ヶ月以降であれば慢性に分類される。急性 PTE では血行動態所見と心臓超音波検査の右心負荷所見を組み合わせた重症度分類が主に使用されている。その理由としては血行動態所見が PTE における早期死亡の因子であること、右心負荷所見の有無により予後や再発率が異なることがあげられる。他方、急性 PTE の治療は右心負荷の治療と新たな塞栓子となり得る残存した下肢 DVT からの再発予防に大別される。このため早急な重症度の分類と残存した DVT の範囲、特に中枢端とその静脈壁への固定性の評価が治療において必要である。PTE 症例と DVT の中枢端との関係については一部の重症 PTE がヒラメ静脈に局限した血栓により発症したとの報告が存在する。しかし、現時点ではまとまった症例数での報告が存在しない。また、下大静脈から足関節にいたる下肢深部静脈全体を対象にした報告も存在しない。

すなわち PTE の重症度と中枢端との関係については不明な点が多い。

## 目的

本研究の目的は PTE+DVT 症例において急性 PTE の重症度と中枢端との関係を明らかにすることである。

## 方法

埼玉県立呼吸器・循環器センターにおいて 2006 年 3 月から 2015 年 5 月の間において急性 PTE あるいは DVT が疑われ、マルチディテクタ CT（以下 MDCT）を用いた CT venography、下肢静脈超音波検査、心臓超音波検査がほぼ同時期に施行された結果、塞栓子化後の PTE + DVT 症例における PTE 重症度と中枢端を評価することができた 153 例 306 肢を対象とした。内訳は男性 73 例 146 肢（n=146）、女性 80 例 160 肢（n=160）であった。DVT 単独症例、PTE や DVT の既往歴のある患者、発症から 2 週間を超える症例、発症日が不明瞭な症例は除外した。CT venography では GE 社製 Discovery CT 750HD 64 列を使用し、胸部から下肢までを撮影範囲とした。造影剤（通常：注入速度；3ml/sec、濃度；370mg/ml、注入量；100ml）注入開始 30 秒後に肺動脈（肺尖～横隔膜下縁）、3分 30 秒後に下肢静脈（下大静脈～足関節）の撮影を行った。一方、下肢静脈超音波検査

ではリニアプローブ7.5MHzを装着した東芝社製 Aplio XV または Xario XG を使用した。Bモード上総大腿静脈から下腿部の各深部静脈を短軸像で連続的に圧迫し、非圧縮部分または血栓エコー像を検索した。血栓の有無の判定部位はCT venographyでは肺動脈、下大静脈、総腸骨静脈、外腸骨静脈とした。一方、下肢静脈超音波検査では総大腿静脈、浅大腿静脈、膝窩静脈、後脛骨静脈、腓骨静脈、ヒラメ静脈とした。判定基準はCT venographyでは造影欠損像を認める場合を血栓の確定部位とした。一方、下肢静脈超音波検査ではBモード上圧迫法による非圧縮部分または血栓エコー像を認める場合を血栓の確定部位とし、放射線診断医による読影結果を採用した。急性PTEの重症度分類はPTEのガイドラインに基づいて行った。心停止あるいは循環虚脱かつ心臓超音波検査上右心負荷がある症例をcardiac arrest、血行動態不安定かつ心臓超音波検査上右心負荷がある症例をmassive、血行動態安定かつ心臓超音波検査上右心負荷がある症例をsubmassive、血行動態安定かつ心臓超音波検査上右心負荷のない症例をnonmassiveと定義した。右心負荷ありとは三尖弁収縮期圧較差40mmHg以上で、右室肥大所見を認める症例と定義した。対象153例をcardiac arrest 3例2.0%、massive 2例1.3%、submassive 43例28.1%、nonmassive 105例68.6%に分類した。次に右心負荷が存在するsubmassive以上群48例と存在しないnonmassive群105例の2群に分類し、塞栓子化後のPTE + DVT症例において急性PTEの重症度と中枢端との関係について後方視的に検討を行った。統計処理は $\chi^2$ 検定にて $p < 0.05$ の場合有意差ありとした。統計ソフトとしてはStat Mate (version IV, アトムス社製)を使用した。

## 結 果

PTE重症度別の中枢端部位の頻度：submassive以上群ではnonmassive群に比べてヒラメ静脈中枢端（ヒラメ静脈に局限した血栓）が有意に多く存在した（29.2% vs 8.1%、 $p < 0.001$ ）。一方、nonmassive群ではsubmassive以上群に比べて下大静脈と総腸骨静脈の中枢端が有意に多く存在した（10.5% vs 0.0%、 $p = 0.020$ 、5.7% vs

0.0%、 $p = 0.017$ ）。

## 考 察

本研究では急性PTEの重症度と中枢端との関係を検討した結果、submassive以上群（中等症～重症）ではヒラメ静脈中枢端、nonmassive群（軽症）では下大静脈と総腸骨静脈の中枢端が有意に多く存在したという結果を得た。すなわち、急性PTEにおいて中枢端の存在部位は重症度により異なることが示唆された。

中枢端がヒラメ静脈に存在する場合には、症例によっては多発塞栓となりやすく重症なPTEに結びつきやすいことが推察される。呂らはヒラメ静脈の血栓は吻合が多く筋肉により圧排されていることから塞栓化しにくく、ヒラメ静脈血栓の大きさからは重症なPTEに結びつきにくいと推測している。しかし症例によっては致死的なPTEを生じる場合も報告されている。また、ヒラメ静脈血栓の約2割が中枢側に進展するとの報告も存在する。更に応儀はヒラメ静脈血栓症では血栓は中枢方向へ進展するため、他の部位のDVTに比べてPTEを合併する確率はむしろ高いことを報告している。これらの報告を踏まえるとsubmassive以上群ではヒラメ静脈に中枢端が多く存在する理由として血栓の大きさ以外の要因が考えられる。その一つとして血栓が反復して塞栓され、重症なPTEを引き起こす可能性が考察される。ヒラメ静脈の還流は下腿筋ポンプにより行われている。このため筋ポンプの圧迫により血栓が頻繁に遊離、駆出されることが考えられる。應儀らは立位での歩行運動により多数の中小塞栓が産生される可能性を推測している。また呂らは市中発症のPTEにより死亡した51例に対して解剖を行い、反復性の経過が推測されたのは82.4%であったと報告している。本研究のヒラメ静脈中枢端の大部分の症例（86.8%）が院内発症ではなく立位の状態をとりやすい市中発症であったことから、反復して駆出された可能性が考えられる。このようにヒラメ静脈で血栓が反復して遊離、駆出される結果重症例に結びつく可能性が考えられる。逆に、中枢端が下大静脈や総腸骨静脈まで存在する場合には多発塞栓となりやすく重症に結びつきにくいことが推察される。この理由として①中枢端が同部位まで存在する場

合には血栓はある程度の長さを有すること、②同部位では主に横隔膜の運動（呼吸ポンプ作用）により静脈還流が維持されていて、歩行運動により周囲から圧排されることはなく体位変換（血流変化）により遊離して塞栓化する部位であり、下腿静脈の塞栓化の機序とは異なることなどから多発塞栓されにくいことが考えられる。事実応儀はこれらの機序により腸骨静脈では多発塞栓となりにくいと推測している。

しかし、歩行運動により多数の中小塞栓が産生される可能性、短時間における多数の塞栓子が形成される過程を画像診断などで直接評価することは困難である。現時点ではヒラメ静脈に中枢端が存在することが重症度に結びつくことを明確に説明することは困難であり、今後の検討が必要と考えられる。

一部の中等症～重症の PTE がヒラメ静脈中枢端に、一部の軽症 PTE が下大静脈と総腸骨静脈の中枢端に関係するとすれば、PTE の重症度と中枢端との関係を明らかにすることの臨床的意義は大きい。この結果を踏まえ急性 PTE の DVT 検索時にこれらの中枢端を念頭において検索する必要がある。また症例を蓄積し DVT 検索時の血栓検出率の向上を目指した検査法の改良にもつなげていくべきと考えられる。

## 結 語

submassive 以上群ではヒラメ静脈中枢端、nonmassive 群では下大静脈と総腸骨静脈の中枢端が有意に多く存在した。すなわち PTE+DVT 症例における中枢端の存在部位は重症度により異なることが示唆された。

# 機能性食材を添加した食品による食後血糖値上昇抑制効果の検討

石神 彩

医療科学専攻

(指導教員：長村 洋一 教授)

## はじめに及び目的

日本において糖尿病患者数は増加しており、厚生労働省が発表した「平成 26 年患者調査結果」によると糖尿病の患者数は 316 万 6,000 人であり、過去最高となった。糖尿病の患者等に対しては糖尿病食事療法による糖質コントロールが必要となるのに対し、現在の食事療法は基本的に摂取量の調整が主眼であり、通常の献立では限界がある。そこで食後血糖値上昇抑制作用を持つ材料を用いた新たな機能性食品を具体的な食事療法に取り入れることがその解決策の一つとして今後重要となるものと考えられる。しかし機能性を有する材料に関して、調理過程を経た実際の食品における食後血糖値上昇抑制効果については不明である場合が多く検討が必要である。本研究では食品における食後血糖値上昇抑制効果が未解明な機能性材料として桑葉、アカモクに焦点を当て、これらを用いた食品を開発し臨床試験において効果を検討することを目的としている。本研究では桑葉を用いた食品としてクッキー、うどん及びパン、アカモクを用いた食品として水ようかん、抹茶水ようかん及びあずきバーに関して食後血糖値の推移について検討したためこれを報告する。

## 方 法

被験者について：本試験は鈴鹿医療科学大学倫理審査委員会の審議・承認を受け、実施された。本試験への参加希望者に対しては「ヘルシンキ宣言」及び「臨床

研究に関する倫理指針」に則り研究内容、方法等について文章及び口頭にて十分な説明を行い、文書による同意を得て実施した。本試験の被験者は 20 代女性、Body Mass Index (BMI) を 30 以下とした。

試験食について：①桑葉クッキー摂取試験：薄力粉 10.0g 及び上白糖 10.0g 等を用いた通常クッキー、通常パンの材料に 1 回食 3.0g の桑葉粉末を添加した桑葉を試験食とした摂取試験を行った。②桑葉うどん摂取試験：中力粉 80.0g、水 40.0g 及び食塩 2.0g を用いた通常うどん、通常うどんの材料に 1 回食 2.5g、5.0g の桑葉粉末（気仙沼桑茶エイトクより提供）を添加した桑葉うどん、通常うどんの材料に 1 回食 2.5g、5.0g の抹茶粉末を添加した抹茶うどんを試験食とした。また別試験として通常うどん、1 回食 5.0g の桑葉粉末を添加した桑葉うどんの摂取試験及び桑葉 5.0g を摂取試験時に供する水 150cc によって事前に服用した後、通常うどんを摂取する試験を行った。

③桑葉パン摂取試験：強力粉 70.0g 及び上白糖 3.0g 等を用いた通常パン、通常パンの材料に 1 回食 2.5g、5.0g の桑葉粉末を添加した桑葉パン、通常パンの材料に 1 回食 2.5g、5.0g の抹茶粉末を添加した抹茶パンを試験食とした摂取試験を行った。また別試験として通常パン、1 回食 5.0g の桑葉粉末を添加した桑葉パンの摂取試験及び桑葉 5.0g を摂取試験時に供する水 150cc によって事前に服用した後、通常パンを摂取する試験を行った。

④アカモク添加水ようかん、抹茶水ようかん、あずきバー摂取試験：通常及びアカモク添加食品は井村屋株式

会社より提供を受け、これらによる摂取試験を実施した。

試験の詳細：採血は試験食もしくは対照食の摂取前、摂取開始から30分、60分、90分、120分の5点で実施し、ニプロフリースタイルセンサーライト（ニプロ社）等を使用し被験者自身によって行った。試験期間の間隔は日本 Glycemic Index 研究会のプロトコルより、「第一試験日から1日以上経過していること」に従い設定し、同一対象者において各試験食の摂取試験と血糖値測定を実施した。

官能評価及び桑葉成分分析：桑葉添加クッキー、パン、うどんに関し、通常食品を基準とした五段階評価の二点識別法により官能評価を実施した。また桑葉が含有するイミノ糖類の1-DNJ, Gal-DNJ, Fagomine について、トヨタマ健康食品株式会社に成分分析を依頼した。

統計解析：血糖値の絶対値、 $\Delta$ 血糖値及びIAUCは平均値 $\pm$ 標準偏差により示した。IAUCはGlycemic Index 研究会のプロトコルに従って算出した。統計手法はPaired t-testを実施した。なお、検定は全て両側検定とし、有意水準を5%とした。統計解析にはIBM SPSS Statistics 22（IBM Japan, 東京都港区）を使用した。

## 結 果

桑葉クッキー摂取試験：摂取後30分の血糖の絶対値及び $\Delta$ 血糖値において、桑葉クッキーは通常クッキーと比較して有意に低い結果を示した（各 $p<0.05$ ）。食後0-120分のIAUCにおいては、桑葉クッキー及び通常クッキー間に有意な差は認められなかった。官能評価より色、味及び総合評価について桑葉クッキーが有意に高い結果を示した（各 $p<0.05$ ）。桑葉粉末中のイミノ糖は焼成後のクッキーで5%~15%程度減少した。

桑葉うどん摂取試験：摂取後30分血糖の絶対値及び $\Delta$ 血糖値について、桑葉5.0gうどんは通常うどんと比較して有意に低い結果を示した（各 $p<0.05$ ）。各試験食摂取後0-120分におけるIAUCに関して、桑葉5.0gうどん及び抹茶5.0gうどんは通常うどんと比較して有意に低い結果を示した（各 $p<0.05$ ）。官能評価より桑葉5.0gうどんは色・匂い・味及び総合評価に関して通常うどんと、総合評価に関して抹茶5.0gうどんと比較して有意に高い結

果を示した（各 $p<0.05$ ）。桑葉粉末中のイミノ糖はうどんの茹で調理により約40%~60%減少した。桑葉5.0gを事前服用し通常うどんを摂取した場合は摂取後30分血糖の絶対値において、通常うどんと桑葉5.0gうどんと比較して有意に低い結果を示した（ $p<0.05$ ）。

桑葉パン摂取試験：桑葉5.0gパンは通常パン、桑葉2.5gパンと比較した場合、摂取後30分血糖の絶対値及び $\Delta$ 血糖値が有意に低い結果を示した（各 $p<0.05$ ）。桑葉5.0gパンは抹茶5.0gパンと比較して摂取後30分の $\Delta$ 血糖値の上昇が有意に抑制された（各 $p<0.05$ ）試験食摂取後0-120分におけるIAUCについて、桑葉5.0gパンは通常パン、桑葉2.5gパン、抹茶2.5gパンと比して有意な差が得られた（各 $p<0.05$ ）。官能評価結果より桑葉5.0gパンは色合い（外側）色合い（内側）・味・香り及び総合評価において、通常パン及び抹茶5.0gパンと比較して有意に高い結果を示した（各 $p<0.05$ ）。桑葉粉末中のイミノ糖は焼成後のパンにおいて約15%~10%減少した。桑葉5.0gを事前服用し通常パンを摂取した場合、摂取後30分血糖の絶対値において通常パンと、摂取後30分 $\Delta$ 血糖値において通常パン及び桑葉5.0gパンと比較して有意に低い結果を示した（各 $p<0.05$ ）。

アカモク水ようかん、抹茶水ようかん、あずきバー摂取試験：アカモク添加品は通常品と比較した場合、摂取後30分 $\Delta$ 血糖値、0-120分におけるIAUCが有意に低い結果を示した（各 $p<0.05$ ）。

## 考察及び結論

今回の摂取試験により通常食品と比較した桑葉添加食品の食後血糖値上昇抑制効果が示された。桑葉の摂取方法についてはパンやうどんに添加するよりもあらかじめ服用する方が桑葉の食後血糖値上昇抑制効果を得やすいことも示されたが、桑葉を添加した食品は官能評価において評価が高く食品としての嗜好性は高いと予測できる。しかしながら桑葉成分分析結果より茹で調理を行ううどんよりもパンやクッキーにおいて成分が残存していた点から、桑葉は加熱工程や発酵工程を経る食品において広く活用できるのではないかと考えられる。本研究において桑葉添加食品との比較用に抹茶添加食品を用いたが、

桑葉 5.0g パンと抹茶 5.0g パンと比較して摂取後 30 分の  $\Delta$  血糖値が有意に低い結果を示したことから食品形態において桑葉は抹茶よりも高い食後血糖値上昇抑制効果を

示す可能性がある。アカモク添加食品に関しても通常品と比較した食後血糖値上昇抑制効果が示され、広く菓子類に応用できる可能性が示された。



# トリプルルールアウト (TRO) 検査における至適造影方法の考案

石田 和史

医療科学専攻

(指導教員：奥田 逸子 客員教授)

## はじめに

近年日本では救急外来受診者は増加傾向にあり、高齢化から高齢者の割合も多くなっている。

救急現場では受け入れ体勢の充実化、効率化が求められ、多くの患者を受け入れているが、高齢により問診や所見が取れない症例の増加や業務の繁忙などリスクが高くなっている。

その中で救急の胸痛の診断において Triple rule out (TRO) 撮影の有用性は多くの文献で示されており、救急外来にて胸痛を訴えている患者にリスクマネージメントの観点から TRO を撮影する症例が増えている。

しかし、従来の 2 段階注入を用いた方法では心機能により大動脈・肺動脈の濃染タイミングに撮影タイミングが合わず撮影時相では CT 値が低下し評価が困難になってしまう症例や大動脈瘤による灌流の遅れを予測できても撮影条件の設定が困難で撮影時設定に戸惑うような症例も多く、救急の現場で幅広い患者に TRO 検査を実施するためには、より幅広い患者に対応できる撮影プロトコルの開発が必要であった。そこで、我々は 2 峰性の注入方法で、その間に間歇時間を設ける造影方法を考案した。

## 目的

TRO における新しい造影方法 (以下新法) を考案し、造影能として、撮影タイミングを適切にとらえ各部位で高い造影効果を有しているかと、アーチファクトの原因となる静脈系の造影効果を適切に低下させる事ができている

かを CT 値の測定から検討する。また、新法の被ばく線量と使用造影剤量について検討し、その有用性を考察する。

## 方法

臨床にて TRO が必要と判断された連続 80 例を従来の方法 (以下、従来法) で撮影を行った群と新法で撮影を行った群に無作為に分け、Prospective 試験を行い、以下の測定項目を評価した。また、対象患者群の背景、造影剤使用量、被ばく線量について調査した。

- (1) 心臓 CTA (CT angiography) 撮影時相での CT 値測定：大動脈 (バルサルバ)・左右冠動脈・上大静脈 (SVC: superior vena cava)・右心系
- (2) 大動脈 CTA 撮影時相での CT 値測定：肺動脈・大動脈 (バルサルバ・腹腔動脈分岐部・総腸骨動脈分岐部直上・下肢動脈 (恥骨レベル))・SVC・右心系
- (3) Delay Phase (平衡相) 撮影時相での CT 値測定：大動脈 (横隔膜)・肝臓実質・大腿静脈 (恥骨)

## 結果

- (1) 心臓 CTA 撮影時相での CT 値測定の結果は新法と従来法で大動脈  $400.1 \pm 55.9$  vs  $432.8 \pm 96.1$ , 右冠動脈  $360.4 \pm 54.4$  vs  $372.6 \pm 92.5$ , 左冠動脈  $253.4 \pm 71.7$  vs  $294.4 \pm 72.8$ , SVC  $120.1 \pm 47.6$  vs  $524.9 \pm 156.9$ , 右心系  $104.4 \pm 30.2$  vs  $282.3 \pm 75$ , であった。
- (2) 大動脈 CTA 撮影時相での CT 値測定の結果は新法

と従来法で肺動脈は  $467.5 \pm 84.9$  vs  $328.4 \pm 90.7$ , 大動脈はバルサルバ  $395.8 \pm 106.4$  vs  $346.7 \pm 81.2$ , 腹腔動脈分岐部  $392.6 \pm 96.4$  vs  $357.6 \pm 82.3$ , 総腸骨動脈分岐部直上  $382.2 \pm 120.9$  vs  $400.6 \pm 90.6$ , 下肢動脈  $349.3 \pm 124$  vs  $409.2 \pm 100.6$ , SVC  $152.9 \pm 40.0$  vs  $516.5 \pm 300.2$ , 右心系  $138.8 \pm 21.2$  vs  $300.2 \pm 100.6$  であった。

- (3) Delay Phase (平衡相) 撮影時相での CT 値測定は新法と従来法で大動脈  $123.2 \pm 13.5$  vs  $140.6 \pm 19.1$  Hounsfield Unit (HU), 肝実質  $89.3 \pm 7.9$  vs  $107.8 \pm 48.9$ , 大腿静脈  $97.1 \pm 13.6$  vs  $126.9 \pm 16.7$ , であった。

## 考 察

- (1) 新法は従来法と比較して、検査間の CT 値のばらつきを少なくする事ができた。これは新法が体重別に造影剤量を設定している為である。適切に造影剤量を選択する事により安定した検査を行う事が出来ると考えられ、体重が軽い場合には造影剤量の低減も可能である。また適切に生理食塩水で後押ししているため右心系・SVC の造影剤が抜け、各々で CT 値の低下が見られた。高濃度造影剤のアーチファクト (ストリーク等) の軽減により画質の向上が可能と考えられた。
- (2) 肺動脈において従来法に対し新法は高い CT 値を得る事ができた。従来法ではタイミングにズレがある場合や、撮影するタイミングでは注入レートが低くなっている場合があり、CT 値の低下をきたしていたと考えられ、新法では肺動脈相を適切に捕らえることにより肺塞栓の評価を正確に行うことができると考えられる。
- また、大動脈時相において新法は心臓撮影時相とは

異なり、大動脈の灌流時間に対し注入時間が短い事からばらつきは大きくなってしまったが、上行大動脈において高い造影効果を得る事が出来た。従来法では心臓の撮影 Beat 数が多くなると上行大動脈において濃染ピークを逃し大動脈の濃染が抜けてしまう事があったが、新法では臨床上重要となる上行大動脈の病変をより確実に高い CT 値でとらえる事が可能であると言え、臨床上有用であるといえる。

- (3) 新法は平衡相において従来法と比較して CT 値に若干の低下を認めた。これは従来法では常に造影剤を全量使用していたのに対し、新法は体重規定により造影剤使用量が 20% ほど低減されている為である。Suzuki らは下肢静脈の評価において約 100HU 以上となるのが理想」と報告している。今回の結果は  $98.3 \pm 28.3$  と若干 100HU を下回ってしまったが、Eun-Suk Cho らは下肢静脈撮影における低い管電圧を用いた撮影 (以下、低 kv) でのコントラスト向上を報告しており、新法においても低 kv 撮影など適切な工夫により下肢静脈撮影への対応が可能になると考えられた。

## 結 論

TRO における新しい造影方法を考案した。新法は従来法と比較し、被ばく線量と造影剤量を減少させ、造影能を維持したまま肺動脈や上行大動脈の造影能は改善した。また SVC や右心系に対し生理食塩水の後押し効果も得られる事からのアーチファクトの少ない良好な画像を得る事が期待できる。新法は従来法に対し適切なタイミングで撮影する事に優れ、良好な画像を得る事ができる有効な手法である。

# Exposure Index を利用した X 線撮影条件の適正化に関する研究

## — 股関節撮影について —

竹安 直行

医療科学専攻

(指導教員：柴田 幸一 教授)

### はじめに

放射線画像は、近年大半の画像がデジタル画像へ移行したと言っても過言ではない。

一般撮影領域に目を向けると、デジタルラジオグラフィ（以下、DR）装置が普及したことにより、撮影後瞬時に画像確認が行えること、画像保管の簡便さやランニングコストの低減などのメリットがある。

しかし、広いダイナミックレンジを有しているため、過剰な線量であれば画質に影響がないが、過少線量で撮影を行うと粒状性の低下により再撮影が必要となるため、過剰線量で撮影する傾向があるとされている。国際放射線防護委員会（ICRP）の pub.93 には、“デジタル技術には、患者線量を減らす可能性があると共に、かなりの線量を増す可能性もあるとしている。”と、報告している。

一般撮影で撮影する診療放射線技師は、被写体厚・撮影ジオメトリー（グリッドの有無や撮影距離など）を考慮して撮影条件を決めている。被ばく低減が言われている現在、診療放射線技師の経験や見た目の被写体厚、または心因的な理由により過剰線量で撮影するリスクを低減させる必要がある。撮影部位をいつも適正な線量で撮影できれば、患者の撮影被ばくの適正化が行えると考えられる。

### 目 的

Exposure Index（以下、EI）値を用いて、股関節撮影において被写体厚から、適正な撮影条件を計算式で導く

ことを検討する。

### 方 法

#### 1. 視覚評価試験による適正な股関節画像の検討

視覚評価による正規化順位法（奈良県立医科大学順位法プログラム）を用いて、FPD デテクタに入射する適正な EI 値（以下、EIt）を決定する。また、EIt 値から撮影許容範囲（以下、DI: Deviation Index）を、AAPM（AMERICAN ASSOCIATION of PHYSICISTS IN MEDICINE）REPORT NO.116 の指針から DI を設定する。

#### 2. 股関節厚から撮影条件を導く計算式の検討

撮影条件は、管電圧 70kV、線源-ディテクタ間距離（以下、SID）120cm を固定条件とする。

アクリルファントムを用いて、線減弱係数とグリッド露出倍数の検討を行い、被写体厚から SID120cm における被写体無しの EI 値（以下、I (EI)）を求める。求めた I (EI) を、撮影条件の mAs（管電流×撮影時間）に変換する。

撮影対象は、画像構成時のヒストグラムにおいて、金属の面積により EI 値が変動するため、体内金属の無い患者を対象とした。

#### 3. 日常撮影と計算式を使った撮影の比較・検討

日常撮影している撮影条件のグループ（以下、日常撮影群）と、計算式で得られた撮影条件のグループ（以下、計算撮影群）の二群に分け、統計学的な評価を行う。

## 結 果

1. 視覚評価による正規化順位法から、EIt は 1150 となった。DI は 1025 から 1290 となり、この範囲の EI 値で撮影できれば、適正な線量で撮影したことになる。
2. 被写体厚から撮影条件の mAs を導く式は、以下のようになった。

$$\text{撮影 mAs} = 5.55 \times 10^{-5} \times \left(\frac{r_1}{r_2}\right)^2 \times 1150 (EIt) \times B \times e^{\mu(x)}$$

$$\mu(x) = 0.2047 \times (x+1) + 0.4469$$

：アクリル厚を加味した線減弱係数

$$B = 0.2727 \times (x+1) + 3.2148$$

：アクリル厚を加味した露出倍数

x：股関節厚 (cm)                      EIt：1150 (適正な EI 値)

r<sub>1</sub>：焦点－被写体表面間距離 (cm)

r<sub>2</sub>：焦点－ディテクタ間距離 (cm)

この計算から得られる mAs は不連続なので、撮影装置で設定可能な mAs になるよう近似関数を用いて、撮影条件を mAs 値から導いた。

3. 日常撮影群と計算撮影群の比較は、

日常撮影群と計算撮影群での EI 値の比較表

|       | 平均     | 標準偏差  | 最大   | 最少  |
|-------|--------|-------|------|-----|
| 日常撮影群 | 1413.6 | 287.6 | 2009 | 788 |
| 計算撮影群 | 1170.9 | 140.9 | 1527 | 843 |

統計学的に、二群間の評価は Welch の t 検定を使い、P 値 0.0002 (< 有意水準 0.05) となり、有意な差があることがわかった。

## 考 察

EIt は、撮影系の減弱物質を透過して得られた線量指標の値である。そのため、EIt に相当する線量がディテクタに入射すれば、診断可能な画像が構成される。当院における EIt は 1150 となった。今後、施設固有な値ではなく、標準的な値になれば、他施設間で同じように扱うことが出来ると考える。

計算式は、アクリルを使い、被写体厚を加味した線減弱係数及び露出倍数を算出することにより、実際の撮影系に近いデータが得られることになった。また、放射線量ではなく、EI 値を使用することにより誤差が少ない値で計算することができた。

日常撮影群と計算撮影群の比較では、統計学的に有意な差があり、二群は独立していることがわかった。その結果、ばらつきが少ないことや EIt に平均が近いことにより、計算撮影群が優れていることがわかった。

## 結 論

Exposure Index 値と被写体厚を用いて、計算式から撮影条件の適正化を行うことができた。

そして、撮影者による撮影条件のばらつきが少なくなり、適正な線量で撮影できることを示した。

# Computed Radiography 乳房用 X 線診断装置の

## 乳房組織割合別の平均乳腺線量の推定

— 乳房等価ファントム評価 —

中村 哲子

医療科学専攻

(指導教員：奥田 逸子 客員教授)

### はじめに

Computed radiography (以下, CR) 乳房用 X 線診断装置における乳房撮影の被ばく線量は, 平均乳腺線量で表わされ, 実測された皮膚表面の照射線量をもとに計算で得られる。CR 乳房用 X 線診断装置で平均乳腺線量を実測することができないのは, 平均乳腺線量が圧迫後の乳房厚や線質, 乳房を構成する組織割合などに依存するためである。

診断領域の医療放射線防護における最適化の指標として, 診断参考レベル 2.4mGy が設定されている。撮影時の乳房組織割合および乳房厚など, 個人に応じた平均乳腺線量を明らかにし, 2.4mGy を超える撮影条件を知ることが, 被ばく低減の一助になると期待される。

### 目的

CR 乳房用 X 線診断装置における組織割合の異なる乳房の平均乳腺線量を推定するために, 乳房模擬ファントムを用いて乳房組織割合別の乳房厚と撮影条件による平均乳腺線量の換算表を作表した。そして, この換算表を用い組織割合および厚さの異なる乳房において, 異なる撮影条件で診断参考レベル 2.4mGy を超えるのかを検討し, 許容撮影条件を求めることを目的とした。

### 方法

組織割合の異なる 4 種類の乳房ファントムを用い, 9 種類の厚さの乳房モデルを作成し, 管電圧を固定し, 管電流時間積値を実測した。これをもとにファントムにおける入射皮膚面空気カーマ照射線量を測定し, Dance の係数を用いて平均乳腺線量の算出を行った。この際, Dance の係数の内挿補間を行い, 得られたデータをもとに, 平均乳腺線量の換算表を作表した。この換算表から, 診断参考レベル 2.4mGy を超える乳房の組織的条件, 厚さおよび撮影条件を抽出し, 許容撮影条件を求めた。

### 結果

上記の方法により, ターゲット/フィルタ別, 4 種類の乳房組織割合別に, ファントム厚と管電圧から求められる平均乳腺線量の換算表を作成した。

この換算表から, 低電圧であるほど, またファントム厚と乳房組織割合が高いほど, 平均乳腺線量は増加し, 管電圧依存性が高いことが示された。いずれの乳房組織割合においても, ファントム厚 40mm 以下であれば, 診断参考レベル 2.4mGy を上回ることはなかった。しかし, ファントム厚 45~55mm では, 管電圧やターゲット/フィルタの選択によっては, 2.4mGy を超えることがあり, 乳房組織割合が 70% 以上の 60mm ファントム厚では, ほとんどの撮影条件で 2.4mGy を超えた。

## 考 察

本研究で作成した、ターゲット/フィルタ別、乳房組織割合別の平均乳腺線量の換算表は、これまでCR乳房用X線診断装置では困難であった乳房組織割合および撮影時の乳房厚に応じた平均乳腺線量を撮影終了と同時に知ることができ、被ばく管理をするうえできわめて有用であると考えられる。さらに、撮影前にも、乳房厚から診断参考レベルを超えない撮影条件を選択することが可能となる。

平均乳腺線量は低電圧であるほど、またファントム厚や乳房組織割合が高いほど増加し、いずれも管電圧依存が高くなったが、ファントムを通過したX線強度は、管電圧が高ければ大きく、低ければ小さくなるため、平均乳腺線量はそれとは逆の管電圧が高ければ減少し、低ければ増加すると考えられる。この結果は、過去に報告された乳房撮影における直接撮影用自動露出機構の特性を反映している。

一方、乳房撮影の診断参考レベルは2.4mGyと設定されている。本研究の結果より、標準的な乳房組織割合の

人では通常の撮像条件であれば2.4mGyを超えることはないことが示された。しかし、乳房組織割合70%以上かつ乳房厚60mm以上の場合は、2.4mGyを超える要因になると考えられた。したがって、乳房組織割合70%、乳房厚60mmでは、撮影条件を管電圧32kV、ターゲット/フィルタをMo/Rhに設定するなど、被ばく低減のための許容撮影条件を設定することができ、臨床上その有用性が示唆された。

## 結 語

乳房組織割合別の乳房と平均乳腺線量の関係を明らかにすることにより、CR乳房用X線診断装置では困難であった、乳房組織割合および撮影時の乳房厚に応じた平均乳腺線量を推定し得た。乳房組織割合で乳腺密度が高く、また乳房厚の高い乳房を撮影する場合、乳房撮影の防護の最適化のために設定された、診断参考レベル2.4mGyを超える被ばくがあった。そこで、平均乳腺線量換算表から被ばく低減のために検討した許容撮影条件を撮影時選択することで、被ばく低減に寄与しうることが示唆された。

# 1 $\alpha$ , 25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> と Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 の 単球分化誘導に及ぼす L-アスコルビン酸の影響

辻井 真理

医療科学専攻

(指導教員：熊取 厚志 教授)

## 背 景

免疫細胞である単球/マクロファージは、好中球、好酸球と共に貪食細胞として主に自然免疫で働いており、侵入してきた異物を認識し、貪食・殺菌・分解の一連の過程によりそれらを排除する。この殺菌過程に必須なスーパーオキシドは、NADPH オキシダーゼにより酸素分子から形成される。NADPH オキシダーゼは、膜成分である CYBB と CYBA に、細胞質成分である p47phox, p67phox, p40phox, rac が結合することで活性化される。骨髄中の造血幹細胞から分化した単球/好中球前駆細胞は、単球にも好中球にもなりうる細胞であり、この段階で遺伝子異常が起こると急性白血病細胞が生じうる。急性白血病細胞の中には、1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (以下 VD<sub>3</sub>) により単球へ分化し、Retinoic acid により好中球へ分化するものがあることから、これらは急性白血病の治療薬として用いられている。この白血病細胞の一つに HL60 細胞があり、単球の分化実験によく用いられる。単球分化マーカーとしては、単球特異的な CD14, 食細胞共通な CD11b が主に用いられている。また、NADPH オキシダーゼ成分の発現やその活性も利用されている。

Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 (以下 TGF- $\beta$ ) は、生体内で種々の細胞から分泌され、細胞の分化や増殖制御、炎症、血管新生の誘導などさまざまな生物学的機能を有している。このような分化誘導・促進効果は、亜鉛や銅など食品中の成分にもあることが報告されている。その

一つに L-アスコルビン酸 (AA) がある。AA は、コラーゲン合成に必須であるだけでなく、細胞分化などにも重要であることが知られている。AA の類似体には、酸化型であるデヒドロアスコルビン酸 (DHA) や安定型・持続型として開発された L-アスコルビン酸 2リン酸 (2P) などがある。ヒト血清中には、約 30~90  $\mu$ M の AA と約 2 $\mu$ M の DHA が存在していると言われている。血清中の AA はトランスポーターによって白血球内に取り込まれ濃縮されることが知られており、単球では細胞内濃度が 3.2mM に達している。また単球前駆細胞である HL60 細胞において、細胞内 AA 濃度は、100 $\mu$ M AA 1時間処理によって 20 から 200 $\mu$ M に上昇することが示されている。AA の細胞内への取り込み機構としては、ナトリウム依存性ビタミン C トランスポーター (SVCT) の存在が知られている。一方 DHA は、グルコース促進拡散型トランスポーター (GLUT) により細胞内に取り込まれた後、AA へと還元される。

HL60 細胞において、VD<sub>3</sub> 単独刺激により CD14 及び CD11b 抗原の発現が誘導され、生理的濃度よりも高い 200 $\mu$ M AA によって CD14 抗原の発現のみ増大することが知られている。また TGF- $\beta$  も VD<sub>3</sub> によるこれら両抗原の発現誘導を増大し、さらに NADPH オキシダーゼ活性も増大することが示されている。しかし VD<sub>3</sub>+TGF- $\beta$  による単球分化誘導に及ぼす AA の影響は明らかとなっていない。

## 目 的

本研究では、VD<sub>3</sub> 単独刺激による単球分化誘導に及ぼす AA の影響を生理的濃度で検証すると共に、VD<sub>3</sub>+TGF- $\beta$  による単球分化誘導に及ぼす AA の影響を明らかにする。

## 方 法

〈細胞培養と分化法〉 HL60 細胞は、10%ウシ胎児血清加 RPMI1640 を用い 37°C・5% CO<sub>2</sub> 存在下で培養した。HL60 細胞 (10<sup>5</sup> 個/ml) は、単球分化誘導剤である VD<sub>3</sub> (10<sup>-7</sup>M) 単独もしくは単球分化促進剤である TGF- $\beta$  (1ng/ml) と共刺激 (VD<sub>3</sub>+TGF- $\beta$ ) し、3 日間培養することにより単球へ分化させた。AA, 2P, DHA は、分化誘導開始 30 分前に処理した。

〈測定法〉単球への分化度は、CD14, CD11b, NADPH オキシダーゼの主要構成成分 (CYBB, p47phox, p67phox) の発現及び酵素活性により評価した。これらの発現は、タンパク質レベルではフローサイトメトリー法、遺伝子レベルではリアルタイム RT-PCR 法で解析した。また NADPH オキシダーゼ活性は、化学発光測定法を用いて活性酸素産生量を測定することにより評価した。

## 結 果

〈VD<sub>3</sub> による単球分化に及ぼす影響〉 CD14 に関して：VD<sub>3</sub> により CD14 抗原の発現が 1 日目から誘導され、その誘導は AA または 2P により増大した。一方 DHA は、この誘導に対して影響を及ぼさなかった。CD11b に関して：VD<sub>3</sub> により CD11b 抗原の発現が 1 日目から誘導され、その誘導は AA, 2P, DHA いずれによっても影響を及ぼされなかった。NADPH オキシダーゼに関して：VD<sub>3</sub> 刺激では 3 日目に CYBB 抗原の発現が認められたが、統計学的に有意ではなかった。そして AA, 2P, DHA はその発現レベルに影響を及ぼさなかった。VD<sub>3</sub> により 1 日目からその活性が誘導された。AA は、この誘導に影響を及ぼさなかった。

〈VD<sub>3</sub>+TGF- $\beta$  の単球分化に及ぼす影響〉 CD14 に関して：VD<sub>3</sub>+TGF- $\beta$  では、1 日目から VD<sub>3</sub> 単独刺激よりも

CD14 抗原の発現が顕著に誘導され、その誘導は AA により促進された。mRNA レベルにおいても同様の結果であった。CD11b に関して：VD<sub>3</sub>+TGF- $\beta$  では、1 日目から VD<sub>3</sub> 単独刺激よりも CD11b 抗原の発現が顕著に誘導され、その誘導は AA により影響を及ぼされなかった。NADPH オキシダーゼに関して：VD<sub>3</sub>+TGF- $\beta$  では、2 日目から VD<sub>3</sub> 単独刺激よりも CYBB 抗原の発現が顕著に誘導され、その誘導は AA により影響を及ぼされなかった。mRNA レベルにおいては、2 日目、3 日目共に VD<sub>3</sub>+TGF- $\beta$  で VD<sub>3</sub> 単独刺激よりも高い CYBB mRNA の発現が認められ、この発現は AA により影響を及ぼされなかった。p47phox 及び p67phox mRNA は、共に VD<sub>3</sub>+TGF- $\beta$  により VD<sub>3</sub> 単独刺激よりも誘導され、いずれにおいてもこの誘導は AA により影響を及ぼされなかった。VD<sub>3</sub>+TGF- $\beta$  において、NADPH オキシダーゼ活性が VD<sub>3</sub> 単独刺激よりも 1 日目から顕著に誘導された。この誘導に対して AA は有意な効果は示さなかった。

## 考 察

先行研究では AA のみが活性化ビタミン D<sub>3</sub> による CD14 の発現を増大したが、本研究では生理的濃度において AA のみならず 2P も増大した。この作用機序として、先行研究でも報告されている AA から生じる AFR を介したメカニズムであることが考えられる。また 2P についても細胞や培地に含まれるフォスファターゼにより脱リン酸化され AA となることが知られていることから、同様のメカニズムで作用していることが考えられる。一方、2P と同様の安定持続型アスコルビン酸 2 グリコシドが AA と共通の受容体 IGF-I を刺激し、分化を促進することが報告されたことから、本研究においても AA, 2P 共にこの機構により作用していることが考えられる。また近年、遺伝子発現を促進する DNA の脱メチル化反応を行う酵素 (Tet1) の活性に AA が必要であることが示されたことから、CD14 の転写調節機構もこの機構が関与する可能性も考えられる。また本研究において AA は、VD<sub>3</sub>+TGF- $\beta$  による CD14 の発現誘導を促進したが、解析を行ったその他の分化形質の誘導には影響を及ぼさなかった。このことから AA は、CD14 特有の発現機構に作用しているこ



とが示唆される。さらに  $\text{VD}_3$ +TGF- $\beta$  による CD14 抗原の発現は、TGF- $\beta$ 1ng/ml で飽和状態となったが、AA を添

加するとさらに増大したことから、TGF- $\beta$  と AA は異なる経路で作用していることが考えられる。

## 2 型糖尿病モデル動物 TSOD (Tsumura, Suzuki, Obese Diabetes) マウスの骨強度の特徴

田中 宏明

医療科学専攻

(指導教員：三浦 俊宏 教授)

### はじめに

糖尿病患者では、病型に関わらず骨折リスクが高い。1 型糖尿病では、骨密度および骨質の低下により、骨折リスクは 6 倍以上となり、2 型糖尿病では骨密度の低下を必ずしも認めないが、骨質の低下によって骨折リスクが 1.4 倍から 2 倍になると報告されている。一方、2 型糖尿病モデル動物の骨脆弱性に関する既報において、一定した見解は得られておらず、骨脆弱性に関する報告のないモデル動物も存在する。2 型糖尿病は、運動や食事で予防もしくは改善することができる疾病であり、適切な運動や食事によって骨強度を改善させることが期待できるが、ヒトに対してその効果を検証することは、倫理的制約があり困難を伴うことから、実験動物を用いて検討する必要性がある。

### 目的

TSOD マウスの骨密度、骨質および骨強度の特徴について調査し、2 型糖尿病モデル動物の骨脆弱性に関する見解の一助とすることを目的とする。

### 方法

実験動物として、8 週齢の雄性 TSOD マウスと対照動物の雄性 TSNO (Tsumura, Suzuki, Non Obesity) マウスを 6 匹ずつ購入した。12 時間の明暗サイクル、室温 22 ± 2°C に保たれた環境下で、群毎にケージに入れて、飼

育繁殖固型飼料と水を不断給餌とした。測定期間は 18 週齢から 20 週齢とした。糖代謝は、体重値、随時血糖値、血漿インスリン値 (ELISA 法) を測定し、経口糖負荷試験 (OGTT) を実施した。骨強度は、摘出した右大腿骨を用いて 3 点曲げ試験を実施し、最大荷重、最大応力、破断荷重、破断応力、剛性および破断エネルギーの測定値を、各マウスの体重値で補正して算出した。骨密度および骨塩量は、Dual energy X-ray absorptiometry (DXA) 法にて右大腿骨近位部と骨幹部で測定した。骨代謝は、骨形成マーカーの血漿オステオカルシン値 (EIA 法) と骨吸収マーカーの血漿酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (TRAcP5b) 値 (ELISA 法) を測定した。非酵素的コラーゲン架橋は、血漿ペントシジン値 (ELISA 法) を測定した。また、組織学的検索のため、左大腿骨の骨組織標本を作製し、光学顕微鏡を用いて観察した。すべてのデータは平均値 ± 標準誤差で表した。経口糖負荷試験は 2 元配置分散分析を用い、多重比較は Bonferroni 法で検討した。それ以外は、対応のない t 検定を用いて比較した。有意水準は 5% 未満とした。

### 結果

体重値 (TSOD : 59.5 ± 0.8 g, TSNO : 35.1 ± 0.4 g) は、TSOD マウスで有意に高値であった。随時血糖値 (TSOD : 343.8 ± 30.1 mg/dl, TSNO : 176.9 ± 2.4 mg/dl) は、TSOD マウスで有意に高値であった。血漿インスリン値 (TSOD : 23.8 ± 6.2 ng/ml, TSNO : 4.0 ± 0.4 ng/ml)

は、TSOD マウスで有意に高値であった。OGTT は、空腹時血糖値 (TSOD:90.1 ± 5.5 mg/dl, TSNO:112.5 ± 5.2 mg/dl) と糖負荷 30 分後血糖値 (TSOD:414.2 ± 35.6 mg/dl, TSNO:428.9 ± 27.0mg/dl) では有意差を認めなかったが、糖負荷 60 分後血糖値 (TSOD:465.4 ± 25.4mg/dl, TSNO:386.7 ± 29.7mg/dl) と、糖負荷 120 分後血糖値 (TSOD:371.7 ± 28.0mg/dl, TSNO:242.0 ± 24.4mg/dl) では、TSOD マウスで有意に高値であった。3 点曲げ試験の結果、最大荷重 (TSOD:0.343 ± 0.017 N/g, TSNO:0.471 ± 0.033N/g), 最大応力 (TSOD:4.349 ± 0.383MPa/g, TSNO:7.363 ± 0.675MPa/g), 破断荷重 (TSOD:0.270 ± 0.043N/g, TSNO:0.432 ± 0.042N/g), 破断応力 (TSOD:3.433 ± 0.636MPa/g, TSNO:6.777 ± 0.810MPa/g)は、TSOD マウスで有意に低値であった。剛性 (TSOD: 0.640 ± 0.027N/mm/g, TSNO:1.047 ± 0.198 N/mm/g) と破断エネルギー (TSOD:0.196 ± 0.016N・mm/g, TSNO:0.232 ± 0.013N・mm/g) は、有意差を認めなかったが、TSOD マウスで低値であった。大腿骨近位部骨密度 (TSOD:35.6 ± 2.0mg/cm<sup>2</sup>, TSNO:51.6 ± 3.3mg/cm<sup>2</sup>) と、大腿骨骨幹部骨密度 (TSOD:30.1 ± 2.4 mg/cm<sup>2</sup>, TSNO : 43.7 ± 1.4 mg/cm<sup>2</sup>) は、TSOD マウスで有意に低値であった。大腿骨近位部骨塩量 (TSOD:4.1 ± 0.3mg, TSNO:8.0 ± 0.9mg) と、大腿骨骨幹部骨塩量 (TSOD:2.7 ± 0.4mg, TSNO:5.7 ± 0.7mg) は、TSOD マウスで有意に低値であった。血漿オステオカルシン値 (TSOD:70.4 ± 9.3ng/ml, TSNO:52.2 ± 6.4ng/ml) は、有意差を認めなかったが、TSOD マウスで高値であった。血漿 TRAcP5b 値 (TSOD:2.62 ± 0.17U/L, TSNO:0.88 ± 0.02U/L) は、TSOD マウスで有意に高値であった。血漿ペントシジン値 (TSOD:111.6 ± 3.8pg/ml, TSNO:163.3 ± 5.0pg/ml) は、TSOD マウスで有意に低値であった。光学顕微鏡による大腿骨組織標本の観察では、TSOD マウスの大腿骨近位部の海綿骨において、石灰化の不十分な骨組織の増殖の所見を認めた。また、TSOD マウスの大腿骨近位部および骨幹部の皮質骨において、石灰化層板の菲薄化と石灰化の不十分な骨組織の増殖を認め、さらに皮質骨の多孔化と思われる所見を認めた。

## 考 察

TSOD マウスで認められた骨強度の低下は、高血糖、高インスリン血症および耐糖能異常による破骨細胞活性の亢進が要因ではないかと考えられる。持続的な高血糖状態では、尿糖の排泄量増加によってカルシウム (Ca) 利尿が亢進し、血漿 Ca 濃度が低下する。TSOD マウスは TSNO マウスに比して、8 週齢頃から多飲多尿で、尿中 Ca 値が増加するが、血漿カルシウム値は顕著な差を認めなかったことが報告されている。本実験で用いた TSOD マウスでも、多飲多尿によって血漿 Ca 値が低下したが、血漿 TRAcP5b 値が高値であったことから、破骨細胞活性の亢進によって血漿 Ca 値の恒常性が維持されたのではないかと考えられる。また、高インスリン血症の TSOD マウスにおいて骨密度が低下した要因として、骨芽細胞のインスリン受容体にインスリンが結合することで、破骨細胞活性を阻害するオステオプロテジェリン (OPG) の分泌が低下することが可能性として考えられるが、インスリンが骨密度を増加させたという既報も少なくないことから、インスリンが骨密度に及ぼす影響について、さらなる検証が必要と考える。骨代謝マーカーの測定結果から、TSOD マウスは骨吸収が優位な高骨代謝回転であった。骨代謝亢進の程度が高まると、石灰化過程が完成する前に骨吸収過程が生じることになり、石灰化度の不十分な骨となることから、TSOD マウスで認められた大腿骨の石灰化の不十分な骨組織の増殖は、骨吸収が優位な高骨代謝回転の所見と考えられる。また、血糖値の変動幅が大きいほど酸化ストレスが増大することから、5 週齢以降で酸化ストレス増大と耐糖能異常を認める TSOD マウスでは、酸化ストレスによって骨芽細胞の分化が抑制され、破骨細胞の分化が亢進した可能性が考えられる。以上より、TSOD マウスの骨代謝回転が骨吸収優位となったのは、耐糖能異常も関与している可能性が考えられる。TSOD マウスの血漿ペントシジン値が有意に低値となったのは、破骨細胞活性の亢進によってタンパク分解酵素のカテプシン K の分泌が亢進し、酵素的コラーゲン架橋および非酵素的コラーゲン架橋の分解が亢進した可能性が考えられる。その理由として、低骨代謝回転の

糖尿病モデル動物では、ペントシジン値が高値であったとの既報が散見されることから、骨吸収が優位な高骨代謝回転は、非酵素的コラーゲン架橋を減少させる要因になりうると考えられる。さらに、終末糖化産物 (AGEs) は、骨芽細胞の分化を抑制し、破骨細胞の活性を低下させるが、TSOD マウスの骨代謝マーカの結果から、両細胞の分化や活性は亢進しており、AGEs であるペントシジンによる骨代謝への影響は乏しかったと考えられる。

## 結 語

TSOD マウスの骨強度低下の要因は、高血糖、高インスリン血症および耐糖能異常が破骨細胞活性を亢進させたことで生じた骨密度および骨塩量の低下、皮質骨と海綿骨の石灰化の不十分な骨組織の増殖および皮質骨の多孔化、骨吸収優位の高骨代謝回転であることが示唆された。以上より、TSOD マウスに対する糖代謝の改善を目的とした栄養摂取や運動負荷が、骨強度に与える影響を検討するための 2 型糖尿病モデル動物として応用できる可能性が期待できる。

# タウリン含有複合ビタミン剤の TWBC に対する心筋保護効果の検証

田中 朗

医療科学専攻

(指導教員：矢田 公 教授)

## はじめに

近年の心筋保護法の進歩は、臨床的には安定したものになりつつあるが、再灌流障害 (Reperfusion injury) に関しては未だ問題を有しており、心筋保護法は施設間で異なっているのが現状である。そこで、所属施設で施行している再灌流障害減少効果を目的とした Terminal warm blood cardioplegia (以下 TWBC) への添加薬剤の効果を検証することとした。タウリンの心筋保護作用は効果・効能として既知のものであるが、TWBC への添加についての効果は未だ検討がなされておらず、タウリン含有複合ビタミン剤を添加することによる有効性に関して後ろ向きに臨床的治療背景や治療日数、手術前後の血液検査結果などから多角的に比較検討をおこなった。

## 目 的

本研究では、所属施設で行っている TWBC へのタウリン含有複合ビタミン剤添加による臨床的効果とその有用性について検証した後、多変量解析を用いて心筋障害の指標とされる CK-MB (クレアチンキナーゼ MB 分画) 値の最大値 (MAX-CK-MB 値) に対する影響因子について検討することで、その効果に関わる因子を明らかにする事を研究の目的とした。

## 方 法

2010 年 10 月～2014 年 12 月の複合手術と透析患者を除外した定例手術において TWBC へのタウリン含有複合

ビタミン剤「プレビタ<sup>®</sup>S 注射液」(扶桑薬品工業株式会社) (以下プレビタ) の添加による効果を検証するためプレビタを添加したものを P 群、プレビタを添加していない非プレビタ群を C 群とした。検証には、除細動器 (DC) 使用率および除細動までの回数、ペースメーカー (PM) 使用率、補助循環装置 (IABP・PCPS) 使用率、大動脈遮断解除後の心拍再開のタイミング、術後持続的血液ろ過透析 (CHDF) 施行の有無、術後集中治療室 (ICU) 在室日数、術後入院日数、死亡退院率、術後 CK-MB (クレアチンキナーゼ MB 分画) 値の最大値 (MAX-CK-MB 値) について比較検討をおこなった。また、血液検査結果より、CK (クレアチンキナーゼ)、CK-MB (クレアチンキナーゼ MB 分画)、AST (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)、ALT (アラニンアミノトランスフェラーゼ)、Seg (好中球分葉核球)、CRP (C 反応性蛋白)、Lac (乳酸) 値の術前、術後、翌朝、翌夕値の経時的変化に関して検討をおこなった。統計学的処理は、二群の母比率の差の検定には  $\chi^2$  検定を用い、二群の平均値の差の検定については F 検定をおこなった後、等分散の場合は Student-t 検定を、不等分散の場合は Welch-t 検定を用い P 値 < 0.05 をもって統計学的有意と判定した。次に、これらの結果をもとに、心筋障害の指標となる CK-MB 値に対する影響因子について注目し、術後 MAX-CK-MB 値について多変量解析を用いて比較検討をおこなった。なお、多変量解析については、Excel アドイン多変量解析プログラム「ビジネス統計」(翔泳社, 2014) を用いて解析をおこなった。

## 結 果

### ・プレビタの有用性

症例数：P群 61例，C群 12例に対し，除細動器（DC）使用率，ペースメーカー（PM）使用率，補助循環装置（IABP・PCPS）使用率，術後持続的血液ろ過透析（CHDF）治療施行率，術後 MAX-CK-MB 値，術後 ICU 在室日数，術後入院日数，死亡退院率，心拍再開のタイミング，血液検査値の結果に対して比較検討をおこなった。その結果，有意差は伴わないものの P 群において ICU 在室日数・術後入院日数の平均値の減少傾向が確認された。また，術後から翌朝にかけての検査値の変化についても CK-MB 値の回復率の向上，AST 値の上昇率の抑制傾向が P 群で認められた。

### ・多変量解析による影響因子の結果

心筋障害の指標である CK-MB 値に対する影響因子について MAX-CK-MB 値に対し多変量解析をおこなった結果，以下の式が得られた。

< C 群 > 寄与率  $R^2:0.87$

MAX-CK-MB (C) =  $-83.73+0.27 \times$  大動脈遮断時間  
 $+0.06 \times$  心筋保護液量  $-18.06 \times$  回路血時間

< P 群 > 寄与率  $R^2:0.21$

MAX-CK-MB (P) =  $-101.36-0.04 \times$  輸血量  $+0.29 \times$  体外循環時間  
 $+5.71 \times$  最低膀胱温

（回路血時間とは，post-conditioning 目的で大動脈遮断解除前に TWBC によって置換された冠動脈内の血液を人工心肺回路内の血液を用いて全身を循環している血液に再置換するための注入所要時間を意味する）

## 考 察

現在用いられている心筋保護法は，多くの先行研究から得られたほぼ確立された手法である。しかしながら，より完成度を増すために詳細な項目において今なお検討が続けられている。その 1 つが TWBC であり，注入量や時間，添加薬剤などの条件を変化させることでどの様な

変化を生じるか研究されている。本研究は，その中の添加薬剤に注目し，先行研究で得られたタウリンの有効性から TWBC にタウリンを含む複合ビタミン剤を添加することで非添加群に比して心筋保護効果の向上が望めるか否かを検討した。C 群にプレビタを加えることで術後 ICU 在室日数，入院日数の減少効果，術後 CK-MB 値の回復率の上昇など，有意差を伴わないながらも平均値でかなりの差があり有効性があるのではと推察した。また，多変量解析の結果からは，プレビタ添加の有無により MAX-CK-MB 値に対する影響因子は大きく変化した。このことは，プレビタを添加することで一般的に言われている心筋への影響を小さくし，少なからず直接的に心筋に対する良好な影響が得られていることが推察される。寄与率が C 群の 0.87 から P 群の 0.21 へと低下したことは，各因子への影響度を分散させ，心筋ダメージの抑制に対し何らかの寄与をしているものと考ええる。今後は，今回検討できなかったプレビタに含有されるビタミン B<sub>1</sub>，B<sub>2</sub>，C の相乗効果についても考慮，検討していく必要がある。

## 結 論

タウリンの心筋保護効果・効能は既知の事実であるが，TWBC へ添加することによる心臓手術における心筋保護効果というものは未知のものであった。現在の心筋保護法は，ほぼ確立された手法であるため有意差がある明らかな向上という結果は伴わないが，長時間の大動脈遮断による虚血に対しても自己心拍の再開が得られる事に対する術者の安心感，そして術後 ICU 在室日数・入院日数の短縮傾向は，患者の身体への影響を軽減し回復を早めたものと考えられる。よって，TWBC へのタウリンを含有した複合ビタミン剤の添加は，有用であると考えられた。

（本研究は，所属施設倫理委員会承認後，検討をおこない，研究に関する開示すべき COI 関係にある企業等はない）