

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年4月21日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591342

研究課題名（和文） SPIO-MRI を用いた肝機能・肝線維化の評価法の確立

研究課題名（英文） Evaluation of liver function and fibrosis using SPIO-MRI

研究代表者

西江 昭弘（NISHIE AKIHIRO）

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：20457427

研究成果の概要（和文）：

MRI で計測可能な肝実質の R2\* 値（鉄の沈着程度を反映）と、SPIO 投与前後の肝実質の  $\Delta R2^*$  および  $\Delta R2$  値（クッパー細胞の貪食能を示唆）は、肝受容体シンチグラフィから得られる肝機能の値と相関があったが、肝線維化および壊死/炎症細胞浸潤の程度とは有意な相関はなかった。理由として、クッパー細胞は線維化の初期には重要な役割を担っているため、同時期にはむしろ活性化され、貪食機能が亢進している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

R2\* value, which represents iron deposition of the liver parenchyma, and  $\Delta R2^*$  and  $\Delta R2$  values, which represent differences in R2\* and R2 values of the liver parenchyma before and after administration of SPIO, showed significant correlation with parameters obtained on Technetium-99m galactosyl serum albumin scintigraphy. However, they were no significant correlation with liver fibrosis and necro-inflammatory activity. Because Kupffer cells play an important role on the early stage of liver fibrogenesis, these cells may rather activate and increase phagocytotic function compared with normal condition and advanced stage of liver fibrosis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,100,000	630,000	2,730,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：MRI、T2\*強調画像、T2 強調画像、SPIO、Kupffer 細胞、Heme oxygenase-1

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 慢性肝疾患では、様々な酸化ストレスを

産生する reactive oxygen species (ROS) が、肝硬変への進行や癌の発生に主な役割を担っている。この ROS には過剰な「鉄」が強く

関与しているため、肝実質内の「鉄」を評価することは、肝硬変や発癌の危険性の予測に直結する可能性があり、非常に大きな意義を持っている。一方、慢性肝疾患の重症度や抗ウイルス療法の適応の判定には、実際の肝実質の組織像を参照しているのが現状であるが、肝生検には出血、感染などの手技に伴う合併症に加えて、病理医間での診断の相違や sampling error の懸念があるため、可能であれば避けたい検査である。そのため組織像を非侵襲的かつ客観的に評価することが求められる。

(2) 画像診断の見地からは「鉄」の評価には MRI (T2 および T2\*強調画像) が主な役割を担っている。SPIO(super paramagnetic iron oxide)投与前後に肝 T2\*map 像を撮像することで、「鉄」の過剰度や Kupffer 細胞の食食能を定量化できることが期待される。

(3) 一般にヒトの病理標本では Kupffer 細胞の食食能(細胞内の SPIO のクラスター化など)を直接評価するのは困難である。通常、術前検査として施行される SPIO-MRI の直後に手術が施行されることはないため、標本が得られたときには食食された SPIO 造影剤は washout されている。そのため、実際には Kupffer 細胞の分布や密度と画像所見が比較されることが多く、機能に関して討論されているとはいいがたい。

(4) heme oxygenase-1(HO-1)はヘム鉄の代謝に関与し、フリーラジカルのスカベンジャーとして働く酵素である。この酵素は in vitro でマクロファージ細胞の活性化とともに発現が上昇することが知られている。さらに実際のヒトグリオーマの病理標本でも tumor-associated macrophages に高発現しており、tumor grade と相関が見られる。すなわち、HO-1 が生体内マクロファージの活性化の指標である可能性が高く、Kupffer 細胞に関しても HO-1 の発現レベルが活性度(食食能)を反映している可能性が示唆される。

(5) さらに肝硬変患者では Kupffer 細胞機能が低下することが示唆されており、肝機能や肝線維化を間接的に評価できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

実際の鉄の沈着程度は、T2\*値(T2 値)の逆数である R2\*値(R2 値)と比例関係にあると考えられる。

そのため、

(1) SPIO 投与前の R2\*値(R2 値)や SPIO 投与前後の肝実質の R2\*値(R2 値)の低下と、肝機能(肝受容体 scintigraphy のパラメータ)との関連性を明らかにすること

(2) SPIO 投与前の R2\*値(R2 値)や SPIO 投与前後の肝実質の R2\*値(R2 値)の低下と、肝線維化(新犬山分類における staging や grading)との関連性を明らかにすること

(3) 肝実質内の Kupffer 細胞における HO-1 の発現と、SPIO 投与前後における肝実質の信号(R2\*値もしくは R2 値)変化の関係を明らかにすること

の3つである。

## 3. 研究の方法

(1) 対象は肝臓の精査のため SPIO-MRI と肝受容体シンチが施行された 55 例である。SPIO-MRI ではリゾビスト投与前後に T2\*および T2 map が(それぞれ 37 例と 55 例で)撮像された。それぞれの map を用いて、肝実質の R2\*および R2 値 ( $R2^*=1/T2^*$ ,  $R2=1/T2$ ) を計測した。リゾビスト投与前の肝実質の R2\*および R2 値を Pre R2\*および Pre R2、またリゾビスト投与前から後の R2\*および R2 値を差分した値を  $\Delta R2^*$ および  $\Delta R2$  と定義した。肝受容体シンチに関しては、LHL15(静注 15 分後の肝臓と心臓+肝臓のカウント比)および HH15(静注 3 分後と 15 分後の心臓のカウント比)の値を記録し、肝機能の gold standard とした。SPIO-MRI の肝機能パラメータである R2\*, R2,  $\Delta R2^*$ ,  $\Delta R2$  が、LHL15 および HH15 と相関があるか回帰分析を行った。

(2) 対象は肝臓の精査のため術前に SPIO-MRI が施行された 54 例である。SPIO-MRI ではリゾビスト投与前後に T2\*および T2 map が撮像された。それぞれの map を用いて、(1)の肝機能パラメータ(R2\*, R2,  $\Delta R2^*$ ,  $\Delta R2$ )を算出した。肝線維化は新犬山分類を用いて F0(なし)から F4(肝硬変)の間で 5 段階に、また壊死/炎症細胞浸潤の程度も A0(なし)から A3(高度)まで 4 段階に分類された。R2\*, R2,  $\Delta R2^*$ ,  $\Delta R2$  が、肝組織の病理像と相関があるか、Spearman's rank correlation test を行った。

(3) 対象は肝腫瘍の術前に SPIO-MRI が施行された 16 例である。SPIO-MRI でリゾビスト投与前後に T2\*および T2 map が撮像された。それぞれの map を用いて、(1)の肝機能パラメータ(R2\*, R2,  $\Delta R2^*$ ,  $\Delta R2$ )を算出した。術後標本の非癌部の病理スライドを作成し、HO-1 と CD68(マクロファージの marker)の

免疫染色を行い、Kupffer 細胞の HO-1 発現レベルを低、中、高の 3 段階に分類した。Pre R2\*、Pre R2、 $\Delta R2^*$ 、 $\Delta R2$  の平均値 (1/sec) を、それぞれ低グループと中+高グループの間で比較した (student t-test)。

#### 4. 研究成果

(1) Pre R2\*値と LHL15 の間に中等度の相関が見られた(相関係数=0.401)。 $\Delta R2^*$ と  $\Delta R2$ 、および LHL15 と HH15 の、それぞれの組み合わせの間でも有意な相関が見られた(相関係数=0.333-0.430)。肝実質の R2\*値は鉄の沈着度を反映すると考えられる。一方、 $\Delta R2^*$ および  $\Delta R2$  値はクッパー細胞の食能を示唆する指標であり、これらと肝機能との関連を裏付ける結果となった。SPIO-MRI から得られるパラメータは、肝機能の指標となり得ると考えられる。

(2) R2\*, R2,  $\Delta R2^*$ ,  $\Delta R2$  ともに肝線維化および壊死/炎症細胞浸潤の程度と有意な相関はなかった。F1+F2 の  $\Delta R2^*$ および  $\Delta R2$  (1/sec) はそれぞれ 61.5 +/- 8.7 と 11.6 +/- 3.7 であり、F0 (57.5 +/- 11.6 と 9.6 +/- 3.9) や F3 + F4 (54.9 +/- 14.6 と 7.9 +/- 3.7) と比較して高い傾向にあった。SPIO-MRI から得られるパラメータは、肝線維化および壊死/炎症細胞浸潤の程度と順序立った相関はなかった。ただし、クッパー細胞は線維化の初期 (F1+F2) には重要な役割を担っているため、同時期にはむしろ活性化され、食能機能が亢進している可能性が示唆された。

(3) 低グループは 8 例、中および高グループはそれぞれ 4 例であった。R2\*, R2 の平均値は両群間に差はなかった。 $\Delta R2^*$ は、中+高グループ 57.2±18.0、低グループ 67.6±18.8 で、有意差はなかった (p=0.31)。また、 $\Delta R2$  も低グループ 7.5±3.5、中+高グループ 9.8±3.1 で有意差は認められなかった (p=0.20)。Kupffer 細胞の食能を示唆するパラメータ ( $\Delta R2^*$ 、 $\Delta R2$ ) と HO-1 の発現レベルに明らかな相関はなかった。実際の腫瘍内は酸化ストレス等の複雑な微小環境が関与しており、Kupffer 細胞の HO-1 発現もそれに左右されている可能性が示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

(1) Nishie A, Ushijima Y, Tajima T, Asayama Y, Ishigami K, Kakihara D, Nakayama T, Takayama Y, Okamoto D, Abe K, Obara M,

Yoshimitsu K, Honda H. Quantitative analysis of liver function using superparamagnetic iron oxide- and Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI: Comparison with Technetium-99m galactosyl serum albumin scintigraphy. Eur J Radiol 81(6):1100-4, Mar 2012 査読あり

(2) Nishie A, Asayama Y, Ishigami K, Tajima T, Kakihara D, Nakayama T, Takayama Y, Okamoto D, Taketomi A, Shirabe K, Fujita N, Obara M, Yoshimitsu K, Honda H. MR prediction of liver fibrosis using a liver-specific contrast agent: Superparamagnetic iron oxide versus Gd-EOB-DTPA. J Magn Reson Imaging 36(3):664-71 Sep 2012 査読あり

[学会発表] (計 1 件)

(1)九州大学 臨床放射線科学 西江昭弘  
第 71 回日本医学放射線学会総会 2012 年 4 月 12 日~15 日、横浜  
シンポジウム 肝胆膵領域の機能画像・新しい撮像法  
「Gd-EOB-DTPA の肝機能診断への応用: SPIO との比較」

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

西江 昭弘 (Nishie Akihiro)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号: 20457427

(2) 研究分担者

浅山 良樹 (Asayama Yoshiki)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号: 40380414

牛島 泰宏 (Ushijima Yasuhiro)

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号: 40432934

高山 幸久 (Takayama Yukihiisa)  
九州大学・医学研究院・助教  
研究者番号 : 60546563

藤田 展宏 (Fujita Nobuhiro)  
九州大学・医学研究院・助教  
研究者番号 : 30610612

本田 浩 (Honda Hiroshi)  
九州大学・医学研究院・教授  
研究者番号 : 90145433

石神 康生 (Ishigami Kousei)  
九州大学・大学病院・助教  
研究者番号 : 10403916

柿原 大輔 (Kakihara Daisuke)  
九州大学・医学研究院・助教  
研究者番号 : 80529818

中山 智博 (Nakayama Tomohiro)  
国立国際医療研究センター病院・放射線診療部・医師  
研究者番号 : 70419571

(3) 連携研究者

( )

研究者番号 :