

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

今日の移植 (1993.03) 6巻2号:191~195.

99mTc-PMTシンチグラフィによるラット脾内肝細胞の生着評価

小野寺一彦、葛西眞一、加藤一哉、松田 年、水戸迪郎、  
齊藤泰博、今本哲郎、石川幸雄、佐藤順一

# $^{99m}\text{Tc}$ -PMT シンチグラフィによる ラット脾内肝細胞の生着評価

original article

Transplantation Now

小野寺一彦・葛西眞一・加藤一哉・松田年・  
水戸迪郎<sup>\*1)</sup>、斎藤泰博・今本哲郎・  
石川幸雄・佐藤順一<sup>\*2)</sup>

*Evaluation of implanted hepatocytes in rat spleen by  $^{99m}\text{Tc}$ -PMT scintigraphy*

脾内移植肝細胞の生着状態を評価する検査として  $^{99m}\text{Tc}$ -PMT による肝胆道シンチグラフィの有用性を実験的に検討した。

その結果、肝細胞を移植された脾は time activity curve が軟部組織にくらべ高値を示すことで認識され、移植後の自然増殖により生着量が増すとその curve の減衰が緩慢となった。シンチグラムで肝細胞の移植された脾を同定するには、組織学的に索構造が再構築された小集塊を認める程度に増殖している必要があった。しかし生着量の微妙な差をあらわす指標をラットの time activity curve から見出すことは困難であった。

Kazuhiko Onodera・Shin-ichi Kasai・Kazuya Kato・Minoru Matsuda・  
Michio Mito<sup>\*1)</sup>、Yasuhiro Saito・Tetsuro Imamoto・  
Yukio Ishikawa・Jyun-ichi Sato<sup>\*2)</sup>

key words: 脾内肝細胞移植,  $^{99m}\text{Tc}$ -PMT scintigraphy

致死的な先天性肝代謝異常モデルである ascorbic acid (AsA) 生合成酵素欠損ラット (ODS-<sup>od/od</sup>)<sup>1)</sup> に対する正常肝細胞の脾内移植では、脾内における肝細胞の占拠面積が約15%に達してから AsA の補充療法を中止してもラットは生存できた<sup>2)</sup>、ヒトにおける脾内肝細胞移植を考えた場合、たとえば先天性肝代謝異常に肝細胞移植を施行したあと、食事療法や薬物療法などを打ち切る時期を判断するには、脾内移植肝細胞の生着と機能を評価する非侵襲的検査が必要になることが想定される。

すでに実験的には  $^{99m}\text{Tc}$ -HIDA scintigraphy の有用性が報告されている<sup>3-5)</sup>。今回これより毒性が少なく、血中クリアランスおよび肝から胆道への移行がはやく、そのうえ腎への集積が少ないという理想的な肝胆道シンチグラム製剤である  $^{99m}\text{Tc}$ -N-pyridoxyl-5-methyltryptophan (PMT)<sup>6)</sup> を用いて、移植後生着をより詳細に評価することが可能か否か検討した。

## 実験動物と方法

donor として10週齢 Wistar 系雄性ラットを用い、Seglen<sup>7)</sup> の方法に準じ肝細胞を分離した。

Hanks 液に浮遊した viability 80~90% の肝細胞  $1 \times 10^7$  個/0.2 ml を同週齢 Wistar 系雄性ラットの脾内へ 25-gauge 針で直接注入し移植した。そして、

① 移植後 2, 5, 17 カ月後のラットと未処置ラット (各 n=1) に  $^{99m}\text{Tc}$ -PMT 11 MBq/kg を陰茎静脈より注入し、その60分後脾臓を摘出しその中央部の組織約 0.1 g の残存放射能を自動ウェル型シンチレーションカウンター (アロカ社) によって測定した。

② また移植後 3, 4, 5, 6, 17 カ月のラットと未処置ラット (各 n=2) を背臥位としエーテル麻酔下で開腹し、脾を腹壁上へ引き出し脾後面には厚さ 2 mm の鉛板を置いて shield とした。そして肝辺縁と脾中央、および軟部組織として右頸部に 5 ピクセル × 5 ピクセルの region of interest (ROI) を設定し、前述と同量の  $^{99m}\text{Tc}$ -PMT を静注した直後からデジタルガンマカメラ (日立 Gamma View-D) とデータ処理装置 (日立 HARP) を用いて time activity curve (時間放射能曲線) と全身シンチグラムを得た。

③ 測定後脾はホルマリン固定し組織学的に検索した。

## 結果

① 摘出脾組織の残存放射能の値は、コントロ

\*1) Second Department of Surgery, \*2) Department of Radiology, Asahikawa Medical College

\*1) 旭川医科大学第二外科学教室, \*2) 同放射線部

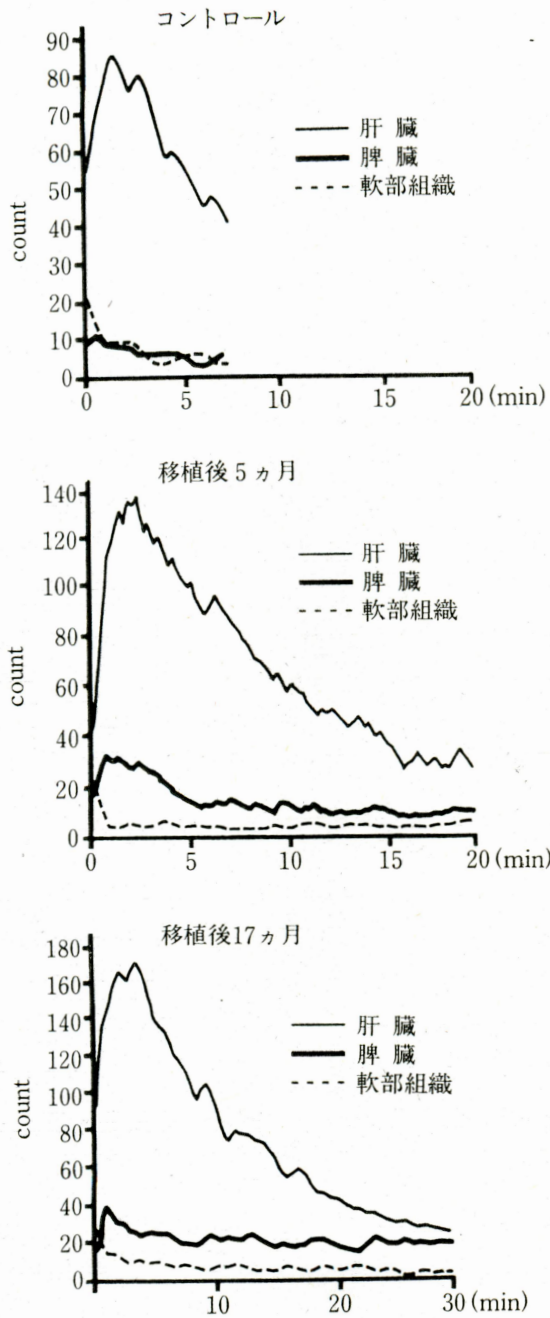


図1 <sup>99m</sup>Tc-PMT time activity curve

ールが 9,840 CPM/g, 移植後2ヵ月が, 22,833 CPM/g, 移植後5ヵ月で 55,842 CPM/g, 移植後17ヵ月で 196,340 CPM/g であった.

② time activity curve は, コントロールでは脾と軟部組織の curve が注入直後からはほぼ重なるのに対し, 移植後3~6ヵ月では peak 時も減衰中も, 脾における uptake が軟部組織を上回った. しかし注入後時間経過とともにしだいにその差は縮まった. 移植後17ヵ月ではさらに脾における減衰が穏やかであるため, 注入後30分でも軟部組織より高値を維持した(図1). 以上3通りのパターンは核種注入後5分間の測定で判別できた.

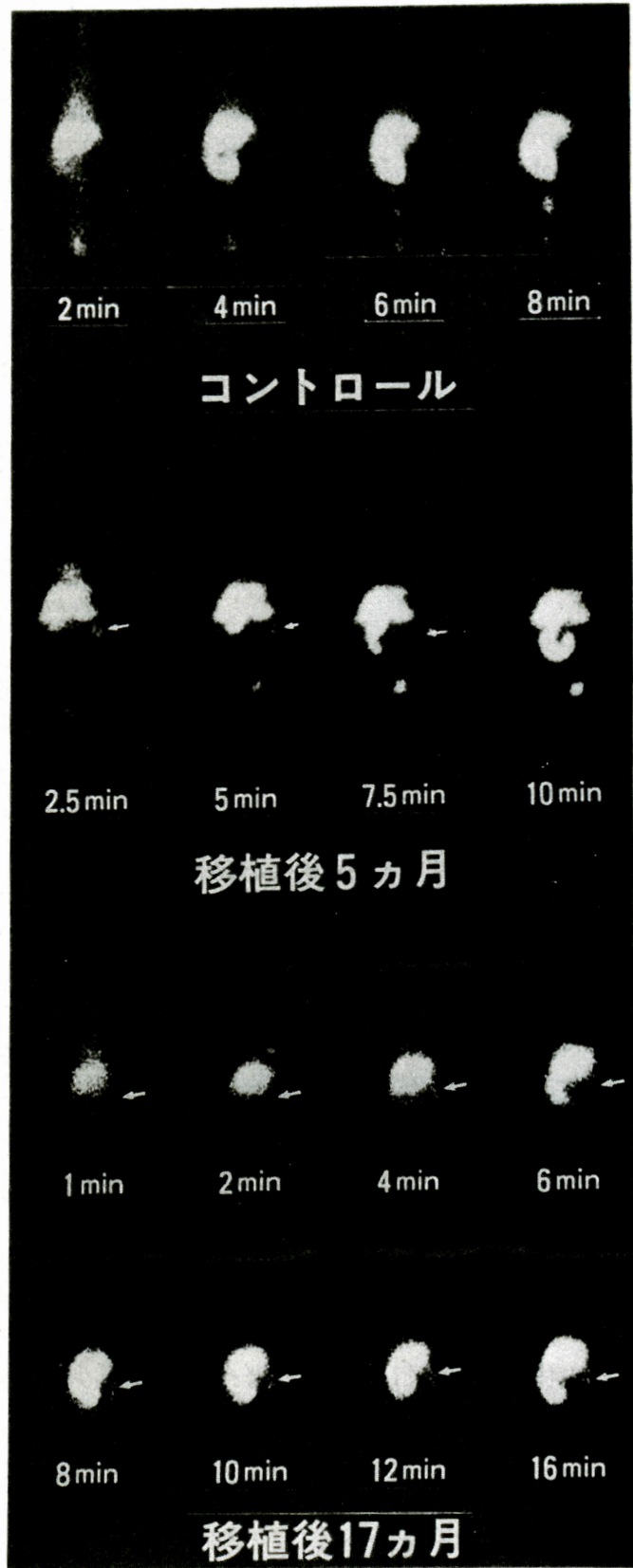


図2 <sup>99m</sup>Tc-PMT シンチグラム

さらに time activity curve から, peak 値の脾/肝比や注入後5分における count の脾/肝比あるいは脾の peak 値などの要素を求め, 移植後3~6ヵ月のラット間で比較したがいずれも経時的に増加する相関を示さなかった.

次いでシンチグラムを比較すると、コントロールでは脾は描画されず、移植後3カ月のラットでは脾の同定はやや困難であった。移植後4~6カ月では注入後5~7.5分まで脾が描画された。移植後17カ月では注入後16分までも明らかに脾が描画され(図2)、2時間では消失していた。またいずれの画像においても肺の uptake は証明されなかった。

③ HE 染色による組織学的検索では、すべてのラットの脾内には肝細胞の生着がみられた。移植後3カ月では孤立性あるいは白脾髄周辺に小集塊となって肝細胞が認められるにすぎなかったのが、4~5カ月以降は索構造が再構築され、脾内に占める肝細胞量は月数とともに増加していた。移植後17カ月では赤脾髄の半分以上の space が埋めつくされるように生着していた(図3)。

### 考 察

脾内肝細胞移植後の生着と増殖の過程を組織学的に肝細胞の脾内占拠率でみると、移植直後急激に減少して数%以下まで落ちこんだあと徐々に増加し、約1年をかけて脾内の50%前後を肝細胞が占めるに至る<sup>3)</sup>。しかし *in vivo* で核医学的にこの過程を追跡した報告はない。

Cuervas-Mons<sup>3)</sup>と Wood<sup>4)</sup>は脾内肝細胞移植を受けたラットに <sup>99m</sup>Tc-HIDA を静注後脾を摘出してその放射能が高いことを確認した。今回の実験1の結果も同様に <sup>99m</sup>Tc-PMT が脾内肝細胞に取りこまれたことを証明でき、さらにその値は移植後の月数経過に従い増加していた。

脾という異所における肝組織を肝胆道シンチで検索する場合、肝から胆道経由で胃腸管内へ排泄された RI を脾と誤認しないことが大切である。実際 CT でラット腹腔内をみると脾の前面には腸管が幾重にも存在する(図4)。特に脾上極の前方に位置する胃穹窿部と、脾下極の内方に位置する左腎に注意を要する。そこで今回は開腹して脾を腹壁上へ引き出し、その後面には鉛板を置いて他臓器からの background count を遮断するよう工夫した。

こうして測定した time activity curve から、脾内肝細胞の生着は軟部組織の curve との比較において明らかとなった。すなわち初期血流相を除いた peak 時および減衰期においても count は脾の

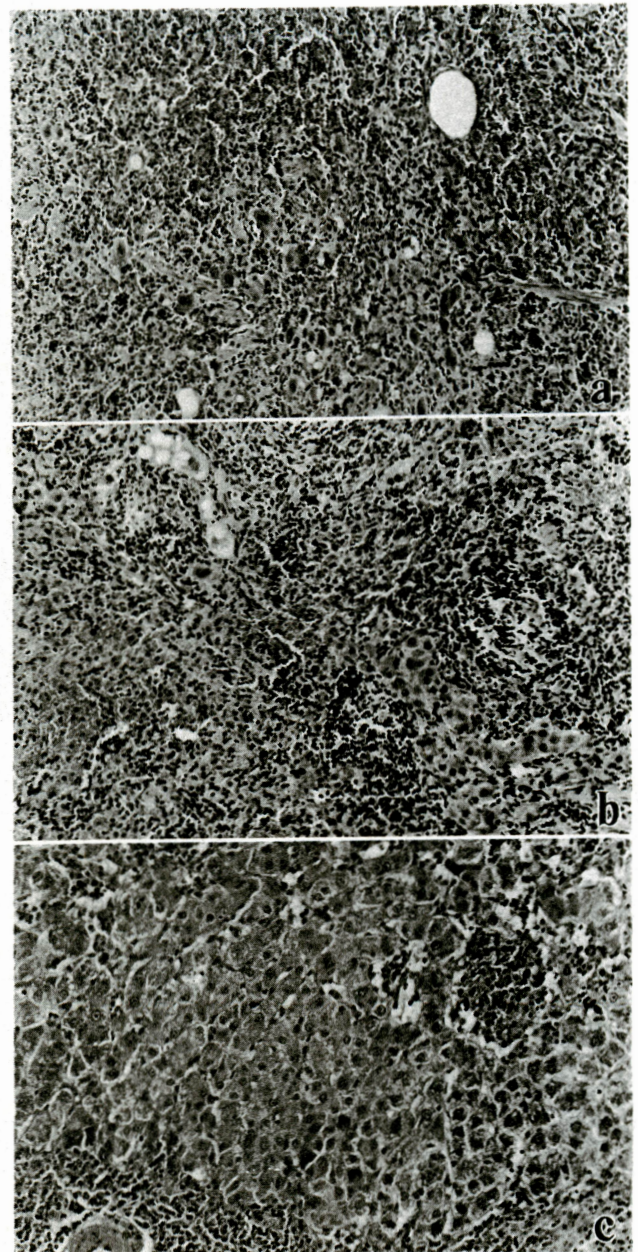


図3 脾組織像(HE 染色, ×200)

a : 移植後3カ月, b : 移植後6カ月  
c : 移植後17カ月

ほうが高値を示した。そして移植後月数が経過して脾内生着量が多いほど脾における curve の減衰は緩やかとなった。この差はシンチ開始後約5分間の測定で判定できた。

Vroemenら<sup>5)</sup>は Gunn ラットに脾内肝細胞移植を行った3カ月後に限って、*in vivo* で <sup>99m</sup>Tc-HIDA scintigraphy をとったが、その time activity curve のパターンは今回の移植後3~6カ月目と同様であり、脾の最大 uptake に対する肝中央の最大 uptake の割合は約9%と報告している。また彼らは ROI の設定のために、移植時に脾を clip でマーキングしたうえ腹壁に固着し、なおかつ左腎

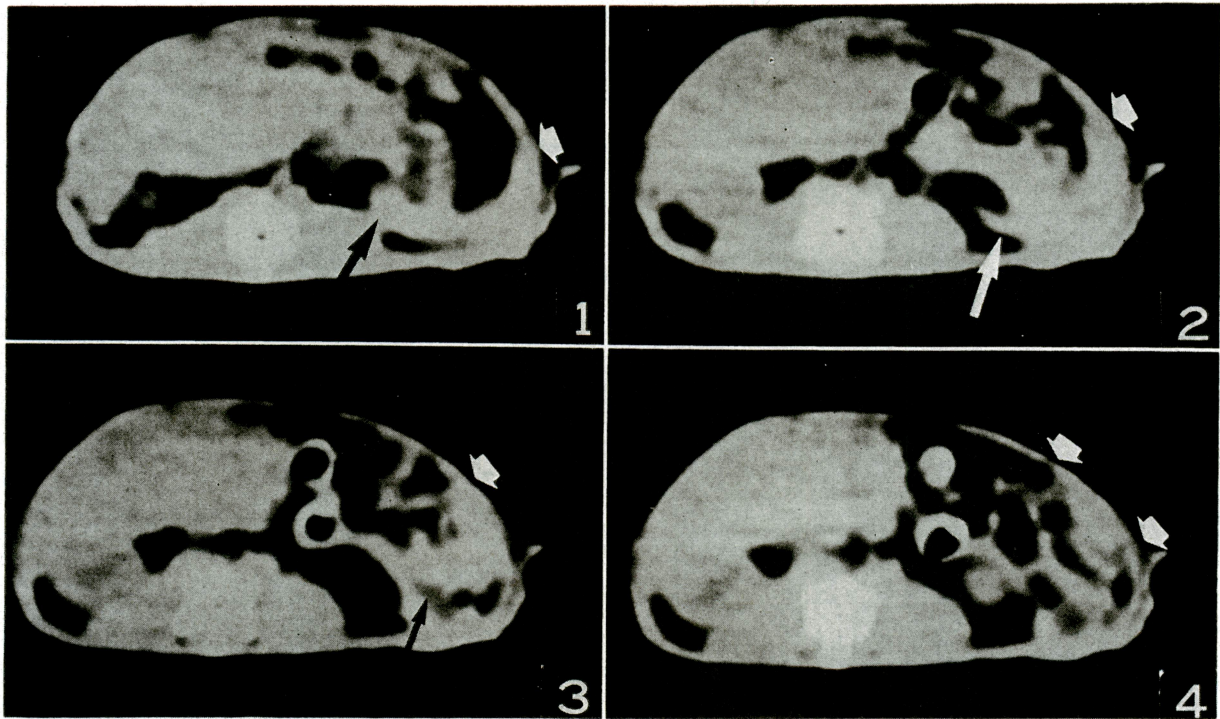


図4 脾 CT 像(→: 脾左右端)

の uptake を除くためこれを摘出した。

今回の実験で工夫した測定方法なら脾内生着量に相関した count が得られることが先述の組織内放射能直接測定の結果から期待されたが、time activity curve の各種指標により移植後経過月数の2～3カ月間の生着量の差を表現することは困難であった。それは移植する肝細胞の viability や移植注入操作、注入後の脾静脈への流出などにその後の移植肝細胞の増殖が左右されて生じた個体差<sup>8)</sup>以上に、脾茎部を引き出したことによる脾血流障害と、小動物であるために核種の注入操作や ROI の設定にばらつきが生じるなど測定上の要因が強く関与したためと思われた。

さらにシンチグラムでは、移植後4～5カ月ではじめて脾が描画されたが、このときの脾内組織像は肝細胞索を形成した肝組織様の小集塊が多数散見されるものであった。シンチグラムで脾内肝細胞を判別するには少なくともこの程度の生着が必要と考えられる。そして生着量が増すほど脾の描画時間が延びたが、これは脾内肝細胞が胆管系を持たないため排泄が遅れることも関与するかもしれない。おそらく脾内肝細胞に集積した PMT はしだいにまた血中に排泄され、最終的に宿主肝から胆道へ排泄されると思われる。また脾内へ移植された肝細胞から transform したと考えられる

胆管様細胞の存在と核種の停滞との関連も興味を持たれる。

以上よりヒトにおける本シンチの施行に際しては、あらかじめ術中に脾をマーキングするか CT 検査その他で脾の位置を確認して ROI を正確に設定すれば、生着量をより正確に反映する time activity curve を得られると考えられる。curve のパターンの判定はラットでは約5分で可能だったので、ヒトでもかなり短縮でき、その時点では小腸への排泄量も少なく判定上も有利である。またシンチ画像の読影では、脾近傍の胃腸管を除外できれば、脾の描画時間を指標にしておおよその生着量を把握できると思われる。

#### 文 献

- 1) 牧野 進, 片桐 謙・他: 骨形成異常ラット. 実験動物 29: 374-375, 1980.
- 2) 小野寺一彦, 江端英隆, 水戸勉郎: 先天性肝酵素欠損症に対する肝細胞移植. 移植 25: 435, 1990.
- 3) Cuervas-Mons, V., Cienfuegos, J.A., Maganto, P. et al.: Long-term evaluation of isolated syngeneic hepatocytes transplanted into the normal rat spleen by <sup>99m</sup>Tc-HIDA scintigraphy. Transplantation 39: 87-90, 1985.
- 4) Woods, R.J., Fuller, B.J., Attenburrow, V.D., Nutt, L.H., Hobbs, K.E.F.: Functional assessment of hepatocytes after transplantation into rat spleen. Transplantation 33: 123-126, 1982.
- 5) Vroemen, J.P.A.M., Vander, Linden, C.J.,

- Buurman, W.A. et al.: *In vivo* dynamic  $^{99m}\text{Tc}$ -HIDA scintigraphy after hepatocyte transplantation: A new method for the monitoring of graft function. *Eur. Surg. Res.* 19: 140-150, 1987.
- 6) Kato-Azuma, M.:  $^{99m}\text{Tc}$ -(Sn)-N-pyridoxylamines: A new series of hepatobiliary imaging agents. *J. Nucl. Med.* 23: 517-524, 1982.
- 7) Seglen, P.O.: Preparation of isolated rat liver cells. *Meth. Cell Biol.* 13: 29-83, 1976.
- 8) 小野寺一彦, 葛西真一, 江端英隆・他: 肝再生因子投与による脾内移植肝細胞の生着と増殖の促進. *今日の移植* 4(1): 69-73, 1991.