

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業

末期肝硬変に対する治療に関する研究

平成15年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 石 井 裕 正

平成16 (2004) 年 3 月

目次

I. 総括研究報告書

末期肝硬変に対する治療に関する研究

石井裕正 慶應義塾大学消化器内科・・・・・・・・・・・・・・・1

II. 分担研究報告書

肝硬変における脳内 glutamine、glutamate 代謝異常-3.0teslaMRS を用いた検討-

鈴木一幸 岩手医科大学第一内科・・・・・・・・・・・・・・・14

肝硬変における就寝前分岐鎖アミノ酸投与の長期効果

森脇久隆 岐阜大学医学部臓器病態学講座消化器病態学分野・・・・・・・・・19

食道静脈瘤の治療に関する研究

幕内博康 東海大学医学部外科・・・・・・・・・・・・・・・22

特発性細菌性腹膜炎と難治性腹水の診断と治療に関する研究

福井 博 奈良県立医科大学第3内科・・・・・・・・・・・・・・・27

肝線維化の評価における弾性度測定の有用性

石井裕正 慶應義塾大学消化器内科・・・・・・・・・・・・・・・39

アデノウイルスの経胆管的投与による肝への反復遺伝子導入に関する検討

栗山茂樹 香川医科大学第3内科・・・・・・・・・・・・・・・42

肝線維化改善における幹細胞の関与

渡辺 哲 東海大学医学部環境保健学・・・・・・・・・・・・・・・50

末期肝硬変の治療アルゴリズムにおける肝移植適応と克服すべき問題点

市田隆文 新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター・・・・・・・・・52

肝硬変診療における医療経済学的分析と診療報酬のあり方に関する研究

小林 廉毅 東京大学社会予防医学・・・・・・・・・・・・・・・55

III. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・・・61

IV. 研究成果の刊行物・別刷・・・・・・・・・・・・・・・65

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）
末期肝硬変に対する治療に関する研究
平成15年度総括研究報告書

末期肝硬変に対する治療に関する研究

石井裕正 慶應義塾大学消化器内科教授

要旨：末期肝硬変の治療に関して、従来の治療の見直し・将来の新たな治療の可能性・医療経済を検討し、現時点の標準治療ガイドライン作成を目標とした。

肝硬変の診断には観血的方法である肝生検が必要であったが、この度新たに輸入された肝弾性度測定装置（エラストメーター）が非侵襲的に肝線維化の評価に有用であることが明らかにされた。

合併症対策の見直しに関しては以下の新たな知見が得られた。

1. 肝性脳症の発症に astrocyte の機能異常が問題となっているが、この異常にはグルタミンとグルタミン酸の総和が関与していると考えられている。高磁場MRI装置による¹H-MRSを施行して新たに開発されたデータ処理法により、非侵襲的に脳内グルタミン+グルタミン酸の分離同定が可能となった。肝硬変ではグルタミン+グルタミン酸総和の増加にはグルタミンの増加によるものであることが判明した。
2. 低アルブミン血症の改善には、従来のBCAA製剤食後3回投与よりも就寝前1回投与の方が効果があることが明らかとなった。
3. 食道静脈瘤の治療に関しては、再発のない治療法が望まれるが、硬化療法（EIS）と結紮術（EVL）の比較を無作為前向き試験にて明らかにするべく試験が開始された。
4. 特発性細菌性腹膜炎の腹水中細菌の検出率を高めるためのカルチャーボトル法を開発した。国際腹水委員会（IAC）の提唱する難治性腹水に対する利尿薬投与法は日本人に適合しないことが判明した。また腹水が難治性であることを予測するには血管内皮増殖因子の測定が有用と考えられた。

新たな治療の可能性について二つの大きな研究が進んだ。

1. 遺伝子治療の一つとしてアデノウイルスを用いた導入法があるが、再投与は宿主免疫によるウイルス排除があり不可能であった。この問題点を克服するためにアデノウイルスを経胆管的に投与したところ、再投与でも効率良く遺伝子発現が可能なが動物モデルで明らかとなった。
2. MMP-13 の遺伝子導入による肝線維の融解治療が動物モデルで認められた。また骨髓細胞の移入により肝細胞や星細胞への分化が認められた。

わが国の肝疾患の年間総医療費は推計5328億円であるが、その中で肝硬変の医療費は961億円と推定される。しかし肝硬変には肝細胞癌の合併が多く、肝及び肝内胆管の悪性新生物1515億円の一部にも医療費が含まれている。今後いかにこれらの医療費を効率良くするかが問題であり、治療法の改善、ガイドラインの導入による変化を見ることが今後の課題となる。

ガイドライン作成は中途であるが、クリニカルクエスションと治療アルゴリズムを作成し、文献検索をかけ、各文献の評価抽出を行っている。

分担研究者：市田隆文（新潟大学）、栗山茂樹（香川医科大学）、小林廉毅（東京大学）、鈴木一幸（岩手医科大学）、福井博（奈良県立医科大学）、幕内博康（東海大学）、森脇久隆（岐阜大学）、渡辺哲（東海大学）

A. 研究目的

末期肝硬変は肝細胞機能不全に基づき黄疸、低タンパク血症、肝性脳症、門脈圧亢進に伴う食道静脈瘤などの側副血行路、浮腫・腹水、消化管出血、特発性細菌性腹膜炎、肝腎症候群などを生ずる慢性疾患である。肝硬変の予後はこれらをうまく制御することにある。

これらの合併症の原因は肝線維化にあり、予後の改善は線維化の制御や改善にあると考えられる。

こうした背景から本研究班では「末期肝硬変に対する治療」を考えるにあたり、合併症対策の現治療法の見直しと、新たな治療法の開発を大きな目的とした。

また肝硬変の診療報酬の在り方につき検討し、肝疾患の社会的費用推計と医療経済評価を行うことをもう一つの目的とした。

さらにこれらの検討に基づいて、標準的診療を考え、ガイドラインの作成を最終目的とした。

B. 研究方法

(1) 合併症対策の見直し

現状の合併症治療の見直しに関しては ①肝性脳症 ②低タンパク、低アルブミン血症 ③難治性腹水、細菌性腹膜炎 ④食道静脈瘤 に的を絞り、各分担研究者が個別に研究を遂行した。肝硬変患者を対象に研究を行う際には、研究目的と研究方法、開示、利益・不利益、個人情報保護、結果の公表、費用負担など倫理的に正当性を保持し、患者に十分な説明と理解を文書にて得て、個別研究の各施設の患者さんを対象とした。

各個別研究の方法に関しては個別研究報告を参照願いたい。

(2) 線維化評価の新たな方法

従来肝線維化の程度は、肝生検による観血的方法のみが信頼性があり、血清線維化マーカーはいまだ信頼性に欠けていた。

肝硬変患者では血小板数の低下、凝固因子の低下、などから肝生検などの観血的検査は危険が高い。さらに最近の肝硬変患者の多くはC型肝炎ウイルス(HCV)感染によるもので、肝硬変に至っている患者の平均年齢も高い。高齢者ではまた侵襲的検査に対して恐怖心もあり、非侵襲的検査の確率が望まれている。

こうした背景を基に、非侵襲的検査法としてエラストメーターを導入することを考えた。エラストメーターは肝の弾性を計測する機械で、患者の体表からプローブを軽く押し当てて瞬時に計測できるため、石井裕正が担当して行った。

(2) 新たな治療法の開発

新たな治療法として ①アデノウイルスによる遺伝子導入 ②幹細胞移入を考案した。

①アデノウイルスは昨年までの検討で、肝の遺伝子発現が十分に起こることがはっきりしたため、いかに発現を慢性に行えるかが問題となった。そのため本年度は遺伝子再投与の新たな方法を探索し、経胆管的投与を検討した。

また本年度は遺伝子導入の一つの候補としてMMP-13を検討した。

②幹細胞移入に関しては、骨髄細胞移入を行った。移入した細胞の鑑別のため Green Fluorescent Protein (GFP)を持つマウスから骨髄細胞を採取して、マウス障害肝に移植した。

(3) 肝硬変治療のガイドライン作成

標準的診療のために本研究班でガイドラインを作成することとなった。ガイドライン作成の経過に関しては研究結果に記載する。

C. 研究結果

個別研究の成果に関しては、各研究報告を参照されたい。

肝硬変診療ガイドライン作成の経過

肝硬変は、各種慢性肝疾患の最終到達疾患であり、肝予備能の低下にともない臓器としての肝臓機能が低下し、生体を維持できない状態（肝不全）に至る。最も単純な治療法は、正常な肝臓と取り替えること、すなわち肝移植であるが、わが国における脳死肝移植の普及は厳しく、生体肝移植に頼らざるを得ないが、ドナーとなりうる血縁者がいない場合には移植は不可能な状態である。医療の細分化が進んだ現代、医療の現場では逆にプライマリーケア医のニーズが高まっており、その教育、育成に大きな労力がかけられている。プライマリー医に必要な標準的診療を提供する意義は極めて大きいと考えられる。

わが国の肝硬変の実情に即した診療は前述のごとく移植に向けての準備ではなく、慢性肝炎から肝硬変への進展阻止、肝硬変の肝不全への進展阻止である。欧米のように移植が背後に存在する診療では、合併症を乗り切り、移植まで保たせれば良いわけであり、実際、欧米の診療ガイドラインには肝硬変の合併症に対するものしか存在していない。しかし、移植のままならないわが国においては個々の合併症を乗り切るガイドラインよりも、大きく肝硬変症をいかに長期に亘って管理するかが診療の大きな鍵となる。従って、肝硬変診療のガイドラインを作成することは極めて重要な作業と考えられる。

以上から、「末期肝硬変に対する治療に関する研究」班では、現行の肝硬変治療を再評価し、新たな治療の可能性を追求しながら、肝硬変の標準的診療を普及させることが重要な任務の一つと考え、ガイドライン作成に着手した。

ガイドライン作成には専門家が必要と考えられ、研究班2年目より神奈川歯科大学内科 森實敏夫教授に参入していただき、文献検索やデータベース管理のため国際医学情報センターに一部業務を委託して進化した。また、日本肝臓学会との連携が必要と考えられたため、2年目より山口大学大学院、日本肝臓学会理事長である沖田 極教授に参入していただいた。

1. クリニカルクエスチョン（clinical question, CQ）の作成
 - (ア) 診断に関していえば、保健医療供給者が患者さんから得られた情報をどのように解釈したら良いか、あるいは患者さんからみればどのような疾患なのかということ、治療に関していえば、どのような働きかけをしたら良いか（治療）、あるいはどのようにして直したら良いか、どのように説明したら良いか、どのように受け取ったらいいのか、などの疑問がCQである。
 - (イ) 今回の研究班では、肝硬変の治療に関するガイドラインを作成することになったため以下のようなものが考えられる。
 - ① 治療：患者に利益をもたらす治療法をどう選択するか？
 - ② 予防：疾患・病態の発生をどう低減するか？
 - ③ 医療経済：健康増進法や介入の費用と便益の関係は？である。
2. CQの作成法
 - (ア) 一つのセンテンスとし、疑問形とする。
 - (イ) Yes, No あるいは What, Which で聞く形でも良い。
 - (ウ) このCQで（疾患・病態）（予知因子）（介入あるいは曝露）（対照）（アウトカム）の各項目を含めることにより文献検索を特異的に行うことができる。さらに（回答を提供できると考えられる研究デザイン）を明確にすることにより検索範囲を狭めることができる。
3. この利点を考慮し、以下のような作成用テーブルを考案し、班員全員でCQを考案した。

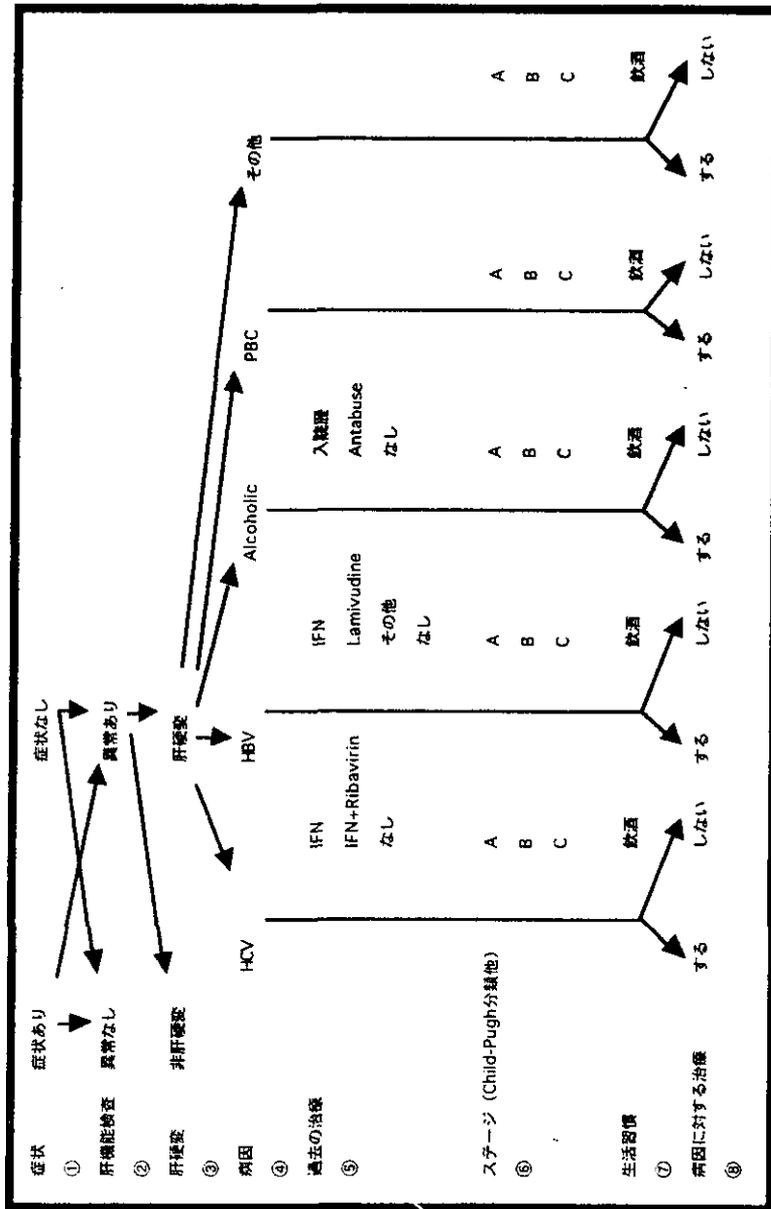
クリニカルクエスチョン作成用テーブル

分類	
番号	
クリニカルクエスチョン	
疾患/病態	
患者の特性	
予知因子：介入/暴露	
対照	
アウトカム	
解答が得られたら改善するアウトカムの分類	A：生存の便益 B：診断の改善 C：QOL (Quality of life) の改善 D：関係のある病態生理学的パラメーターの改善 E：医療費に対する影響
研究デザイン	MA RCT CCT CO CC CS CA UN
実行可能性	高 中 低 不明
予測される結果	
効果指標の大きさ(リスク比)	高(<0.5) 中(0.75-0.5) 低(>0.75) 不明
リスク	高 中 低 不明
コスト	高 中 低 不明
影響を受ける患者の割合	高(>50%) 中(25-50%) 低(<25%) 不明
解説	

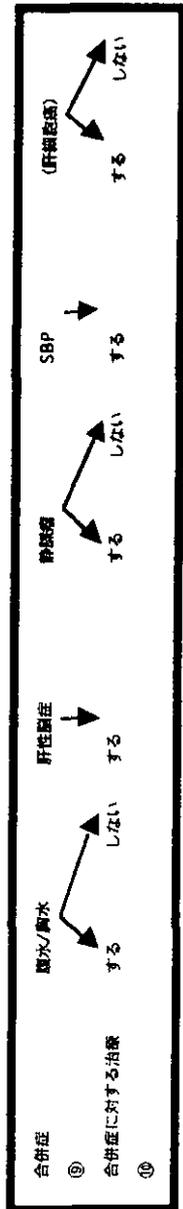
案として取り上げられた CQ は事務局と各分担研究者の間で数回やり取りし、完成度の高い CQ リストを作成した。このようにして作成されたリストが以下のものである。また、治療のアルゴリズムを作成し、そのアルゴリズムに基づいて疑問点を考慮すれば CQ の大きな欠落が防げると考えられたため、神奈川歯科大学内科 森實敏夫教授および新潟大学 市田隆文助教授にご協力頂き、アルゴリズムの作成も同時に行った。

アルゴリズムの案を次ページに示す。

肝硬変診療フローチャート



- ① 肝硬変に与えるさまざまな原因の発症率(感度)
それぞれの感度の特異度
- ② 各肝機能検査の感度、特異度
- ③ 肝硬変の診断：肝生検、US、CT、MRIなど画像検査の感度
血尿化学検査の感度、特異度
- ④ 肝硬変における以下の検査の感度、特異度
HCV Ab
HCV RNA
HBeAg
HBV DNA
飲酒歴
PBC診断基準
その他
- ⑤ 過去の治療の効果、肝硬変進行、肝細胞癌発生、生存、QOLに対する影響
- ⑥ ステージと予後（生存、合併症の発生、QOL）の關係
- ⑦ 飲酒の予後への影響
- ⑧ 肝硬変治療の治療効果：生存、肝細胞癌発生、合併症発生、QOL、進行
それぞれの合併症に対する治療の感度、特異度
- ⑨ それぞれの合併症に対する適切な治療
- ⑩ 血液検査の感度と進行段階
画像検査の感度と進行段階



診療ガイドライン報告書作成までの作業手順と役割分担

1. CQ 追加・変更	班員 (R)	
2. 全体の中で位置づけ採用・不採用を決定		事務局 (R)
3. CQ の分類と番号付け		事務局 (R)
4. 最終 CQ リストの作成		事務局 (R)
5. 最終 CQ リストの班員への送付		事務局 (R)
6. 全 CQ の承認		班員 (A)
7. 全 CQ の確定		事務局・班長
(A)		
8. 各 CQ に対する検索語句の選定、検索式作成用フォームに入力	班員 (R)	
9. 各 CQ に対する検索式の作成(複数)	IMIC (C)	
10. 検索式のチェック・変更の提示	事務局 (R)	
11. それぞれの検索式による 1 回目試験検索：文献数と最新 5 件のアブストラクトを提示	IMIC (C)	
12. 検索式のチェックと変更の提示（上位概念への変更も含む）	事務局 (R)	
13. それぞれの検索式による 2 回目試験検索：文献数と最新 5 件のアブストラクトを提示	IMIC (C)	
14. 検索式のチェックと必要に応じた変更の提示	事務局 (R)	
15. それぞれの検索式による 3 回目試験検索：全件含アブストラクト	IMIC (C)	
16. 検索式のチェックと必要に応じた変更の提示	事務局 (R)	
17. それぞれの検索式による 4 回目試験検索：全件含アブストラクト	IMIC (C)	
18. 検索結果の確定		事務局 (R)
19. それぞれの CQ ごとに複数の検索式の検索結果のマージ	IMIC (R)	
20. それぞれの CQ ごとにマージした検索結果の確定		事務局 (R)
21. 不要な文献を削除（一次選定）		事務局 (R)
22. 文献が存在しない場合 CQ を不採用にする	事務局 (R)	
23. CQ ごとの検索結果（アブストラクト含む）の担当班員への送付	IMIC (R)	
24. 担当班員による採用文献と不採用文献の選択と確定	班員 (A)	
25. 確定した採用、不採用文献のリストを事務局に送付	班員 (A)	
26. 採用文献について各班員の担当分の重複のマージ		IMIC (R)
27. 全班員にわたる重複の洗い出し		IMIC (R)
28. 全文献リストの作成		IMIC (R)
29. 全文献リストの確定		事務局 (A)
30. 班員間の重複分についてアブストラクト作成担当の割り当て	事務局 (R)	
31. 各班員へのアブストラクト作成の依頼送付		IMIC (R)
32. アブストラクト、アブストラクトテーブルの作成（エビデンスレベルの設定）		班員 (R)
33. アブストラクト、アブストラクトテーブルの事務局への提出	班員 (R)	
34. アブストラクト、アブストラクトテーブルのまとめ、編集	IMIC (R)	
35. 章立ての決定	事務局 (R)	
36. 章立ての承認	班長 (A)	
37. 各 CQ に対する推奨と根拠の執筆、章立ても送付		班員 (R)
38. 班長によるイントロダクションの執筆		班長 (R)
39. 追加分がある場合に原稿執筆を依頼	事務局 (R)	
40. 原稿の事務局への提出	班員 (R)	
41. 原稿のチェック		事務局
42. 章立てにしたがって、全体をまとめる		IMIC (R)
43. 最終原稿の作成		IMIC (R)
44. 最終原稿の承認		班員 (A)
45. 報告書冊子の作成		IMIC (R)

C : Consultation

A : Approval

R : Responsibility

I : Keep informed 原則としてすべてのステップについて班長

O : Ownership 班長

CQ 確定以後のプロセス：CQ ごとに見たマネージメント

分類	
番号	

1つのCQごとに、以下のステップを完了するたびにチェックを入れ、日付を記載し、最後までフォローする。

Step	Done	Date	Task	Whom	Data
1			CQの5項目に対する検索用語の選定の依頼：表形式の検索式作成用フォーム（Wordのファイル）を担当班員に送付する。締切日を指定すること	担当班員	Doc
2			締切日を過ぎた場合、1週間後に催促のメール発信。	担当班員	
3			検索式作成用フォームを受信したら、内容チェックを依頼。	事務局	
4			内容チェックの終了した検索式作成用フォームをIMICに送信し、検索式の作成を依頼。	IMIC	
5			IMICの作成した検索式を受信し、内容チェックを依頼。	事務局	
6			内容チェックの終了した検索式作成用フォームをIMICに送信し、第1回目の試験検索を依頼。	IMIC	
7			第1回試験検索の結果：文献数と最新5文献のアブストラクトから見た妥当性のチェックとそれぞれの検索式の調整を依頼。	事務局	
8			試験検索の結果によって調整された検索式作成用フォームをIMICに送信し、第2回目の試験検索を依頼。	IMIC	
9			第2回試験検索の結果：文献数と最新5文献のアブストラクトから見た検索式の妥当性のチェックを依頼。必要に応じて、検索式の調整を依頼。	事務局	
10			文献が存在しない場合、CQの不採用の決定を依頼。	事務局	
11			試験検索の結果によって調整された検索式作成用フォームをIMICに送信し、第3回目の試験検索（すべてアブストラクトを含む）を依頼。	IMIC	
12			第3回試験検索結果（すべてアブストラクトを含む）：検索結果から見た検索式の妥当性のチェックを依頼。	事務局	File Maker
13			試験検索の結果によって調整された検索式作成用フォームをIMICに送信し、第4回目の試験検索（すべてアブストラクトを含む）を依頼。	IMIC	
14			第4回試験検索結果（すべてアブストラクトを含む）：検索結果から見た検索式の妥当性のチェックおよび結果の確定を依頼。	事務局	
15			それぞれのCQごとに複数の検索式の検索結果のマージをIMICに依頼。	IMIC	
16			それぞれのCQごとにマージした検索結果の確定と不要な文献の削除を依頼（一次選定）。	事務局	
17			CQごとの検索結果（アブストラクト含む）を担当班員へ送付する。	班員	
18			担当班員による採用文献と不採用文献の選択（二次選定）と確定の結果の送付を各班員に依頼する。	班員	
19			採用文献について、1)各班員の担当分の重複のマージ、2)全班員にわたる重複の洗い出し、3)全文献をマージした全文献のリストの作成をIMICに依頼する。	IMIC	
20			全文献リストの確定、班員間の重複分についてアブストラクト作成担当の割り当ての決定を依頼。	事務局	
21			各班員ごとに必要な文献の全文コピーを入手をIMICに依頼する。	IMIC	
22			全文コピーの各班員への送付をIMICに依頼する。	IMIC	Paper Doc
23			アブストラクト、アブストラクトテーブルの作成（エビデンスレベルの設定）を各班員に依頼する。		
24			完成したアブストラクト、アブストラクトテーブル、エビデンスレベルの設定の送付を各班員に依頼する。	班員	
25			各班員から回収したアブストラクト、アブストラクトテーブルのまとめ、編集をIMICへ依頼する。	IMIC	
26			各CQに対する推奨と根拠の執筆を各班員に依頼する。	班員	
27			原稿の事務局への送付を各班員に依頼する。	班員	
28			原稿のチェックを依頼する。	事務局	

D. 考察

個別研究より得られた成績は、肝硬変の診療において現状の治療法にはまだ問題点があることが明らかとなった。

分枝鎖アミノ酸投与は日本からはじまった治療法であるが、投与方法の検討はなされていなかった。今回の研究では就寝前投与方法の有効性が明らかになったことから、その成果の発表を通して普及に心掛けなければならない。

食道静脈瘤の治療、経過観察についても治療法の選択、治療後の経過観察の間隔につき研究を進行中であり、ガイドラインに盛り込む予定である。

腹水の利尿剤投与は海外の投与方法がガイドラインとして用いられているが、日本人の体格に適していない可能性があるため、今後の検討により適切な投与方法を求め、ガイドラインに反映したいと考えている。

肝性脳症・細菌性腹膜炎の診断や肝線維化の新たな診断法について本研究班にて検討しているの、肝硬変診療のガイドラインには診断についても含める必要があるのではないかと考えられた。

これら合併症の診断、治療法ばかりでなく肝炎ウイルスやアルコール、自己免疫などの原因についても言及し、その診断、対策について実際の臨床に即したガイドラインの作成が必要と考えている。

E. 結論

本研究班では、今後も診療ガイドライン作成に向け、従来の治療法の見直しと新たな治療法の開発を行っていく必要性があると考えた。

またガイドラインによる標準的診療と医療費の見直しにより今後の肝硬変診療水準の向上と経済効果が期待できるものと考えている。

F. 健康危険情報

特に記載すべきものなし

G. 研究発表

1 肝線維化評価におけるエラストメーターの有用性、多田慎一郎、齋藤英胤、石井裕正、ワークショップ：肝線維化

治療の評価法、第45回日本消化器病学会総会 (DDW-Japan 2003 OSAKA)

- 2 高齢者に対する低侵襲性診断：肝線維化のエラストメーターによる測定、齋藤英胤、多田慎一郎、中本伸宏、岩井宏方、石井裕正、第6回日本高齢消化器医学会議
- 3 コリン欠乏ラット肝の脂肪化および線維化に対するアンジオテンシン II 受容体拮抗薬の抑制効果、北村公美、多田慎一郎、中本伸宏、戸田京子、栗田聡、齋藤義正、常松 令、熊谷直樹、齋藤英胤、石井裕正、第89回日本消化器病学会総会、04/26/03、さいたま
- 4 Kitamura K, Toda K, Tsunematsu S, Kumagai N, Horikawa H, Nakamoto N, Saito H, Ishii H. Possible involvement of rho-kinase pathway in the tissue angiotensin system of the hepatic fibrogenesis. 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. 10/24/03, Boston, USA (Hepatology 38(4), 332A-333A, 2003)
- 5 Tada S, Nakamoto N, Kameyama K, Tsunematsu S, Kumagai N, Saito H, Ishii H. Clinical usefulness of edaravone for acute liver injury. J Gastroenterol Hepatol 18(7), 851-857, 2003
- 6 Nakamoto N, Tada S, Kameyama K, Kitamura K, Kurita S, Saito Y, Saito H, Ishii H. A free radical scavenger, edaravone, attenuates steatosis and cell death via reducing inflammatory cytokine production in rat acute liver injury. Free Radic Res 37(8), 849-859, 2003
- 7 Horie Y, Yamagishi Y, Kato S, Kajihara M, Kimura H, Ishii H. Low-dose ethanol attenuates gut ischemia/reperfusion-induced liver injury in rats via nitric oxide production. J Gastroenterol Hepatol 18, 211-217, 2003
- 8 Ishii H, Adachi M, Jose C, Fernandez-Checa, Arthur I, Cederbaum, Ion V, Deaci U, Amin A, Nanji. Role of Apoptosis in Alcoholic Liver Injury. Alcohol Clin Exp Res 27, 1207-1212, 2003
- 9 Kajihara M, Kato S, Okazaki Y, Kawakami Y, Ikeda Y, Ishii H, Kuwana M. A role of autoantibody-mediated platelet destruction in thrombocytopenia in patients with cirrhosis. Hepatology 37(6), 1267-1276,

- 2003
- 10 加藤章信, 岩井正勝, 鈴木一幸: 肝性脳症の機序と潜在性肝性脳症の診断. 肝胆膵 47: 63-73 2002
 - 11 鈴木一幸: 肝性脳症の治療. 「先端医療シリーズ 25 肝・胆・膵疾患の最新の治療」戸田剛太郎, 沖田 極, 松野正紀編, 寺田国際事務所/先端医療技術研究所, 東京, 2003, 145-151
 - 12 鈴木一幸: 肝性脳症と血液アンモニア. 「肝疾患診療のコツと落とし穴」井廻道夫編, 中山書店, 東京, 2002, 34-35
 - 13 鈴木一幸: 軽度の肝性脳症(潜在性肝性脳症)は診断可能か? 「消化器診療二頁の秘訣」加嶋 敬編, 金原出版, 東京, 2002, 124-125
 - 14 遠藤龍人, 鈴木一幸: 肝疾患の所見. 救急医学 27: 532-533, 2003
 - 15 岩井正勝, 遠藤龍人, 滝川康裕, 加藤章信, 鈴木一幸: 肝不全の輸液療法と栄養補給. 臨床と研究 80: 1006-1012, 2003
 - 16 Fukushima H, Miwa H, Tomita E, Moriwaki H, et al. Nocturnal branched-chain amino acid administration improves protein metabolism in patients with liver cirrhosis: comparison with daytime administration The 8th Congress of Parenteral and Enteral Nutrition Society of Asia 2002年11月6日 高知
 - 17 Fukushima H, Miwa Y, Ida E, Moriwaki H, et al: Nocturnal branched-chain amino acid administration improves protein metabolism in patients with liver cirrhosis: comparison with daytime administration. J Parenter Enteral Nutr. 2003; 27: 315-22.
 - 18 長田成彦, 渡辺勲史, 轟内博康, 他: 肝癌合併、非合併食道静脈瘤に対するEIS、EVLの治療効果の比較. 第10回日本門脈圧亢進症学会総会. 横浜. 9.11-12, 2003
 - 19 市田隆文: 肝移植時のB型肝炎ウイルスとC型肝炎ウイルス再感染の予防と治療. 肝胆膵 2003; 47(5): 715-724.
 - 20 Ichida T: Artificial liver support system for fulminant hepatic failure as bridge-use to living donor liver transplantation. Internal Med 2003; 42(10): 920-921.
 - 21 市田隆文: 生体肝移植におけるドナー選択のピットホール. 今日の移植 2003; 16(5): 440-450
 - 22 市田隆文: バイオ人工肝臓の臨床成績と適応. 細胞 2003; 35(12): 456-458
 - 23 Ichida T: Living donor liver transplantation for autoimmune hepatitis in Japan. The Second Single Topics Conference of Japanese Society of Hepatology, 2004-10-13, (Otsu, Shiga)
 - 24 Kuriyama S, Tsujinoue H, Yoshiji H. Immune response to suicide gene therapy. In: Suicide Gene Therapy: Methods and Reviews. Springer CJ, ed. Humana Press, Totowa, New Jersey, pp353-369, 2003.
 - 25 Yoshiji H, Kuriyama S, Fukui H. Renin-angiotensin system and hepatocellular carcinoma: role of angiogenesis. In: Recent Research Development in Cancer Vol 5. Mukhtar H, Labrie F, eds. Transworld Research Network, Kerala, India, pp39-51, 2003.
 - 26 Murota M, Watanabe S, Fujita J, Ohtsuki Y, Wu F, Yoshida S, Kita Y, Funakoshi F, Masaki T, Kurokohchi K, Uchida N, Ishida T, Kuriyama S. Aberrant cyokeratin expression and high susceptibility to apoptosis in autoimmune hepatitis. Hepatol Res 25: 271-280, 2003.
 - 27 Kobara H, Uchida N, Tsutsui K, Kurokohchi K, Fukuma H, Ezaki T, Kuriyama S. Abnormal bile flow in patients with achalasia. J Gastroenterol 38: 327-331, 2003.
 - 28 Wakabayashi H, Ushiyama T, Ishimura K, Izuishi K, Karasawa Y, Masaki T, Watanabe S, Kuriyama S, Maeta H. Significance of reduction surgery in multidisciplinary treatment of advanced hepatocellular carcinoma with multiple intrahepatic lesions. J Surg Oncol 82: 98-103, 2003.
 - 29 Masaki T, Shiratori Y, Rengifo W, Igarashi K, Yamagata M, Kurokohchi K, Uchida N, Miyauchi Y, Yoshiji H, Watanabe S, Omata M, Kuriyama S. Cyclins and cyclin-dependent kinases: comparative study of hepatocellular carcinoma versus cirrhosis. Hepatology 37: 534-543, 2003.
 - 30 Li J-Q, Kubo A, Wu F, Usuki H, Fujita J, Bandoh S, Masaki T, Saoo K, Takeuchi H, Kobayashi S, Imaida K, Maeta H, Ishida T, Kuriyama S. Cyclin B1, unlike cyclin G1,

- increases significantly during colorectal carcinogenesis and during later metastasis to lymph nodes. *Int J Oncol* 22: 1101-1110, 2003.
- 31 Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Yanase K, Namisaki T, Yamazaki M, Tsujinoue H, Imazu H, Fukui H. Extracellular matrix remodeling may predominate over hepatocyte injury in hepatocellular carcinoma development. *Oncol Rep* 10: 957-962, 2003.
 - 32 Ikenaka Y, Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Noguchi R, Tsujinoue H, Yanase K, Namisaki T, Imazu H, Masaki T, Fukui H. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) inhibits tumor growth and angiogenesis in the timp-1 transgenic mouse model. *Int J Cancer* 105: 340-346, 2003.
 - 33 Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Yanase K, Namisaki T, Yamazaki M, Tsujinoue H, Imazu H, Fukui H. The copper-chelating agent, trientine, attenuates liver enzyme-altered preneoplastic lesions in rats by angiogenesis suppression. *Oncol Rep* 10: 1369-1373, 2003.
 - 34 Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Hicklin D-J, Wu Y, Yanase K, Namisaki T, Yamazaki M, Tsujinoue H, Imazu H, Masaki T, Fukui H. Vascular endothelial growth factor and receptor interaction is a prerequisite for murine hepatic fibrogenesis. *Gut* 52: 1347-1354, 2003.
 - 35 Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Yanase K, Namisaki T, Yamazaki M, Tsujinoue H, Imazu H, Fukui H. Angiotensin-II induces the tissue inhibitor of metalloproteinases-1 through the protein kinase-C signaling pathway in rat liver fibrosis development. *Hepatol Res* 27: 51-56, 2003.
 - 36 Iihara N, Kurokohchi K, Tsukamoto T, Masaki T, Kuriyama S, Ohnishi H, Taminato T, Morita S. Hypoglycaemia in patients with liver diseases administered levothyroxine. *J Clin Pharm Ther* 28: 355-361, 2003.
 - 37 Li J-Q, Wu F, Usuki H, Kubo A, Masaki T, Fujita J, Bandoh S, Saoo K, Takeuchi H, Kuriyama S, Ishida T, Imaida K. Loss of p57^{KIP2} is associated with colorectal carcinogenesis. *Int J Oncol* 23: 1537-1543, 2003.
 - 38 Uchida N, Tsutsui K, Ezaki T, Fukuma H, Kobara H, Kamata H, Aritomo Y, Masaki T, Watanabe S, Kobayashi S, Nakatsu T, Nakano H, Kuriyama S. Combination of assay of human telomerase reverse transcriptase mRNA and cytology using bile obtained by endoscopic transpapillary catheterization into the gallbladder for diagnosis of gallbladder carcinoma. *Am J Gastroenterol* 98: 2415-2419, 2003.
 - 39 Noguchi R, Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Ikenaka Y, Yanase K, Namisaki T, Kitade M, Yamazaki M, Mitoro A, Tsujinoue H, Imazu H, Masaki T, Fukui H. Combination of interferon- β and the angiotensin-converting enzyme inhibitor, perindopril, attenuates murine hepatocellular carcinoma development and angiogenesis. *Clin Cancer Res* 9: 6038-6045, 2003.
 - 40 Uchida N, Tsutsui K, Ezaki T, Fukuma H, Masaki T, Kobara H, Watanabe S, Kuriyama S. Conversion from external nasobiliary drainage to internal drainage using endoscopically available scissor forceps. *Hepatogastroenterology* 50:1891-1893, 2003.
 - 41 Watanabe S, Uchida N, Masaki T, Kurokohchi K, Touge T, Kuriyama S, Ohnishi Y, Tanaka H, Kurose T, Hata T. Measurement of left portal vein blood flow velocity by doppler sonography in a patient with acute fatty liver of pregnancy. *J Med Ultrasound* 30: 57-61, 2003.
 - 42 Uchida N, Tsutsui K, Kobara H, Ezaki T, Fukuma H, Yachida M, Masaki T, Watanabe S, Nakatsu T, Nakano H, Kuriyama S. A case of gallbladder carcinoma diagnosed preoperatively by the detection of human telomerase reverse transcriptase mRNA in endoscopically obtained gallbladder bile. *Endoscopy* 35: 185-188, 2003.
 - 43 Tsujimoto T, Kuriyama S, Yoshiji H, Fujimoto M, Kojima H, Yoshikawa M, Fukui H. Ultrasonographic findings of amebic colitis. *J Gastroenterol* 38: 82-86, 2003.
 - 44 Akahane T, Kuriyama S, Matsumoto M, Kikuchi E, Kikukawa M, Yoshiji H, Masui K, Fukui H. Pancreatic pleural effusion with a pancreaticopleural fistula diagnosed by magnetic resonance

- cholangiopancreatography and cured by somatostatin analogue treatment. *Abdom Imaging* 28: 92-95, 2003.
- 45 Uchida N, Ezaki T, Fukuma H, Tsutsui K, Kobara H, Matsuoka M, Masaki T, Watanabe S, Yoshida M, Maeta T, Koi F, Nakatsu T, Kuriyama S. Concomitant colitis associated with primary sclerosing cholangitis. *J Gastroenterol* 38: 482-487, 2003.
- 46 Kurokohchi K, Masaki T, Arima K, Miyauchi Y, Funaki T, Yoneyama H, Yoshida S, Deguchi A, Nakai S, Watanabe S, Kuriyama S. CD28-negative CD8-positive cytotoxic T lymphocytes mediate hepatocellular damage in hepatitis C virus infection. *J Clin Immunol* (in press).
- 47 Yuji J, Masaki T, Yoshida S, Kita Y, Feng H, Uchida N, Yoshiji H, Kitanaka A, Watanabe S, Kurokohchi K, Kuriyama S. Identification of p46 Shc expressed in the nuclei of hepatocytes with high proliferating activity: study of regenerating rat liver. *Int J Mol Med* (in press).
- 48 Kita Y, Masaki T, Funakoshi F, Yoshida S, Tanaka M, Kurokohchi K, Uchida N, Watanabe S, Matsumoto K, Kuriyama S. Expression of G1 phase-related cell cycle molecules in naturally developing hepatocellular carcinoma of Long-Evans Cinnamon rats. *Int J Oncol* (in press).
- 49 Funakoshi F, Masaki T, Kita Y, Hitomi M, Kurokohchi K, Uchida N, Watanabe S, Yoshiji H, Kuriyama S. Proliferative capability of hepatocytes and expression of G1-related cell cycle molecules in the development of liver cirrhosis in rats. *Int J Mol Med* (in press).
- 50 Kinekawa F, Kubo F, Matsuda K, Fujita Y, Kobayashi M, Funakoshi F, Uchida N, Watanabe S, Tomita T, Uchida Y, Kuriyama S. Effect of an aldose reductase inhibitor on esophageal dysfunction in diabetic patients. *Hepatogastroenterology* (in press).
- 51 Tanaka M, Watanabe S, Masaki T, Kurokohchi K, Kinekawa F, Inoue H, Uchida N, Kuriyama S. Fulminant hepatic failure caused by malignant melanoma of unknown primary origin. *J Gastroenterol* (in press).
- 52 吉田周平、正木 勉、松村 正、宮内嘉明、舟木利治、行政聡子、小原英幹、韓 峰、金 玉姫、黒河内和貴、佐々原勝幸、高杉健太、渡辺精四郎、栗山茂樹. ヒト肝細胞癌における Shc の発現増強とその局在. 第 39 回日本肝臓学会総会. 2003.5.22-23, 福岡.
- 53 正木 勉、韓 峰、金 玉姫、田中美鈴、吉田周平、行政聡子、木田裕子、船越文美、宮内嘉明、舟木利治、小原英幹、黒河内和貴、渡辺精四郎、栗山茂樹. 肝細胞癌における癌遺伝子 c-Yes の活性化. 第 39 回日本肝臓学会総会. 2003.5.22-23, 福岡.
- 54 木田裕子、正木 勉、船越文美、田中美鈴、行政聡子、宮内嘉明、舟木利治、黒河内和貴、渡辺精四郎、栗山茂樹. LEC ラットの肝癌発生過程における細胞周期関連遺伝子の発現レベルの検討. 第 39 回日本肝臓学会総会. 2003.5.22-23, 福岡.
- 55 池中康英、吉井純一、野口隆一、山崎正晴、栗山茂樹、築瀬公嗣、浪崎 正、吉治仁志. ワークショップ 1「湿潤・転移モデル(I)」TIMP-1 トランスジェニックマウスを用いた外因性 TIMP-1 のマウス腫瘍発育におよぼす影響. 第 12 回日本がん転移学会学術集会. 2003.6.27-28, 金沢.
- 56 吉治仁志、吉井純一、池中康英、野口隆一、築瀬公嗣、浪崎 正、山崎正晴、栗山茂樹. ワークショップ 3「血管新生」Retro-Tet system を用いた VEGF 腫瘍増大作用に対する VEGFR-1、VEGFR-2 各受容体. 第 12 回日本がん転移学会学術集会. 2003.6.27-28, 金沢.
- 57 吉井純一、池中康英、野口隆一、築瀬公嗣、浪崎 正、山崎正晴、栗山茂樹、吉治仁志. ワークショップ 3「血管新生」銅キレート剤を用いた血管新生阻害による肝癌抑制作用. 第 12 回日本がん転移学会学術集会. 2003.6.27-28, 金沢.
- 58 築瀬公嗣、吉井純一、池中康英、野口隆一、浪崎 正、山崎正晴、栗山茂樹、吉治仁志. ワークショップ 3「血管新生」血管新生阻害に基づく肝癌治療の可能性: 低用量 ACE 阻害剤、5-FU 併用の肝癌発育抑制効果. 第 12 回日本がん転移学会学術集会. 2003.6.27-28, 金沢.

- 59 浪崎 正、池中康英、吉井純一、築瀬公嗣、野口隆一、山崎正晴、栗山茂樹、吉治仁志. ワークショップ 7「分子標的治療」インターフェロンと ACE 阻害剤の VEGF 阻害作用に基づく肝癌発育抑制に対するアジュバント効果. 第 12 回日本がん転移学会学術集会. 2003.6.27-28, 金沢.
- 60 吉田周平、正木 勉、黒河内和貴、木田裕子、田中美鈴、舟木利治、辻之上裕久、吉治仁志、栗山茂樹. 肝発癌過程における Shc の動態：ヒト肝細胞癌における検討. 第 62 回日本癌学会総会. 2003.9.25-27, 名古屋.
- 61 池中康英、吉治仁志、吉井純一、野口隆一、築瀬公嗣、浪崎 正、北出光輝、山崎正晴、美登路 昭、辻之上裕久、栗山茂樹、福井 博. 肝発癌過程における肝細胞癌と細胞外マトリックスの役割. 第 62 回日本癌学会総会. 2003.9.25-27, 名古屋.
- 62 木田裕子、正木 勉、船越文美、黒河内和貴、吉田周平、宮内嘉明、樋本尚志、吉治仁志、栗山茂樹. 肝発癌過程における細胞周期関連分子の発現変化：LEC ラットを用いた検討. 第 62 回日本癌学会総会. 2003.9.25-27, 名古屋.
- 63 吉治仁志、吉井純一、池中康英、野口隆一、築瀬公嗣、浪崎 正、北出光輝、山崎正晴、美登路 昭、辻之上裕久、栗山茂樹、福井 博. 肝発癌および自然肺転移過程における VEGFR-1、VEGFR-2 受容体の役割. 第 62 回日本癌学会総会. 2003.9.25-27, 名古屋.
- 64 築瀬公嗣、吉治仁志、吉井純一、池中康英、野口隆一、浪崎 正、北出光輝、山崎正晴、美登路 昭、栗山茂樹、福井 博. 血管新生阻害による ACE 阻害剤、低用量 5-FU 併用による肝癌発育抑制効果. 第 62 回日本癌学会総会. 2003.9.25-27, 名古屋.
- 65 飯領田久巳男、渡辺精四郎、木田裕子、船越文美、黒河内和貴、西岡幹夫、栗山茂樹. 低用量インターフェロン療法により著効を呈した後に自己免疫性肝炎を発症した血小板 5.5 万の C 型肝硬変の 1 例. 第 45 回日本消化器病学会大会. 2003.10.15-17, 大阪.
- 66 辻之上裕久、櫻井伸也、中谷吉宏、北出光輝、吉治仁志、栗山茂樹、福井 博. アドリアマイシン、ビンブラスチン、マイトマイシン C を用いた MDR-1 発現肝癌細胞に対する electrochemotherapy の有用性. 第 45 回日本消化器病学会大会. 2003.10.15-17, 大阪.
- 67 木田裕子、正木 勉、船越文美、田中美鈴、宮内嘉明、舟木利治、黒河内和貴、渡辺精四郎、栗山茂樹. LEC ラットの肝発癌における細胞周期関連分子および細胞増殖因子の発現変動に関する検討. 第 7 回日本肝臓学会大会. 2003.10.15-16, 大阪.
- 68 吉田周平、正木 勉、韓 峰、金玉姫、行政聡子、舟木利治、宮内嘉明、小原英幹、内田善仁、渡辺精四郎、黒河内和貴、栗山茂樹. 肝細胞癌における Shc の発現増強とその局在：ヒトおよびラットにおける検討. 第 7 回日本肝臓学会大会. 2003.10.15-16, 大阪.
- 69 船越文美、正木 勉、木田裕子、田中美鈴、宮内嘉明、舟木利治、黒河内和貴、渡辺精四郎、栗山茂樹. 肝硬変形成過程における INK ファミリー(p16^{INK4A}, p15^{INK4B}, p18^{INK4C})の発現レベルの検討：real-time RT-PCR 法を用いた検討. 第 7 回日本肝臓学会大会. 2003.10.15-16, 大阪.
- 70 金玉姫、正木 勉、吉田周平、韓 峰、行政聡子、舟木利治、宮内嘉明、小原英幹、渡辺精四郎、黒河内和貴、栗山茂樹. 肝再生過程における Shc の発現増強とその局在_p46Shc は増殖肝細胞の核に強発現する. 第 7 回日本肝臓学会大会. 2003.10.15-16, 大阪.
- 71 樋本尚志、宮内嘉明、舟木利治、正木 勉、黒河内和貴、杵川文彦、井上秀幸、渡辺精四郎、栗山茂樹. IGF-II mRNA 結合蛋白に対する自己抗体の意義：肝細胞癌患者における検討. 第 35 回日本肝臓学会西部会. 2003.11.28-29, 岡山.

H. 財産権の出願・登録状況
特に記載すべきものなし

個別研究

分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）
末期肝硬変に対する治療に関する研究
平成15年度分担研究報告書

肝硬変における脳内 glutamine、glutamate 代謝異常 -3.0teslaMRS を用いた検討-

分担研究者 鈴木一幸 岩手医科大学第一内科教授

研究要旨 磁気共鳴分析法(MRS)による検討で、肝硬変では glutamine (Gln)と glutamate (Glu)の総和の上昇という脳内物質代謝異常がみられ、astrocyte の機能異常との関連から注目されている。しかし、従来の MRS では Gln と Glu との分離は困難であり、物質分解能の高い高磁場 MR 装置と新しく開発した data 処理方法を用いて Gln と Glu の分離を試みた。脳疾患既往のない肝硬変 23 例を対象とした。対照は健常成人 11 例である。3.0teslaMR 装置を用い、被検者の後頭葉灰白質に関心領域を設定し ¹H (proton)-MRS を施行した。3.0teslaMR により脳内 Glu、Gln の分離は可能であった。さらに、肝硬変では対照に比し脳内 Gln の信号強度は有意 ($p<0.05$) に高値であった。一方、Glu の信号強度は差がなかった。以上の成績より高磁場 MRS により、脳内 Glu と Gln の分離が可能となり、肝硬変でみられる脳内 Glu と Gln の総和の増加は、Gln によることが明らかとなった。

研究協力者

加藤章信（岩手医科大学第一内科助教授）
岩井正勝（岩手医科大学第一内科助手）

A. 研究目的

肝性脳症は肝硬変に見られる合併症で、意識障害を中心とする精神神経症状の総称である。非代償性肝硬変で代表される慢性肝不全では、アンモニアを含む中毒物質が長期間に神経系へ曝露されることにより神経伝達物質や受容体さらに血液脳関門の異常が生じ、その結果、中毒物質に対する感受性が亢進し、肝性脳症を引き起こし易くなっている。このような脳の状態は「過敏な脳」と呼ばれ、そこに様々な誘因が加わることにより肝性脳症が発症すると言われている。

最近、肝性脳症の発症機序として、脳内中毒物質の増加に伴う astrocyte の機能異常が注目されている。すなわち、アンモニアを含む中毒物質を脳内で代謝するために、astrocyte 内の glutamine(Gln)濃度が増加し、その結果

astrocyte は腫脹し機能異常をきたすという説である。磁気共鳴分析法(MRS)による検討では、顕性脳症のない肝硬変でも既に Gln 濃度は上昇していることが報告されている。しかしながら、従来からの 1.5tesla の MRS では Gln と glutamate (Glu) との分離は困難であり、Gln と Glu の総和をもって Gln の増加としている。従って、Gln のみが増加しているのか、Gln、Glu の各々が増加しているのか、その詳細は明らかではない。そこで物質分解能の高い高磁場 MR 装置を用いて Gln と Glu の分離を試みた。

B.研究方法

岩手医大第一内科入院中の脳疾患既往歴のない肝硬変症例 23 例（男性 15 例、女性 8 例）、平均年齢 61 歳(mean±SD;60.7±10.8) を対象とした。肝硬変の診断は

腹部超音波検査、CT等の画像検査や組織学的検査、血液生化学検査などにより総合的に診断した。病因別の内訳はアルコール性1例、ウイルス性22例(C型14例、B型2例、C+アルコール4例)不明2例、Child-Pugh分類A2例、B18例、C3例である。既往に肝疾患がなく、また器質的脳疾患のない健常成人11例(男性9例、女性2例)、平均年齢(mean±SD;38.5±11)を対照とした。

磁気共鳴装置は、GE社製SIGNA Horizon LX VH/i 3.0 tesla であり、PRESS法により被検者の後頭葉灰白質に立方体の(20mm×20mm×20mm)の関心領域を設定し、¹H(proton)-MRスペクトルを測定した(図1)。

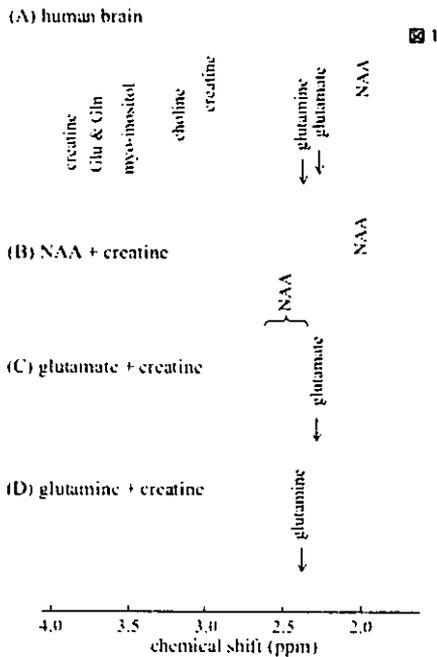


図1. 被検者の脳及び参照溶液の¹H-MRスペクトル。
溶液のスペクトルは、in vivo のスペクトルと対応させるため、10Hzのフィルターを使用した。測定条件は対象はPRESS法、TR=2000ms、TE=60ms、NS=192。
Phantom溶液は測定条件: PRESS法、20mm x 20mm x 20mm、TR=3000ms、TE=60ms、NS=64とした
(A): 肝硬変症例の脳の¹H-MRスペクトル。後頭葉灰白質に、20mm x 20mm x 20mm の領域を設定し、スペクトルを得た。
(B): NAA定量のための参照スペクトル。NAAと

クレアチンを pH7.4 のリン酸緩衝溶液に溶解し用いた。各々の濃度は、5.0 mM とした。

(C): グルタミン酸定量のための参照スペクトル。グルタミン酸とクレアチンを pH7.4 のリン酸緩衝溶液に溶解し用いた。各々の濃度は、5.0 mM とした。

(D): グルタミン定量のための参照スペクトル。グルタミンとクレアチンを pH7.4 のリン酸緩衝溶液に溶解し用いた。各々の濃度は、5.0 mM とした。

測定条件は、繰り返し時間(TR): 2000ms、エコー時間(TE): 60ms、加算回数(NS): 192 回とした。スペクトルより、N-アセチルアスパラギン酸(NAA)、グルタミン酸(Glu)、グルタミン(Gln)、クレアチン(Crn)を定量するため、あらかじめ各物質の既知濃度の phantom 溶液を作成しスペクトルの信号強度を測定した。Phantom 溶液は pH7.4 のリン酸緩衝液を用いそれぞれの物質が 5mmol/L に調整して測定した。

磁気共鳴装置を用いた非侵襲的な測定の場合、代謝物の絶対量の測定は困難であることからと Glu, Gln の量は、NAA の含量を内部基準としたモル比として求めた。

過去のMR装置を用いた報告では、二つの異なるエコー時間の両方のスペクトルを用いることで、Gluの定量が可能である事が示唆されていた。そこで我々は3.0 teslaのMR装置を用いて様々なTEでの測定を試みたところ、3.0 teslaのMR装置では、TE=60ms のスペクトルのみでGluとGlnの信号の分離同定が可能であった。図2には、被検者の脳MRスペクトルと共に、NAA、Glu、Glnを分離定量するために用いた基準の物質のスペクトルを示した。(A)は肝硬変症例のスペクトル、(B)は基準となる溶液のNAAとCrnのスペクトル、(C)はGluとCrnのスペクトル、(D)はGlnとCrnのスペクトルを示した。それぞれの物質の特徴的なスペクトルが見られており、2.3ppm付近にGlu、Glnの信号が見られる。

脳内のGlu、Glnの分離定量は、MR装置から生データをPCに転送し、GRAMS/32:Galactic Industries

Corp., Salem, NH, USAとExcel:Microsoft Corp. Tokyo Japanを用いて、コンピュータ処理により行った。実際の新しく開発した分離定量方法の流れを次に示す(図2)。

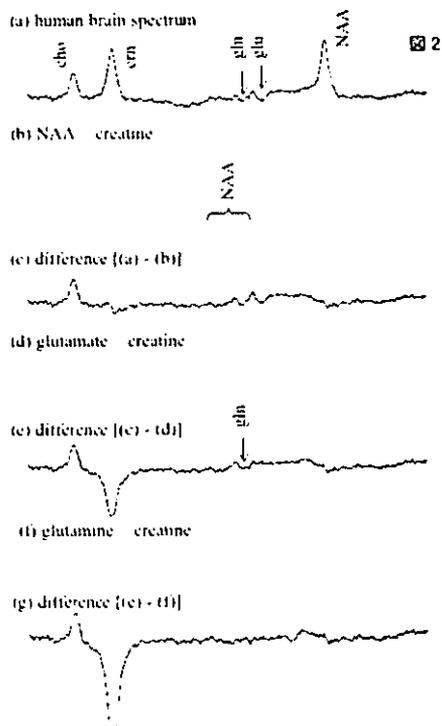


図2. グルタミン、グルタミン酸の定量法
 (a): 肝硬変症例の脳¹H-MRスペクトル
 (b): NAA定量の為の参照スペクトル
 (c): (a)-(b)の差スペクトル
 (d): グルタミン酸定量の為の参照スペクトル
 (e): (c)-(d)の差スペクトル
 (f): グルタミン定量の為の参照スペクトル
 (g): (e)-(f)の差スペクトル

(1) 被検者のスペクトル(a)より、NAAのスペクトル(b)を差し引きし、NAAの量を求めた。差スペクトル(c)上で、2ppmのNAAのメチル基の信号が無くなることで、NAAの量を求めることができる。

(2) (1)で得られた差スペクトル(c)より、更にGluのスペクトル(d)を差し引きし、Gluの量を求めた。2.3ppm付近のGluの信号を指標とした(e)。(3)

(2)で得られた差スペクトル(e)より、更にGlnのスペクトル(f)を引き去り、Glnの量を求めた。2.4ppm付近のGlnの信号を指標とした(g)。

数値データは、平均値 ± 標準偏差で示した。2群間の数値の比較には、Student's t 検定と Mann-Whitney の U 検定を用いた。相関の検定には Fisher's PSLD 法を用いた。p<0.05 を有意とした。尚、MRS の測定に当たっては個人の情報が漏れぬよう倫理面に配慮した。

C. 研究結果

脳内グルタミン、グルタミン酸濃度の健常者との比較 (Table 1)

Table 1 肝硬変および対照の脳内Glu, Gln濃度

	gln/naa(molar ratio)	glu/naa (molar ratio)
controls (11)	0.473 ± 0.08	0.573 ± 0.06
liver cirrhosis (23)	0.658 ± 0.23*	0.648 ± 0.15
severity of hepatic function		
grade A (2)	0.937 ± 0.26	0.629 ± 0.15
grade B (18)	0.620 ± 0.23	0.652 ± 0.17
grade C (3)	0.697 ± 0.12	0.634 ± 0.08

*control vs liver cirrhosis (p<0.05)

脳内の(Glu+Gln)/NAA [Gln と Glu の総和と NAA とのモル比]は、肝硬変(1.305 ± 0.11)で対照(1.046 ± 0.01)に比し有意(p<0.05)に高値であった。さらに脳内 Gln/NAA モル比は肝硬変(0.658 ± 0.23)は健常者(0.437 ± 0.08)に比し有意(p<0.05)に高値であった。一方、Glu/NAA モル比は対照(0.648 ± 0.15)と肝硬変(0.573 ± 0.06)の間で差はなかった。

D. 考察

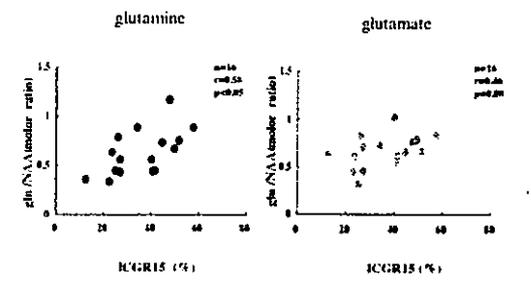
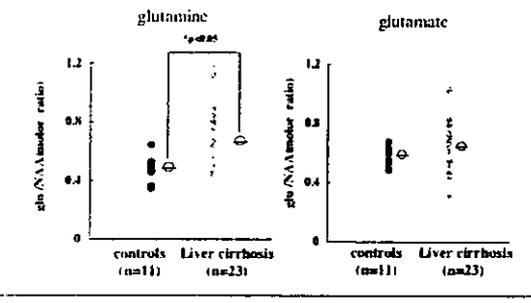
肝硬変に対し、高磁場 MR 装置による¹H-MRS を施行し、新しく開発した data 処理法により検討したところ、脳内 Gln と Glu の分離同定が可能となった。さらに健常者に比較し肝硬変では、脳内 Gln と Glu の信号強度の総和 (Glx) の増加とともに Gln 信号強度の増加を認めた。一方、脳内 Glu の信号強度は健常者と差を認めなかった。さらに Gln の信号強度は ICGR15(%)と正の相関を認めた。アンモニアを含む血液生化学検査とは相関はなかった。従来の検討で、肝硬変にお

ける脳内 Glx の信号強度の増加が認められていたが、今回の検討でその増加は Gln によることが明らかとなった。

Table 2 Correlation matrix of MR findings & blood chemistry data

	glu/naa		glu/naa	
	r	P	r	P
B-NH3	0.063	0.778	0.079	0.721
T-Bil	0.276	0.290	0.172	0.516
albumin	0.191	0.388	0.010	0.971
PT(%)	0.023	0.918	0.097	0.715
Fischer's ratio	0.028	0.941	0.171	0.463
AAA	0.293	0.200	0.005	0.983
glutamate (blood plasma)	0.300	0.146	0.107	0.423
glutamine(blood plasma)	-0.120	0.609	0.183	0.432
ICG-R15	0.584	0.016	0.455	0.070

Abbreviation: B-NH3 = blood ammonia, PT = prothrombin time, AAA = albumin-aminor acid



肝性脳症は劇症肝炎や肝硬変などの重篤な肝障害が原因で生ずる意識障害を中心とする精神神経症状であり、通常の昏睡度分類では正常と判断され、定量的な精神神経機能検査などによりはじめて異常を指摘できるような軽微なものから、刺激を加えてもまったく反応しない深昏睡までその重症度には幅がある。

最近、肝性脳症の成因としてアストロサイト（星状膠細胞）の腫脹が注目されている。すなわち、アストロサイト

(astrocyte)は脳内では唯一、Gln の合成によりアンモニアを解毒しているコンパートメントであり、最近の ¹H-MRS を用いた検討では、慢性の肝性脳症ではアストロサイトの細胞容積の平衡が障害されていることが明らかとなっている。すなわち、アストロサイトの構成成分であるミオイノシトールは有機電解質として作用し、浸透圧上昇に伴う細胞の腫脹により細胞外へ放出される。肝性脳症では ¹H-MRS における脳内の Glx の信号強度は増加し、ミオイノシトールの信号は著しく低下し、このような変化は肝性脳症の昏睡度に相関するとの報告がある。肝性脳症では脳内で増加したアンモニアを代謝するために、Glx の濃度はアストロサイト内で上昇し、結果としてアストロサイトは腫脹する。

アストロサイトを腫脹させる物質としてはアンモニアだけではなく低ナトリウム血症やいくつかの神経伝達物質、TNF- α 、ベンゾジアゼピンなどが知られている。Glx の濃度が増加し、ミオイノシトールが放出され、結果としてアストロサイトが腫脹することによりグリア細胞の機能は低下し (gliopathy)、アストロサイトとニューロンとの神経的連絡も障害されると考えられている。

in vitro の系ではアストロサイトの腫脹により MAP-kinase の活性化や末梢型ベンゾジアゼピン受容体の up regulation、蛋白のリン酸化や Ca²⁺の平衡や細胞内の pH などへの影響が報告されている。さらに、アストロサイトの腫脹により細胞内顆粒のアルカリ化をきたし、細胞の受容体の機能への影響も実験的に報告されている。著者らも顕性の肝性脳症のない肝硬変に対して ¹H-MRS-MRS を用いた検討を行ない、顕性の肝性脳症と同様にミオイノシトールの信号強度の低下と Glx の濃度の増加を認め、肝の重症度と相関を示し、顕性の肝性脳症のない肝硬変でもすでに脳内の代謝に変化が生じていることを示している。

従来からの 1.5tesla の MRS の検討で

は Glx の増加がとらえられていたが、Haüssinger らの主張するグルタミンの増加については in situ の状態で明らかにすることは出来なかった。今回、高磁場の MR を用い、さらに、濃度の明らかな NAA、Crn、Gln、Glu をそれぞれ標準とした新しい data 処理法を開発して検討したところ、肝硬変でみられる Glx の信号強度の増加は Gln の増加であることが明らかとなり、脳内の物質代謝異常に関する説を in situ で証明することができたと考えられる。

なお、今回の検討で、対照と肝硬変では平均年齢に差が見られるが、肝硬変での検討で、Gln と Glu の信号強度は加齢による影響は無かったことから、対照と肝硬変との年齢差は問題とはなりにくいと考えられる。また、Glx ならびにミオイノシトールの代謝異常は肝性脳症を有する肝硬変では大脳基底核、側頭葉、後頭葉など脳内の各部位で認められることが報告されており、今回の検討では後頭葉に関心領域を設け MRS を行ったが、その他の部位でも同様に変化が生じているのは否かについてはさらに検討を有する。

近年、脳内の Glx とミオイノシトールの代謝異常が治療により可逆的に変化することが報告されている。Haseler らは合成二糖類 (lactulose 60ml/日 7 日間投与) の投与前後での Glx とミオイノシトールの変動を合成二糖類非投与群と比較検討している。その結果、合成二糖類非投与群では改善がなかったが、投与群では 15% の Glx の減少と 29% のミオイノシトールの増加がみられたとしている。さらに肝臓移植を行うことにより、これらの異常の改善がみられたとの報告もみられ、MRS の測定が治療効果の判定に有用である可能性が示唆されている。さらに定量的な精神神経機能検査などによりはじめて異常を指摘できる潜在性肝性脳症には顕性化する例が含まれるとの報告があるが、このような症例の早期予測などに有用である可能性もある。

以上より、高磁場 MRS により、肝硬

変でみられる脳内の物質代謝異常である Glu と Gln の和の増加は、Gln によることが明らかとなった。さらに脳内 Gln 濃度は静脈血アンモニア濃度と明らかな関連はないと推定された。今後、同一症例での経過観察や治療に伴う変化についての経時的な検討がさらに必要である。

E. 結論

肝硬変に対し、高磁場 MR 装置による ¹H-MRS を施行し、新しく開発した data 処理法により検討したところ、脳内 Gln と Glu の分離同定が可能となった。その結果、肝硬変でみられる脳内 Gln と Glu の信号強度の総和 (Glx) の増加は Gln によることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 加藤章信, 岩井正勝, 鈴木一幸: 肝性脳症の機序と潜在性肝性脳症の診断. 肝胆膵 47: 63-73 2002
2. 鈴木一幸: 肝性脳症の治療. 「先端医療シリーズ 25 肝・胆・膵疾患の最新の治療」戸田剛太郎, 沖田 極, 松野正紀編, 寺田国際事務所/先端医療技術研究所, 東京, 2003, 145-151
3. 鈴木一幸: 肝性脳症と血液アンモニア. 「肝疾患診療のコツと落とし穴」井廻道夫編, 中山書店, 東京, 2002, 34-35
4. 鈴木一幸: 軽度の肝性脳症 (潜在性肝性脳症) は診断可能か?. 「消化器診療二頁の秘訣」加嶋 敬編, 金原出版, 東京, 2002, 124-125
5. 遠藤龍人, 鈴木一幸: 肝疾患の所見. 救急医学 27: 532-533, 2003
6. 岩井正勝, 遠藤龍人, 滝川康裕, 加藤章信, 鈴木一幸: 肝不全の輸液療法と栄養補給. 臨床と研究 80: 1006-1012, 2003

H. 知的所有権の取得状況

なし