

Liver fibrosis assessment using ^{99m}Tc -GSA SPECT/CT fusion imaging

所谷 亮太郎

大学院 医療科学研究科 医療科学専攻

(指導教員：安田 鋭介 教授)

はじめに

肝障害が進行すると肝実質の線維化が進行するため、肝線維化は肝障害の重症度を表す重要な指標である。肝線維化が進行すると肝硬変へと移行するが、肝硬変症例に対する肝切除は出血、肝不全のリスクが高く、許容される切除体積も小さい。従って肝切除術前に背景肝の線維化の程度を評価する事は、治療方針を決定する上で非常に重要である。肝臓の線維化の有無を調べる方法として肝生検、ヒアルロン酸、タイプ III プロコラーゲン-N-ペプチド (PIIIP)、4型コラーゲンなどがあるが、その重症度を非侵襲的に判断する有用な指標は確立されていない。今回我々は Tc- 99m -diethylenetriamine-pentaacetic acid-galactosyl human serum albumin (^{99m}Tc -GSA) scintigraphy を用いて肝線維化の重症度が測定できないか検討を行った。これらの報告の多くは GSA シンチグラフィ由来の指標である LHL15, HH15 を使用して検討を行っている。しかしながら LHL15 や HH15 は Planar 撮像により算出されているため、深さ方向の情報が乏しく、正確性に欠けるという欠点が指摘されている。

近年、シンチグラフィの分野において、SPECT-CT による減弱・散乱補正・分解能補正の高精度化により、これまで非定量的とされてきた SPECT 検査の SUV を用いた定量化が報告されている。SUV は放射性薬剤の臓器への集積の強さを表す指標であり、深さ方向の情報を有している。

目的

我々は SUV の概念を ^{99m}Tc -GSA シンチグラフィに適用し、肝臓全体の SUV_{mean} を測定した。

本研究では血液検査所見、 ^{99m}Tc -GSA 検査由来の LHL15, SUV_{mean} のいずれが最も実際の肝線維化の重症度と相関するか検討した。

方法

対象は高知医療センターで 2014 年 9 月から 2017 年 9 月の間に肝切除術を受けた 86 例であり、全例術前に ^{99m}Tc -GSA SPECT/CT fusion imaging を受けていた。肝機能指標として術前の Platelets($\times 10^4/\text{mm}^3$), Total bilirubin(g/dL), Prothrombin time(%), Albumin(g/dL) を調べた。採血は全て術前の一週間以内に行われた。我々は研究にあたり施設内倫理審査委員会の認証(161007)を得た。

方法は得られた SUV_{mean} と肝臓の線維化を表す指標、LHL15, Albumin(g/dL), Total bilirubin(g/dL), Platelets($\times 10^4/\text{mm}^3$), Prothrombin time(%) の 6 つの指標に対して線維化の程度を評価した。線維化の程度は腫瘍から離れた組織の切除標本から病理医により診断された。切除標本の組織学的分類は、新犬山分類を使用して分類された。切除標本は、F0 (線維化なし), F1 (門脈域の線維化性拡大), F2 (線維性架橋形成), F3 (小葉のひずみを伴う線維性架橋形成), F4 (肝硬変) と 5 段階のスケールで分類された。その際、F0, F1, F2 は非線維化群, F3,

F4 は線維化群として分け評価した。^{99m}Tc-GSA 静注後 20 分から 28 分の SPECT image を使用して SUVmean を算出した。算出に際しては SUV 算出アプリケーション GI-BONE にて、全肝臓を含むように Volume of Interest (VOI) を設置した。なお、VOI は GI-BONE にて自動的に設定される。

結 果

血液検査における Albumin(g/dL), Total bilirubin(g/dL), Platelets($\times 10^4/\text{mm}^3$), Prothrombin time(%) の中央値は非線維化群と線維化群でそれぞれ 4.2 vs 3.9 ($p=0.272$), 0.6 vs 0.7 ($p=0.057$), 17.6 vs 12.9 ($p<0.001$), 96.5 vs 86.7 ($p=0.008$) であり、Platelets, Prothrombin time に有意な差を認めた。

GSA scintigraphy 由来の肝機能指標である LHL15, SUVmean の中央値は非線維化群と線維化群で 0.917 vs 0.874 ($p=0.001$), 6.8 vs 6.0 ($p<0.001$) であり、有意差を認めた。

単変量解析で有意差を認めた Platelets, Prothrombin time, LHL15 及び SUVmean を多変量解析にて評価した結果、Prothrombin time 及び SUVmean が肝臓線維化の因子であった。

ROC 解析では、重度肝線維症を予測するための SUVmean, Platelets, LHL15, Prothrombin time の AUC 値はそれぞれ 0.804, 0.730, 0.717, 0.668 であった。

考 察

肝障害の原因は肝炎ウイルス、アルコール、脂肪肝など様々な原因があるが、肝障害が持続する事により線維化が進行し肝硬変へと移行する。肝硬変例に対する肝切除術は出血、肝不全のリスクが高く、術前に肝線維化の程度を判定することは重要である。肝線維化の評価は肝生検が gold standard ではあるが、侵襲的でありサンプリングエラー、観察者間での診断のバラツキなどの問題がある。非侵襲的に全肝の肝線維化を評価する方法はいまだ確立されていない。

今回我々は肝線維化の評価に GSA シンチが応用できないか検討した。^{99m}Tc-GSA は肝細胞表面に存在する肝受容体に特異的に集積し、その集積は肝機能を表す。よって ^{99m}Tc-GSA は直接的に肝臓の線維化を評価する薬剤で

はないが、肝臓の先行論文では Okabe らは、15 分でのインドシアニングリーン保持率 (ICG R15) と、LHL15 における取り込みの比を用いた肝機能の分類システムを使用して、肝切除後の予備能を予測し、結論として LHL15 は、組織学的肝線維症を予測することで、この分類に貢献できると報告した。しかし、これらの報告は planar 撮像での LHL15 を使用しており、Planar 撮像では深さの情報を有しておらず、正確な評価が困難である場合がある。さらに、^{99m}Tc-GSA SPECT-CT Fusion による評価では、LUV や hepatic clearance (HC) といった肝臓の線維化を評価する報告がある。しかし、これらの指標の多くは難解であり、実用的でない場合が多く広く普及しているとは言い難い。

今研究では評価に SUVmean を使用した。近年では SPECT の補正機能や再構成アルゴリズムの進化により PET 同様に SUV による評価が行えると報告されている。肝線維化評価に SUV を用いる事で、投与量、体重といったパラメータを検査ごとに補正し、定量的な評価が可能となる。SUVmean はすでに PET で広く日常的に用いられている指標であり、算出方法も簡便で、各種ワークステーションやアプリケーションで算出できる。また、GI-BONE ではあらかじめしきいを設定すれば、手動で VOI を設定する必要がなく、術者間のばらつきがない。非線維化群及び線維化群における肝機能指標との比較、検討を多変量解析にて検討したところ、SUVmean に有意差が認められた。この事より SUVmean を用いた肝線維化の評価は、線維化の程度を予測する有用な方法である事が示唆された。

結 論

^{99m}Tc-GSA より得られる肝臓の SUVmean は肝線維化の指標となる可能性が示唆された。

Tokorodani R, Sumiyoshi T, Okabayashi T, Hata Y, Noda Y, Morita S, Daisaki H, Okada Y, and Yasuda E. Liver fibrosis assessment using ^{99m}Tc-GSA SPECT/CT fusion imaging. *Jpn J Radiol* 2019;37(4):315-320.

不安高感受性ラットにおけるエゾウコギエキス及び その含有成分の抗不安作用に関する研究

— 行動及び自律神経活動に基づく薬理的検討 —

宮崎 翔平

大学院 薬学研究科 医療薬学専攻

(指導教員：藤川 隆彦 教授)

論文の要旨

外部環境の変化によって引き起こされるストレスは、自律神経系と視床下部 - 下垂体 - 副腎 (HPA) 軸に影響を与える。自律神経は交感神経と副交感神経の2つに分類される。不安などの精神的ストレスは交感神経の活性化を誘導し、副交感神経を抑制する。慢性的なストレス (長期的な不安など) は、HPA 軸と交感神経の持続的な活性化を介してストレス性胃潰瘍やうつ病を誘発する。また、うつ病などの気分障害やストレス関連障害の総患者数は年々増加していることに加え、軽度で未治療の患者が多くいることなど医療費に表れない社会的損失が大きい。さらに高血圧や糖尿病などの生活習慣病と同様に早期発見・早期介入によって重症化を予防できることが示唆されている。そこで日常生活におけるストレスを和らげることによってストレスに起因した疾患の発症や重症化などを未然に防ぐことが重要であると考えられる。

神経新生に関わる脳由来神経栄養因子 (BDNF) は、海馬での過剰発現により不安様行動を減弱することが知られている。また、BDNF はコルチコステロン投与やストレスにより海馬での発現量が減少しており、BDNF/TrkB シグナルが抗うつ薬の作用発現に重要であることが報告されている。このことから、ストレスの緩和において海馬 BDNF/TrkB シグナルの活性化が重要である可能性が示唆された。

エゾウコギ (*Acanthopanax senticosus* HARMS: ASH) は、ロシア、中国、日本 (北海道) などの寒冷な地域に自生するウコギ科の落葉低木である。『神農本草経』や『本草綱目』などの古典的な本草学の文献に記載されており、中国では 2000 年以上も前から滋養強壮や精神安定、関節リウマチの治療などに用いられてきた。近年、ASH はアダプトゲンとしてストレスや疲労に対する抵抗力を高めることが報告されており、欧米諸国では代替医療において広く利用されている。ASH には胃潰瘍発症抑制作用や抗うつ効果があることが報告されている。しかし、ASH の心理的ストレスに対する影響についてはエビデンスが十分ではない。

そこで本論文では、不安高感受性ラットへの ASH エキス及びその含有成分の経口投与による抗不安作用を行動薬理的・自律神経学的に検討し、海馬 BDNF/TrkB シグナルへ与える影響について明らかにすることを目的とした。

第1章 不安高感受性ラットにおけるエゾウコギ エキスの抗不安作用及び海馬 BDNF/ TrkB シグナルへの影響

新奇環境摂食抑制 (NSF) 試験及び高架式十字迷路 (EPM) 試験の改良版である改良型高架 (IEBW) 試験を用いてその行動を評価し、また行動薬理試験時の心電図の心拍変動解析による自律神経活動を評価し、不安高感受性ラットにおける ASH の抗不安作用を検討した。ま

た、海馬 BDNF/TrkB シグナル関連タンパク質発現解析を行った。NSF テストにおいて ASH エキスは、新奇環境における摂食行動への影響を緩和した。また、5% ASH エキス投与は、自律神経安定化作用を示した。次に IEBW 試験において、ASH エキスは、不安高感受性ラットにおいて抗不安様行動を示し、IEBW による交感神経活動の亢進や副交感神経活動の抑制を改善した。さらに ASH5% 投与は、海馬 BDNF/TrkB シグナルを活性化することが明らかになった。

以上の結果から、抗不安作用を有する ASH エキスは、精神的ストレスに起因した疾患に対して有益なサプリメントもしくは予防薬となり得ることが示唆された。

第2章 不安高感受性ラットにおけるエゾウコギエキス含有成分の抗不安作用及び海馬 BDNF/TrkB への影響

第1章では、不安高感受性ラットにおける ASH エキスの抗不安作用が明らかとなった。そこで、ASH エキスの含有成分の中でも含有量が多いエレウテロサイド E (syringaresinol di-O- β -D-glucoside: SYG), クロロゲン酸 (CHA) について、オープンフィールド試験 (OFT) 及び IEBW 試験を用いて行動及び自律神経活動を評価し、不安高感受性ラットにおける SYG の抗不安作用を検討した。また、ASH エキスと同様に海馬 BDNF/TrkB シグナル関連タンパク質発現解析を行った。さらに、SYG と CHA に次いで含有量の多いシリンギン (SYR) 及びイソフラキシジン (ISO) について不安高感受性ラットにおける IEBW 試験での行動及び自律神経活動を評価し、抗不安作用について検討した。OFT において SYG と CHA は単独では有意な変化をもたらさなかったが、SYG と CHA の組み合わせでは ASH エキスと同様にオープンフィールドによる行動抑制を有意に改善した。また、SYG は IEBW による交感神経活動の亢進や副交感神経活動の抑制を改善し、CHA は IEBW 上での行動を改善した。さらに SYG と CHA は組み合わせることで、OFT 及び IEBW 試験に

において ASH エキスの結果と非常に似た結果を示した。IEBW 試験において SYR は行動及び自律神経活動の面において部分的に ASH エキスの抗不安作用に寄与している可能性が示唆された。ISO は、第1章での ASH エキスの摂取量に基づいた投与量では、有意な変化をもたらさなかった。

今回の実験では、CHA と SYG の組み合わせのみしか検討できなかったが、ISO なども他の成分と組み合わせることで抗不安作用を示す可能性が考えられるため、含有成分の組み合わせに関する研究も行っていく必要がある。

以上の結果から、ASH は心理的ストレスに有効であり、その有効成分としては SYG と CHA である可能性が示唆された。また、SYR の部分的な寄与の可能性も示唆された。限られた副作用しか持たない ASH は、メンタルストレスに対するサプリメントや予防薬として非常に優れている可能性が示唆された。

引用文献

なし

Combination of syringaresinol-di-O- β -D-glucoside and chlorogenic acid shows behavioral pharmacological anxiolytic activity and activation of hippocampal BDNF-TrkB signaling

令和2年10月発行

刊行物名 Scientific Reports

10巻, 1号, No.18177 に掲載

Novel Pharmacological Effects of Syringin on Anxiety Behavior and Autonomic Nervous System Activity

令和2年10月発行

刊行物名 Records of Natural Product

15巻, 2号, 136頁-141頁に掲載