

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461853

研究課題名(和文) 門脈圧亢進症に対するIVR治療と自己骨髄細胞投与療法による新規肝再生療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel liver regenerative therapy with interventional radiology therapy for portal hypertension and autologous bone marrow cell infusion therapy

研究代表者

石川 剛 (ISHIKAWA, Tsuyoshi)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20569305

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：門脈圧亢進症に対するIVR治療(部分的脾動脈塞栓術<PSE>)が肝硬変患者の局所及び全身血行動態に及ぼす影響について検討した。PSE94例において心拍出量は有意に低下したが、血清レニン・アルドステロン・脳性ナトリウム利尿ペプチドに有意な変化は認められなかった。門脈血流量が有意に減少する一方、肝動脈血流量は有意に増加し、門脈圧(肝静脈楔入圧・肝静脈圧較差)は有意に低下した。また肝組織学的検査では術前後で明らかな変化は認められなかった。PSEが肝局所及び全身循環動態に及ぼす影響は大きく、今後これらのIVR治療と自己骨髄細胞投与療法(ABMi療法)の相乗効果について更なる解析・検討を進めていく。

研究成果の概要(英文)：The present study retrospectively investigated the effect of interventional radiology (IVR) therapy for portal hypertension, partial splenic embolization (PSE): n=94, on local and systemic hemodynamics in patients with cirrhosis. While PSE significantly decreased cardiac output, there were no significant changes following PSE in serum levels of renin, aldosterone, and brain natriuretic peptide. The procedure resulted in increased hepatic arterial flow in compensation for decreased portal venous flow, and both wedged hepatic venous pressure and hepatic venous pressure gradient were significantly declined after PSE. Histopathological study of liver tissue showed no dramatic differences between pre-PSE and post-PSE. In conclusion, PSE has a significant effect on local and systemic hemodynamics in cirrhotic patients. We would like to do further analyses and investigations for synergistic effects of IVR therapy for portal hypertension and autologous bone marrow cell infusion (ABMi) therapy.

研究分野：門脈圧亢進症

キーワード：門脈圧亢進症 肝硬変症 部分的脾動脈塞栓術 肝再生

### 1. 研究開始当初の背景

我々が世界に先駆けて開発・報告した非代償性肝硬変症に対する自己骨髄細胞投与療法 (ABMi 療法) は 2013 年 8 月に「先進医療 B」に承認された。一方、研究代表者は米国国立衛生研究所 (NIH) 留学中に幹細胞由来肝再生過程における細胞外基質の制御機構に関する研究を進め (Hepatology 2012)、また帰学後の基礎・臨床研究において門脈圧亢進症に対する interventional radiology (IVR) 治療 (部分的脾動脈塞栓術 (PSE)・バルーン閉塞下逆行性経静脈的塞栓術 (B-RTO)) が肝硬変患者にもたらす様々な有効性について報告してきた (J Gastroenterol. 2014)。

### 2. 研究の目的

我々が開発した ABMi 療法の有効性と安全性に関しては既に報告されている (Stem Cells 2006) が、高度の門脈圧亢進症を伴う患者に高頻度に認められる「脾腫」や「門脈-大循環シャント」の存在が ABMi 療法の有効性に及ぼす影響については未だはっきりしていない。門脈圧亢進症は肝臓だけに限局する病態ではなく全身内臓系循環亢進状態を伴う systemic disease であり、脾機能亢進・門脈-大循環シャントなどを合併することで肝硬変患者の血行動態はより一層複雑化する。脾機能亢進症や胃静脈瘤は全て門脈圧亢進に起因しており、本研究では、これらに対する IVR 治療 (PSE・B-RTO) が肝硬変患者の血行動態に及ぼす影響を明らかにしたうえで、IVR 治療先行 ABMi 療法の治療効果およびその有用性について証明する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 計画 1

門脈圧亢進症に対する IVR 治療 (PSE・B-RTO) が肝硬変患者の局所および全身の血行動態に及ぼす影響を及ぼすかを証明すべく、腹部および心臓超音波検査・血管内皮機能検査・血液生化学検査・肝組織学的検査・腹部 CT 検査・カテーテル検査などで解析・検討する (術前 vs 術 1 ヶ月後)。

<検査項目>

- ① 血圧 (収縮期血圧・拡張期血圧)・脈拍
- ② 心臓超音波検査; 心拍出量・駆出率・下大静脈径 など
- ③ 血管内皮機能検査; Flow-mediated vasodilatation (FMD)=血流依存性血管拡張反応
- ④ 血液生化学検査; 一酸化窒素酸化物・エンドセリン-1・レニン・アルドステロン・カテコラミン・脳性ナトリウム利尿ペプチド・バソプレッシン など
- ⑤ 腹部超音波検査; 門脈血流・脾静脈血流
- ⑥ 肝弾性値測定; ファイブロスキャン・エラストグラフィ
- ⑦ 腹部 dynamic CT 検査; 肝脾 volumetry・CT 値 (肝脾実質・肝動脈・脾動脈・門脈)
- ⑧ カテーテル検査; 肝静脈楔入圧・肝静脈

圧較差・肝動脈酸素飽和度

⑨ 肝組織学的検査; HE 染色・Azan 染色・Sirius red 染色

⑩ ウェスタンブロット・ELISA・免疫染色 (肝組織・血清);  $\alpha$ SMA・desmin・F4/80・PCNA・Ki-67・HGF・EGF・FGF・TGF $\alpha$ ・TGF $\beta$ ・PDGF・TNF $\alpha$ ・MMP2・MMP9・TIMP1・TIMP2 など

#### (2) 計画 2

これらの IVR 治療の先行施術が ABMi 療法の治療効果にもたらす影響について、血液生化学検査・腹部超音波検査・腹部 CT 検査・肝組織学検査 (特殊染色を含む) などで解析・検討する。

<対象>

- ① ABMi 療法単独群 (無治療+ABMi 療法)
- ② PSE 先行群 (PSE+ABMi 療法)
- ③ B-RTO 先行群 (B-RTO+ABMi 療法)

(目標症例数; 各 6~8 例)

<検査項目 (計画 1 に準じて)>

- ① 血液生化学検査
- ② 腹部超音波検査
- ③ 肝弾性値測定
- ④ 腹部 dynamic CT 検査
- ⑤ 肝組織学的検査
- ⑥ ウェスタンブロット・ELISA・免疫染色 (肝組織・血清);  $\alpha$ SMA・desmin・F4/80・PCNA・Ki-67・HGF・EGF・FGF・TGF $\alpha$ ・TGF $\beta$ ・PDGF・TNF $\alpha$ ・MMP2・MMP9・TIMP1・TIMP2 など

### 4. 研究成果

(1) 計画 1 (PSE・B-RTO のうち、特に PSE 前後での血行動態の変化が顕著であったため、本報告書では PSE に関するデータを中心に報告する。)

研究期間に施行した 32 例を含め当科で施行した PSE 全 94 例を後方視的に追跡し、各種統計解析を行った (術前 vs 術 1 ヶ月後)。

#### ① 全身血行動態

治療前後の収縮期血圧 (sBP)・拡張期血圧 (dBP) を測定した結果、dBP のみ有意な変化が認められた (sBP;  $133.3 \pm 18.4 \rightarrow 128.9 \pm 15.7$  mmHg,  $p=0.26$ 。dBP;  $75.7 \pm 12.5 \rightarrow 68.2 \pm 17.1$  mmHg,  $p<0.05$ )。心拍数に有意な変化は認められなかった ( $68.6 \pm 11.6 \rightarrow 67.9 \pm 10.8$  bpm,  $p=0.68$ ) が、心拍出量は  $4.68 \pm 1.66 \rightarrow 3.98 \pm 1.08$  L/min ( $p<0.05$ ) に有意に低下した (図 1)。駆出率は  $73.8 \pm 7.3 \rightarrow 73.9 \pm 7.3$  % ( $p=0.92$ )、下大静脈径は  $13.8 \pm 2.5 \rightarrow 14.1 \pm 3.5$  mm ( $p=0.59$ ) と有意な変化は認められなかった。血管内皮機能を表す FMD は  $5.9 \pm 2.7 \rightarrow 4.9 \pm 2.2$  % ( $p<0.05$ ) と有意に低下した。

一方、レニン (Renin)・アルドステロン (Aldosterone)・脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) に有意な変化は認められなかったが、BNP の低下傾向が示された (表 1)。また、血管拡張物質である一酸化窒素化合物にも明らかな変化は認められなかった ( $28.2 \pm 18.2$

→ $30.9 \pm 20.1 \mu\text{mol/L}$ ,  $p=0.57$ ).

図1 PSEによる心拍出量の変化(L/min)

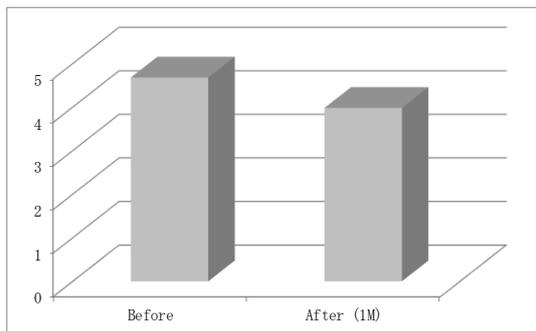


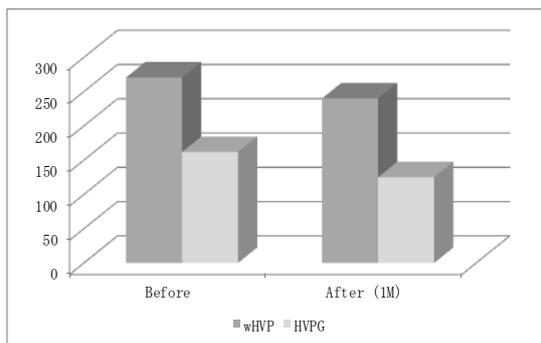
表1 PSEによるRenin, Aldosterone, BNPの変化

	Before	After (1M)	p 値
Renin (pg/ml)	11.3 ± 11.9	11.2 ± 13.5	0.93
Aldosterone (pg/ml)	80.0 ± 35.6	83.5 ± 64.8	0.77
BNP (pg/ml)	39.1 ± 24.5	50.8 ± 37.8	0.22

②肝血行動態

門脈圧を反映する肝静脈楔入圧(wHVP:  $270.5 \pm 71.5 \rightarrow 240.1 \pm 64.1 \text{ mmHg}$ ,  $p < 0.01$ )・肝静脈圧較差(HVPG:  $161.8 \pm 58.0 \rightarrow 125.1 \pm 50.6 \text{ mmHg}$ ,  $p < 0.01$ )はいずれも有意に低下した(図2)が、ファイブロスキャンによる肝弾性値に有意な変化は認められなかった( $30.0 \pm 18.4 \rightarrow 27.7 \pm 16.0 \text{ kPa}$ ,  $p=0.26$ )。

図2 PSEによるwHVP・HVPGの変化(mmHg)



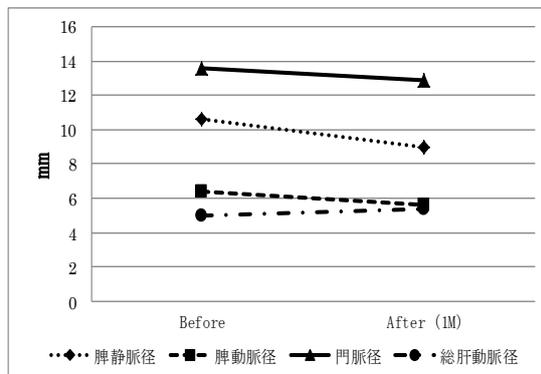
血流量の指標として各種血管径(mm)を測定したところ、以下の通りいずれも有意な変化が認められた(図3)。

- ・脾動脈径:  $6.4 \pm 1.2 \rightarrow 5.6 \pm 1.2$  ( $p < 0.01$ )
- ・脾静脈径:  $10.6 \pm 2.0 \rightarrow 9.0 \pm 2.0$  ( $p < 0.01$ )
- ・門脈径:  $13.6 \pm 2.1 \rightarrow 12.9 \pm 2.0$  ( $p < 0.01$ )
- ・総肝動脈径:  $5.0 \pm 0.9 \rightarrow 5.4 \pm 0.9$  ( $p < 0.01$ )

Murrayの法則(血流量が血管径の2.33~3乗に比例)に従うと、PSEによって門脈血流量が有意に減少する一方、肝動脈血流量が有意

に増加することが明らかとなり、そのためPSE前後で肝容積に有意な変化は認められなかった(肝容積  $1093.8 \pm 290.8 \rightarrow 1090.2 \pm 295.3 \text{ cm}^3$ ,  $p=0.73$ )。

図3 PSEによる血管系の変化



肝組織学的検査では、炎症・線維化の程度にPSE前後で明らかな変化は認められなかった。肝組織を用いて、 $\alpha \text{ SMA}$ ・desmin・F4/80・PCNA・Ki-67・HGF・EGF・FGF・TGF $\alpha$ ・TGF $\beta$ ・PDGF・TNF $\alpha$ ・MMP2・MMP9・TIMP1・TIMP2に関するウェスタンブロット・免疫染色・ELISAなどを施行中(再現性確認中)であり、本研究報告書に記載した成果と合わせて論文作成予定である。

(2) 計画2

門脈圧亢進症に対するIVR治療先行ABMi療法の有効性に関しては、想定よりABMi療法の対象(適応)患者が少なく当該期間に5例しか施行されなかったため、3群を比較・検討することが不可能であった。今後症例数をさらに増やして、発表・論文報告予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計3件)

- ① Ishikawa T, Aibe Y, Matsuda T, Iwamoto T, Takami T, Sakaida I. Plasma glucose level predicts serum ammonia after retrograde occlusion of portosystemic shunts (B-RT0). AJR Am J Roentgenol. 査読有, 2017, DOIなし 掲載確定(印刷中)
- ② Iwamoto T, Maeda M, Hisanaga T, Saeki I, Fujisawa K, Matsumoto T, Hidaka I, Ishikawa T, Takami T, Sakaida I. Predictors of the effect of tolvaptan on prognosis of cirrhosis. Intern Med. 査読有, 2016;55(20):2911-2916. DOIなし
- ③ Ishikawa T, Shiratsuki S, Matsuda T, Iwamoto T, Takami T, Uchida K, Terai S, Yamasaki T, Sakaida I. Occlusion of portosystemic shunts improves hyperinsulinemia due to insulin resistance in cirrhotic patients with portal hypertension. J Gastroenterol.

査読有, 2014;49(9):1333-1341. DOI:  
10.1007/s00535-013-0893-z.

[学会発表] (計 17 件)

- ① Tsuyoshi Ishikawa, Ryo Sasaki, Tatsuro Nishimura, Yuki Aibe, Takashi Matsuda, Takuya Iwamoto, Taro Takami, and Isao Sakaida Good glycemic control contributes to an improvement in hyperammonemia by occlusion of portosystemic shunts in cirrhotic patients with diabetes The Liver Meeting 2016 2016 年 11 月 11 日~2016 年 11 月 15 日 Boston (USA)
- ② 石川 剛、岩本拓也、坂井田功 B-RT0 後の長期経過と予後規定因子に関する統計学的検討 JDDW2016 2016 年 11 月 3 日~2016 年 11 月 6 日 神戸コンベンションセンター (兵庫県神戸市)
- ③ 石川 剛、佐々木嶺、西村達朗、相部祐希、松田崇史、岩本拓也、高見太郎、坂井田功 B-RT0 に対する補助療法としての PSE の有用性と対象別治療戦略 第 23 回日本門脈圧亢進症学会総会 2016 年 9 月 9 日~2016 年 9 月 10 日 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)
- ④ 石川 剛、岩本拓也、坂井田功 高アンモニア血症に対する B-RT0 の有効性と治療効果予測因子 第 23 回日本門脈圧亢進症学会総会 2016 年 9 月 9 日~2016 年 9 月 10 日 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)
- ⑤ 石川 剛、佐々木嶺、西村達朗、相部祐希、白築祥吾、松永一仁、岩本拓也、高見太郎、坂井田功 術前 Child-Pugh 分類は、部分的脾動脈塞栓術が肝機能に及ぼす影響を規定する 第 52 回日本肝臓学会総会 2016 年 5 月 19 日~2016 年 5 月 20 日 ホテルニューオータニ幕張、東京ベイ幕張ホール (千葉県千葉市)
- ⑥ 石川 剛、高見太郎、坂井田功 空腹時血糖値は B-RT0 による高アンモニア血症改善の術前予測因子になり得る 第 102 回日本消化器病学会総会 2016 年 4 月 21 日~2016 年 4 月 23 日 京王プラザホテル (東京都新宿区)
- ⑦ 石川 剛、西村達朗、佐々木 嶺、相部祐希、松永一仁、白築祥吾、岩本拓也、高見太郎、坂井田功 B-RT0 先行 PSE 併用療法は門脈圧亢進症の包括的マネジメントに有効である。 第 113 回日本内科学会総会・講演会 2016 年 4 月 15 日~2016 年 4 月 17 日 東京国際フォーラム (東京都千代田区)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

[その他]  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

石川 剛 (ISHIKAWA, Tsuyoshi)  
山口大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号 : 20569305

##### (2) 研究分担者

岩本 拓也 (IWAMOTO, Takuya)  
山口大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号 : 80634716

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号 :

##### (4) 研究協力者

( )