

^{99m}Tc -millimicrosphered albumin の摂取率と分解率による ラット肝切除後の肝網内系機能評価

岡山大学医学部第1外科
柚木 正行

肝網内系機能すなわち Kupffer 細胞機能の変化を中等量および大量肝切除 Wistar 系雄性ラットのコンピューター肝シンチグラフィによる ^{99m}Tc -millimicrosphered albumin の肝摂取率と分解率(代謝率)測定により観察した。 ^{99m}Tc -millimicrosphered albumin の肝摂取率と分解率は同一肝シンチグラフィの肝時間活性曲線の解析から得られ分解率は Kupffer 細胞の代謝率 (k) として評価した。ラット30%および70%肝切除の術前、術後1, 3, 5, 7日目の ^{99m}Tc -millimicrosphered albumin の肝摂取率および分解率を測定した。30%肝切除では、肝重量あたりの分解率は術後1日目に低下したが、術後5日目には正常より高値を示し Kupffer 細胞の活性化が示唆されたが、肝摂取率の変動は少なかった。70%肝切除では、摂取率と分解率は著しく低下し回復は術後5日目以降まで延長した。肝分解率は肝切除前後の肝網内系機能の特異的かつ鋭敏な指標であると考えられた。

Key words: hepatic reticuloendothelial function after hepatectomy, ^{99m}Tc -millimicrosphered albumin, uptake and degradation rates of ^{99m}Tc -millimicrosphered albumin

はじめに

網内系 (reticuloendothelial system) は生体防御機構として重要な役割を果している¹⁾²⁾。その主要な構成成分である固定 macrophage はおもに肝・脾・肺・骨髄に存在するが、肝 Kupffer 細胞が約80~90%を占めている³⁾。したがって肝 Kupffer 細胞機能を測定することは、網内系機能の検査として重要である。とくに肝臓に直接侵襲が加わる肝切除術においては、肝 Kupffer 細胞機能の正確な評価は術後合併症の予防に関連して重要である。従来、網内系機能の評価は異物の臓器分布と血中クリアランスの両面より検討されてきた。異物の臓器分布を測定する方法⁴⁾としては放射性コロイドを利用した方法⁵⁾などがあり、血中クリアランスを測定する方法にはコンドロイチン硫酸鉄⁶⁾や lipid emulsion⁷⁾などの血中消失率を測定する方法などがある。しかしこれらの方法は全身の網内系機能の測定方法であり、肝 Kupffer 細胞機能の特異的な測定法ではない。そこで著者は ^{99m}Tc -millimicrosphered albumin (以下 ^{99m}Tc -HSA-MM と略す) が、肝 Kupffer 細胞で特異的に変性処理されることを利用して、

^{99m}Tc -HSA-MM 肝シンチグラフィを施行し、肝 Kupffer 細胞による ^{99m}Tc -HSA-MM の分解率を解析測定し、肝切除後の Kupffer 細胞代謝機能測定を試みた。同時に、India ink を用いて食食指数を測定し肝切除後の網内系機能の変化を観察した。

対象と方法

1. 実験動物および実験群

Wistar 系雄性ラット (平均体重300g) を使用した。固形飼料および水は自由に与え、術前の絶食は行わなかった。

エーテル浅麻酔下に開腹し、Sham 手術群 (単開腹のみ施行)、30%肝切除群、70%肝切除群の3群のおおの5匹ずつにわけ、それぞれ術前、術後1, 3, 5, 7日目の網内系機能を測定した。ただしラットは各日に屠殺した。

2. 測定方法

1) ^{99m}Tc -HSA-MM の摂取率

$^{99m}\text{TcO}_4^-$ で標識した millimicrosphered albumin (TCK-9, CIS 社製) をラット静脈内に0.02mg/kg 注入し、肝・脾・心領域の dynamic scintigram を撮影した。データの収集は低エネルギー用コリメーターを装着した大口径ガンマカメラ (東芝, GCA-401) とオンラインで接続した核医学画像データ処理装置 (島津シンチ

バック1200)を使用した。データは15秒を1フレーム画像として60分収録した (Fig. 1). dynamic scintigramで関心領域を設定し、時間・放射能活性曲線を得た。放射能のカウント数 (x) より放射活性 (y) を次式により算出した⁹⁾。

$$y = 1,810x + 155$$

(y : 放射活性 (μCi/ml), x : カウント数 (/ml))

摂取率は投与アイソトープ量の内、各臓器に摂取されたアイソトープ活性のパーセントとして算出した。

2) ^{99m}Tc-HSA-MM の分解率

肝の時間・放射能活性曲線の放射能カウントを上式の式により放射活性に変換し、かつアイソトープ総投与量に対するパーセントで置き換え肝の時間・摂取率曲線を作成した。

その曲線の排泄相を指数関数 $A = A_0 e^{-kt}$ (A : t 時の肝摂取率, k : 肝分解率) で外挿し、肝分解率を求めた (Fig. 2)。

3) 貪食指数

Fig. 1 Diagram of measurement for hepatic uptake and degradation of ^{99m}Tc-HSA-MM using planar dynamic scintigraphy

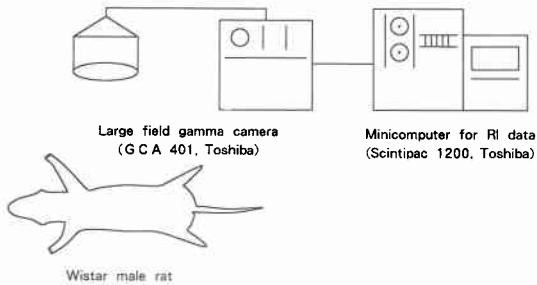
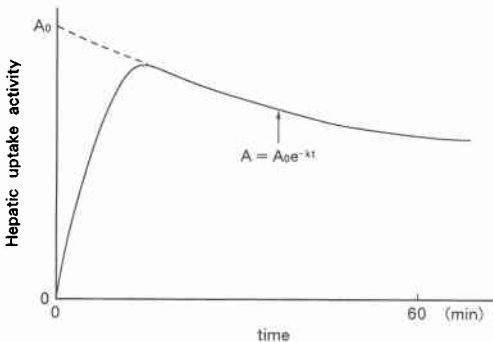


Fig. 2 Time activity curve of hepatic uptake and degradation rate of ^{99m}Tc-HSA-MM (k : hepatic degradation rate)



経静脈的に16mg/100g 体重の India ink を投与し、投与後 3, 6, 9, 12分後に下大静脈から採血した。各サンプルの50μml を 1%炭酸ナトリウム4ml に溶解し、分光光度計により660nm の波長の光の吸収を測定した。各点を縦軸を吸光度、横軸を時間の対数とした片対数グラフにプロットし、India ink の半減期 (t/2) を求め、次式により、貪食指数 (phagocytic index : PI と略す) を算出した。

$$PI = -\frac{0.693}{t/2}$$

4) 統計学的検定

統計学的有意差検定は Student の t 検定を用いた。

結果

1. ^{99m}Tc-HSA-MM の肝摂取率

^{99m}Tc-HSA-MM の肝摂取率はいずれの肝切除群とも術後 1 日目に最低となり、その低下の程度は切除量の大きいものほど強かったが、切除量に比例してはいなかった。各群とも肝摂取率は術後 1 日目以後には増加し、30%肝切除群では術後 5 日目に術前値の程度まで回復した。70%肝切除群では術後 7 日目に術前値の程度まで回復した (Fig. 3)。

2. ^{99m}Tc-HSA-MM の肺・脾摂取率

^{99m}Tc-HSA-MM 摂取率の術前値は肺が約 6%, 脾が約 10%であった。30%肝切除群では肝切除術後の肺、脾の摂取率に変化を認めなかったが、70%肝切除群では肺、脾の摂取率が一過性に上昇した。すなわち、肺摂取率は術後 1 日目に約 8.5%に上昇し、術後 3 日目まで Sham 手術群に比較して有意に高値を示した。脾摂取率は術後 1 日目に約 23%と上昇し、術後 5 日目まで

Fig. 3 Changes of hepatic uptake rate of ^{99m}Tc-HSA-MM after hepatectomy

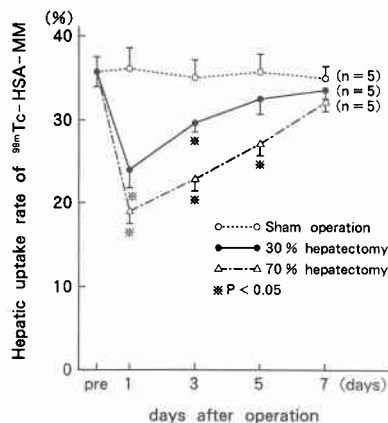


Fig. 4 Changes of pulmonary uptake rate of ^{99m}Tc-HSA-MM after hepatectomy

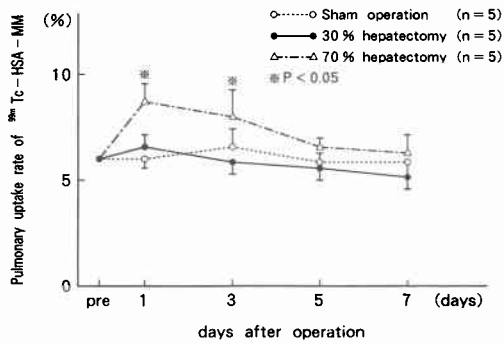
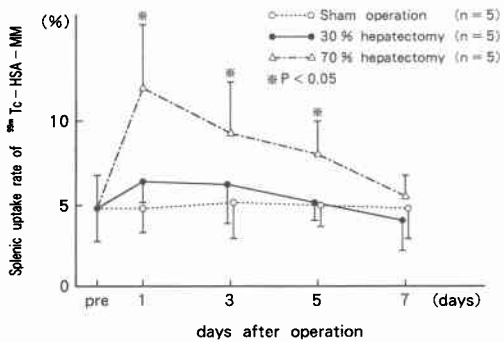


Fig. 5 Changes of splenic uptake rate of ^{99m}Tc-HSA-MM after hepatectomy



Sham 手術群に比較して有意に高値を示した。脾摂取率の上昇の方が肺摂取率の上昇より高度であり遷延性であった (Fig. 4, 5)。

3. ^{99m}Tc-HSA-MM の肝分解率 (k)

肝分解率の正常値は 0.00175 ± 0.00021 であり、30%肝切除群は術後1日目に 0.00086 と低値を示したが、3日目には正常値に回復し5日目には術前値より上昇していた。70%肝切除群では術後1日目に 0.00075 と低値を示した後に、漸増し7日目に正常値に回復した (Fig. 6)。

4. 食食指数 (PI)

肝切除後の食食指数は肝切除後1日目に低下し、30%肝切除群では3日目、70%肝切除群では5日目に、術前と同程度まで回復した (Fig. 7)。

5. 肝単位重量あたりの肝摂取率と肝分解率の比較

肝摂取率および肝分解率をラットの肝重量で除し肝単位重量あたりに換算し比較したところ、30%肝切除では術後1日目には肝分解率は肝摂取率より有意に低下したが、早期に回復し、3、5日目には肝摂取率よ

Fig. 6 Changes of degradation rate (k) of ^{99m}Tc-HSA-MM after hepatectomy

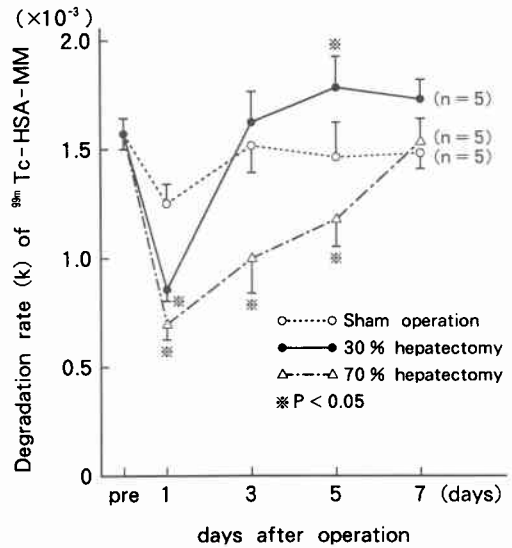
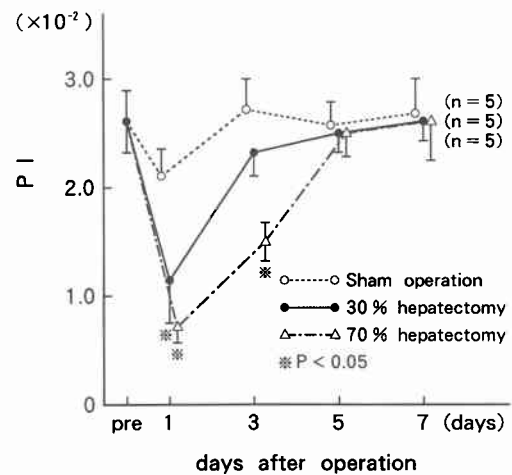


Fig. 7 Changes of phagocytic index (PI) after hepatectomy



り高値を示した (Fig. 8)。しかし70%肝切除では肝分解率は術後1日目に低下し、5日目まで低下したままであり肝摂取率の変動とほぼ一致していた (Fig. 9)。

考 察

生体防御系における肝 Kupffer 細胞の重要性は以前から注目されておりとくに大量肝切除時には網内系担当細胞の急激な減少によって adult respiratory distress syndrome, 肝不全, disseminated intravascular

Fig. 8 Relationship between hepatic uptake rate and degradation rate (k) of ^{99m}Tc -HSA-MM after 30% hepatectomy

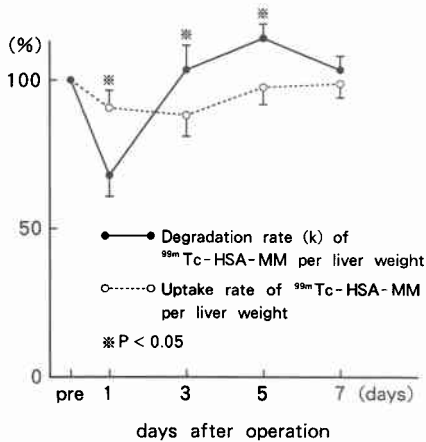
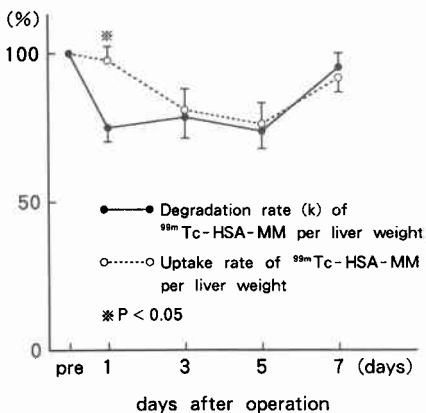


Fig. 9 Relationship between hepatic uptake rate and degradation rate (k) of ^{99m}Tc -HSA-MM after 70% hepatectomy



coagulationなどの術後合併症が発生しやすい。したがって肝切除前後における肝Kupffer細胞の動態を知ることは肝切除時の術後管理の上で有用である⁹⁾¹⁰⁾。しかし肝切除術前後の網内系機能の変動に関する報告は少ない¹¹⁾¹²⁾。従来、網内系機能の測定には外因性粒子 (lipid emulsion, ^{59}Fe -chondroitin sulfate, 種々のアイソトープ) の臓器分布, クリアランスの測定などが用いられてきた。しかしKupffer細胞の代謝機能面から肝切除後の網内系機能を測定した文献はほとんどみられない。そこで一般の放射性コロイドと異なり網内系細胞に取り込まれ, degradationをうけるという特徴をもつ ^{99m}Tc -HSA-MMを利用して¹³⁾, 肝

Kupffer細胞機能を代謝面から測定し肝分解率(k)を求めた。 ^{99m}Tc -HSA-MMはhuman serum albumin millimicrosphere kit(TCK-9, CIS)に, ^{99m}Tc -sodium pertechnetateを加えて作製した。粒子径は平均0.5 μm と小であるためHSA-MMは細菌やエンドトキシンと同様の臓器分布を示す。また注入量は0.02mg/kgとした。一般に投与アイソトープコロイドの粒子径が小さく投与量が少ないとき, 1回の肝循環でコロイドは肝のKupffer細胞に全部摂取され, そのクリアランスは肝血流の指標となる¹⁴⁾。三村ら¹⁵⁾は, ^{198}Au -colloidを用いて肝切除術前に局所肝血流を測定し適切な肝切除範囲を決定する方法を考案している。肝摂取率は肝Kupffer細胞機能と肝血流量の双方の影響をうけると考えられる。しかし, ^{99m}Tc -HSA-MMの分解率は, 肝血流量の影響を受けない¹⁶⁾。

^{99m}Tc -HSA-MMは, 投与後4分間までに65%が肝臓に摂取され, 残りの35%は末梢血中に見いだされる¹⁷⁾。肝臓の類洞内血液の放射活性によるバックグラウンドは肝類洞内血液量が全血液の数%にすぎないため肝Kupffer細胞による放射活性の数%以下と考えられ無視できる。 ^{99m}Tc -HSA-MMの時間・放射能活性曲線の排泄相は肝Kupffer細胞に取り込まれた ^{99m}Tc -HSA-MMが代謝されて標識の ^{99m}Tc が血中へ戻っていることを示す¹⁷⁾。この排泄相を指数関数で外挿し肝分解率を求めた⁸⁾。 ^{99m}Tc -HSA-MMの分解率の網内系の指標としての有用性はすでに証明されている。すなわち佐藤はヒト肝硬変で肝分解率が低下することを報告している⁸⁾。また野田らは四塩化炭素肝障害ラットにおいて肝分解率を測定し脂肪肝, 肝硬変と肝障害の程度が進行するにしたがって, 肝分解率は 0.00028 ± 0.00016 , 0.00022 ± 0.00018 と低下したと報告している¹⁸⁾。以上の結果をもとに, 肝切除後の網内系の変動を肝摂取率, 肝分解率, 食食率の測定により解析した。

まず肝単位重量当たりの肝分解率と摂取率を比較検討したところ, 30%肝切除群では術後1日目には肝分解率は低下したが, 早期に術前値に回復し, 術後5日目には術前よりむしろ高値を示した。このことは30%肝切除後は, Kupffer細胞の代謝が賦活されていることを示すと考えられた。肝単位重量あたりの肝摂取率はあまり変動を示さず, 網内系の指標としては, 分解率の方が鋭敏であると考えられた。

しかし70%肝切除群では肝分解率は, 術後1日目には低下し, 5日目まで低下したままであり, 早期の回復

はみられなかった。すなわち70%肝切除時には30%肝切除時と異なり、Kupffer細胞機能の早期回復はみられなかった。肝摂取率も肝分解率とほぼ同様の変動を示した。

さて、次に全身の網内系をIndia inkの貪食指数(PI)の測定により求め¹⁹⁾、肝分解率と比較した。30%肝切除群では貪食指数と肝分解率の変動は同様であった。70%肝切除群では、貪食指数が肝分解率より早く回復した。それは他の網内系臓器すなわち脾および肺により代償されたためと考えられた。そこで脾および肺の摂取率を測定したところ、70%肝切除後の脾、肺の取り込みは一過性に増加し肝代謝率の回復とともに低下した。これは放射性コロイドの分布に関する動物実験において肝網内系の抑制により脾、肺への取り込みが増加するという報告と一致した^{20)~22)}。また摂取率の上昇の程度は脾の方が高度であり全経過を通じて脾重量に変動は認めなかったため肝硬変時と異なり、容積の増大を伴わない機能的な代償であったといえる¹⁶⁾。

網内系の主臓器である肝臓の切除時の網内系機能の低下は宿主の自己防衛にとって非常な危険因子である。現在、肝切除は比較的安全に行われるようになったが、術後肝不全予防のためには術前の肝機能の総合的な評価が必要である²³⁾²⁴⁾。とくに肝硬変では網内系機能は極めて低下しており^{25)~27)}、肝切除における重大なrisk factorである。合併症予防のため、網内系を賦活する方法も考えられてきた²⁸⁾²⁹⁾。また、ポジトロンCTによる網内系機能評価法も報告されている³⁰⁾。しかし網内系の簡単で鋭敏な検査法は少なくその肝切除前後の変動に関する報告も、少なかった。今回の実験により^{99m}Tc-HSA-MM肝シンチグラフィによる肝切除後の肝Kupffer細胞分解率の測定は肝切除前後の網内系機能の鋭敏な指標として有用であると考えられた。

本論文の要旨は第91回日本外科学会、第27回肝臓学会総会において発表した。

稿を終えるにあたり、御指導を賜った岡山大学医学部第1外科折田薫三教授ならびに岡山大学医療技術短期大学部三村久教授に厚く御礼申し上げます。また本研究に御協力を戴きました岡山大学医学部第1外科野田卓先生ならびに岡山大学医学部核医学診療室各位に深く感謝致します。

文 献

1) Aschoff L: Das reticuloendotheliale System.

- Ergebn. Inn Med Kinderheilk 26: 1-118, 1924
- 2) Biozzi G, Stiffel C: The physiopathology of the reticuloendothelial cells of the liver and spleen. Edited by Popper H, Shaffner F. Progress in Liver Disease 2. Grune & Stratton, New York, 1965, p166-191
- 3) Saba TM: Physiology and physiopathology of the reticuloendothelial system. Arch Intern Med 126: 1031-1052, 1970
- 4) Bradfield JWB: Can we measure Kupffer cell function in man? Edited by Grunn LH. The reticuloendothelial system and the pathogenesis of liver disease. Elsevier, North Holland, 1980, p309-316
- 5) 一矢有一, 鴛海良彦, 鴨井逸馬ほか: ^{99m}Tc-millimicrosphere albumin と ^{99m}Tc-phytate による肝シンチグラフィの比較検討, 核医 17: 1285-1292, 1980
- 6) 太田太郎: コンドロイチン硫酸鉄を用いる網内系機能検査. 大阪大医誌 21: 147-171, 1969
- 7) 的場俊明, 木所昭夫, 八木義弘ほか: 細網内皮系機能検査法としてのリビッドエマジョンテストの意義. 日消病会誌 86: 1455-1459, 1989
- 8) 佐藤四三: Planar dynamic scintigraphy と single photon emission computed tomography 併用肝シンチグラフィによる肝硬変症の肝Kupffer細胞機能についての研究. 日消病会誌 85: 48-54, 1988
- 9) 水本龍二, 横井一: 外科的疾患における網内系機能と術後合併症. 肝・胆・膵 10: 229-237, 1985
- 10) 神本行雄, 山口卓雄, 平岡武久ほか: 消化器手術後の細網内皮系貪食能および血中fibronectinの解析. 日消外会誌 20: 2593-2598, 1987
- 11) 瀬川 徹: 正常肝・CCI₄肝硬変ラット肝切除後における網内系機能の変動. 日消病会誌 83: 2161-2173, 1986
- 12) 石川詔雄, 脇本佳代子, 深尾立ほか: 肝切除モデルにおける細胞内皮系機能測定法の基礎的検討. 肝臓 29: 747-751, 1988
- 13) 森田俊孝, 福地 稔, 立花敬三ほか: 肝イメージング製剤としての Tc-99m-HSA Millimicrospheres の応用と評価. 核医 17: 951-957, 1980
- 14) Zilvermit DB, Boyd GA, Brucer M: The effect of particle size on blood clearance and tissue distribution of radioactive gold colloids. J Lab Clin Med 40: 255-260, 1952
- 15) Mimura H, Takakura N, Ohno Y et al: Determination of the extent of feasible hepatic resection from hepatic blood flow. World J Surg 10: 302-310, 1986
- 16) Bolognesi M, Merkel C, Gatta A: The use of human albumin millimicrospheres tagged with

- ^{99m}Tc in the evaluation of the removal capacity of the reticuloendothelial system. *Eur J Nucl Med* 13 : 254-257, 1987
- 17) Reske SN, Vyska K, Feinendegen LE: In vivo assessment of phagocytic properties of Kupffer cells. *J Nucl Med* 22 : 405-410, 1981
- 18) Noda T, Mimura H, Orita K: Assessment of Kupffer cell function in rats with chronic liver injury caused by CCl₄. *Hepatogastroenterology* 37 : 319-323, 1990
- 19) 小島 瑞, 山口昭彦, 土橋陸夫: 網内系機能検査法. *日臨* 26 : 419-432, 1968
- 20) DiLuzio NR, Riggi SJ: The development of a lipid emulsion for the measurement of reticuloendothelial function. *J Reticuloendothelial Soc* 1 : 136-149, 1964
- 21) 高橋吉政: 放射性コロイドの取り込みについて. *昭和医会誌* 40 : 551-560, 1980
- 22) Keyes JW Jr, Wilson GA, Quinones JD: An evaluation of ung uptake of colloid during liver imaging. *J Nucl Med* 14 : 687-691, 1973
- 23) 小澤和恵, 青山英久, 内田憲一ほか: 肝予備能の意義と判定. *外科治療* 47 : 671-678, 1982
- 24) 水本龍二ほか: 肝機能予備力と手術危険度. *肝・胆・膵* 3 : 887-895, 1981
- 25) Lahnborg G, Friman L, Berghem L: Reticuloendothelial function in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 16 : 481-489, 1981
- 26) 谷川久一, 安倍弘彦, 佐田通夫ほか: 肝障害と Kupffer 細胞. *肝・胆・膵* 10 : 223-228, 1985
- 27) Rimola A, Sato R, Bory F et al: Reticuloendothelial system phagocytic activity in cirrhosis and its relation to bacterial infection and prognosis. *Hepatology* 4 : 53-58, 1984
- 28) 平澤博之, 小林 進, 伊藤 靖ほか: 細網内皮系貪食能検査と臨床上の意義. *救急医* 9 : 811-820, 1985
- 29) 中川国利, 小山研二, 浅沼義博ほか: 硬変肝切除時における網内系賦活の意義に関する実験的研究. *肝臓* 26 : 445-451, 1985
- 30) 岡田周市, 大藤正雄, 国安芳夫ほか: ポジトロン CT による網内系機能評価—慢性肝疾患例における検討—. *日消病会誌* 87 : 90-99, 1990

Evaluation of Hepatic Reticuloendothelial Function after Hepatectomy in Rats by Uptake and Degradation Rates of ^{99m}Tc-millimicrosphered Albumin

Masayuki Yunoki

First Department of Surgery, Okayama University Medical School

Changes in hepatic reticuloendothelial function, Kupffer cell function, in moderately and massively hepatectomized male Wistar rats were studied by measuring the rates of hepatic uptake and degradation (metabolism) of ^{99m}Tc-millimicrosphered albumin by computer-imaged liver scintigraphy. The two rates were obtained from the same liver scintigram by means of computer analysis of the time activity curve, and the degradation rate was evaluated as the rate of metabolism by Kupffer cells. Thirty and 70% hepatectomy were performed in rats and both uptake and degradation rates were measured before and on days 1, 3, 5 and 7 after the operation. After 30% hepatectomy, the degradation rate per liver weight was decreased on the first day after hepatectomy, although it was increased beyond normal on the fifth day, which suggested hyperactivity of Kupffer cell caused by moderate hepatectomy. There was only a small change in uptake rate. After 70% hepatectomy, both uptake and degradation rates were markedly reduced and their recovery was prolonged beyond the fifth postoperative day. The rate of hepatic degradation of ^{99m}Tc-millimicrosphered albumin can be a specific and sensitive indicator of hepatic reticuloendothelial function around hepatectomy.

Reprint requests: Masayuki Yunoki First Department of Surgery, Okayama University Medical School
2-5-1 Shikata-cho, Okayama, 700 JAPAN