

論文の内容の要旨

論文題目 Assessment of liver function by hepatic phenylalanine metabolism measured by the L-[1-¹³C]-phenylalanine breath test

和 訳 L-[1-¹³C]-フェニルアラニン呼気試験による肝におけるフェニルアラニン代謝からみた肝機能評価について

指導教官 幕内 雅敏 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成9年4月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名 小林 隆

背景・目的 肝臓はアミノ酸代謝や蛋白合成において主要な役割を果たす臓器である。肝障害によりこれらの代謝経路が乱されると、生体内での十分なエネルギー産生が得られず、凝固系の低下、ひいては感染や肝性脳症をきたす事さえある。生体内におけるアミノ酸クリアランスが肝細胞機能および肝予備能を反映し、肝切除後の術後経過とよく相関することが報告されている。しかし、アミノ酸クリアランス試験は手技が複雑で時間がかかるため、これまで臨床への応用の点で問題があった。必須アミノ酸であるフェニルアラニンは近位小腸でほぼ完全に吸収され門脈を經由し肝臓で代謝される。最近、肝におけるフェニルアラニン酸化代謝が、末期肝障害患者やラット肝切除モデルにおいて低下していることが報告されている。本研究では、フェニルアラニンが肝臓で代謝される際に産生するCO₂に着目し、非放射性同位体元素¹³Cで標識されたL-[1-¹³C]-フェニルアラニンをを用いた呼気試験により、フェニルアラニンの肝臓における酸化代謝過程を呼気中の¹³CO₂を調べることで測定し、経口投与されたフェニルアラニンの肝臓における酸化代謝能を、臨床の場で用いられている肝機能評価・検査（ICG試験・Child-Pugh分類スコア・血液生化学的試験）と比較検討し、今後の臨床への応用について検討することを目的とした。

対象および方法 本研究のプロトコールは東京大学医学部研究倫理審査委員会で承認されたものであり、すべての被験者から同意書にて了解を得て実施された。

プロトコール 1

対象 健常人8人を含む42人（男性30人、女性12人；23-75歳）を対象に、フェニルアラニン呼気試験を実施し、従来の肝機能試験・評価法であるICG試験・Child-Pugh分類スコア・血液生化学的検査との比較検討を行った。

[別紙 1]

プロトコール 2

対象 上記 42 人のうち、初回肝臓切除手術を施行された 27 人を対象に、フェニルアラニン呼気試験・ICG 試験・Child-Pugh 分類スコア・血液生化学的検査・背景肝病態および手術因子と術後合併症との関係を検討した。

プロトコール 3

対象 入院時に閉塞性黄疸を呈した 4 人（男性 3 人、女性 1 人）を対象に、フェニルアラニン呼気試験・ICG 試験・肝アシアロシンチを施行し、閉塞性黄疸時の肝機能を評価した。

方法

フェニルアラニン呼気試験 被験者は夜間絶飲食後、早朝 7 時に水 10ml に溶かした L-[1-¹³C]-フェニルアラニン 100 mg を経口し、投与前、投与後 120 分にわたり 10 分間隔で呼気を採取し呼気中の ¹³CO₂ をレーザー分光計 (ALOKA, Tokyo, Japan) で測定した。各時点での肝におけるフェニルアラニン酸化による ¹³C 排出率を呼気中の ¹³CO₂ の存在比から計算し、各時点での ¹³C 累積回収率は上記で求めた ¹³C 排出率曲線における AUC から求めた。

ICG 試験および Child-Pugh 分類スコア 本研究では、被験者を ICG 試験の 15 分値 (ICG R15 値) により以下の 3 群に分けた ; Group I (ICG R15<10%)、Group II (ICG R15 10-20%)、および Group III (ICG R15≥20%)。Child-Pugh 分類スコアは 血清ビリルビン値、アルブミン値、プロトロンビン時間、腹水の有無、脳症の有無により求めた。

肝アシアロシンチ 3mg の ^{99m}Tc-GSA を静脈注射後、^{99m}Tc-GSA の血中消失速度の指標 (HH15 値) および ^{99m}Tc-GSA の肝集積率の指標 (LHL15 値) を求めた。

統計 データは means±SEM で表示した。¹³C 排出率・¹³C 累積回収率の Group I、II、III 群間比較は ANOVA (Scheffe' s F correction) を用い、フェニルアラニン呼気試験と Child-Pugh 分類スコア間の相関関係の検定には Spearman rank correlation を用いた。フェニルアラニン呼気試験の ¹³C 排出率・¹³C 累積回収率と ICG R15 値および血液生化学的検査結果との比較検定には Pearson correlation を用い、術後合併症群と非合併症群間における検定には Mann-Whitney U test を用い、p<0.05 をもって有意差ありとした。

結果

プロトコール 1

L-[1-¹³C]-フェニルアラニン酸化過程における、¹³C 排出率および ¹³C 累積回収率

¹³C 排出率は 30 分値で 3 群間に有意に差があった。Group I、II および III における ¹³C 排出率 30 分値はそれぞれ 11.5±1.0、8.2±0.6、および 5.0±0.8 (%¹³C dose/hr) であった (I and II、II and III、p<0.05 ; I and III、p<0.0001)。¹³C 排出率のピークはフェニルアラニン呼気試験開始後 20 分後に Group I および Group II において認められたが、Group III においては明らかなピークは認めなかった。また、¹³C 累積回収率は 80 分値で 3 群間に有意に差があった。Group I、II および III における ¹³C 累積回収率 80 分値はそれぞれ 11.1±0.8、8.2±0.7、5.5±0.8 (%)

[別紙 1]

dose)であった (I and II、II and III、 $p<0.05$; I and III、 $p<0.0001$)。

^{13}C 排出率 30 分値および ^{13}C 累積回収率 80 分値の 95%信頼区間

^{13}C 排出率 30 分値および ^{13}C 累積回収率 80 分値の 95%信頼区間は Table の如く、多少のオーバーラップを認めるものの、各群が ^{13}C 排出率 30 分値および ^{13}C 累積回収率 80 分値で比較的良好に分けられた。

フェニルアラニン呼気試験と ICG R15 値、Child-Pugh 分類スコアおよび血液生化学的データとの相関

ICG R15 値は ^{13}C 排出率 30 分値($r=-0.746$, $p<0.0001$)および ^{13}C 累積回収率 80 分値($r=-0.723$, $p<0.0001$)と相関があった。ICG R15 値が 20%以下の場合、同程度の ICG R15 値であっても、正常肝・慢性肝炎・肝硬変が混在しているのに対して、 ^{13}C 排出率 30 分値や ^{13}C 累積回収率 80 分値から見ると比較的相互間の分離が良いことが示唆された。同様に、Child-Pugh 分類スコアも ^{13}C 排出率 30 分値および ^{13}C 累積回収率 80 分値との間に相関を認め ($p<0.0001$)、ICG R15 値の場合と同様に、Child-Pugh 分類スコア 5・6 点では正常肝・慢性肝炎・肝硬変が混在しているのに対して、 ^{13}C 排出率 30 分値や ^{13}C 累積回収率 80 分値から見ると比較的相互間の分離が良いことが示唆された。 ^{13}C 排出率 30 分値および ^{13}C 累積回収率 80 分値はそれぞれ 血清アルブミン値、コリンエステラーゼ値、総ビリルビン値、総コレステロール値、プロトロンビン時間、血小板数と有意に相関を認めた ($p<0.01$)。

プロトコール 2

初回肝切除術施行 27 人のうち、術後合併症群 7 例の内訳は、腹腔内感染症 3 人・高ビリルビン血症 2 人・胸腹水 2 人であった。 ^{13}C 排出率 30 分値・ICG R15 値ともに、術後合併症群と非合併症群との間に有意差を認めたが、 ^{13}C 排出率 30 分値の方が ICG R15 値より分離が良いことが示唆された。

プロトコール 3

肝門部胆管癌および膵頭部癌による閉塞性黄疸患者 4 人全例で ICG R15 値は高値を示したが、黄疸時でも機能的肝細胞総量を評価できるとされるアジアロシンチでは、非実施例 1 例を除いた他の 3 例ではすべて肝機能は保たれており、フェニルアラニン呼気試験の結果でもほぼ同様の結果が得られた。

考察

本研究により、 ^{13}C 排出率 30 分値および ^{13}C 累積回収率 80 分値が Group I から III へと肝機能障害度が進行するに応じて、それぞれ低下することが明らかになった。 ^{13}C 排出率 30 分値・ ^{13}C 累積回収率 80 分値は Group I、II および III 群間で有意に差を認めた。特に Group III において $^{13}\text{CO}_2$ 産生速度に明らかなピーク値は認められなかった。これら 2 つのパラメーターは Child-Pugh 分類スコアともよく相関した。 ^{13}C 累積回収率 60 分値が肝移植を必要とする高度肝機能障害を有する患者において極度に低下しているとの報告があるが、本研究では ^{13}C 累積回収

[別紙 1]

率 60 分値では Group II と III で有意差が得られなかった。従って、フェニルアラニン呼気試験により肝機能に応じて患者を分類する際には、¹³C 累積回収率 80 分値の方がより細かく分類できるものと考えられた。さらに ¹³C 排出率 30 分値および ¹³C 累積回収率 80 分値が、肝における合成能の指標となるアルブミン・コリンエステラーゼ・プロトロンビン時間等と有意な相関を持つことから、これらは肝の機能的肝細胞総量を反映するものと考えられた。

本研究では、¹³C 排出率 30 分値および ¹³C 累積回収率 80 分値と ICG R15 値との間に、相関を認めた。更に、同程度の ICG R15 値 (20%以下)・Child-Pugh 分類スコア (5・6 点) であっても、正常肝・慢性肝炎・肝硬変が混在しているのに対して、排出率 30 分値および累積回収率 80 分値の点から見ると、比較的相互間の分離が良く、ICG 試験・Child-Pugh 分類スコアで評価できない病態をフェニルアラニン呼気試験で更に細かく評価しうる可能性があると考えられた。

当科では安全可能な肝臓手術の術式 (最大容認肝切除量) 選択は、専ら ICG R15 値に準拠しており (Group I : 肝右葉切除・3 区域切除、Group II : 左葉切除・右前区域切除・右後区域切除・中央 2 区域切除、Group III : 亜区域以下の切除までが可能)、これまで当科における肝切除術による術死は皆無である。本研究では多少のオーバーラップを認めるものの、各 Group における ¹³C 排出率 30 分値および ¹³C 累積回収率 80 分値の 95% 信頼区間は Table の如くであり、フェニルアラニン呼気試験による、新たな肝臓手術の術式 (最大容認肝切除量) 選択基準が確立されるものと考えられた。

次に、本研究では 27 例の肝切除を受けた患者を対象に、フェニルアラニン呼気試験が術後合併症予測に役立つか prospective に検討した。¹³C 排出率 30 分値と ICG R15 値が、術後合併症群 7 例と非合併症群 20 例の間で有意差を認めたが、症例数が少ないものの、¹³C 排出率 30 分値の方が ICG R15 値よりも、合併症群・非合併症群の分離がより良いことが示唆された。

最後に、4 例の閉塞性黄疸で入院した患者を対象にフェニルアラニン呼気試験を行なった結果、全例で ICG R15 値が高値を示したものの、黄疸時にも肝機能を評価できるとされている肝アシアロシンチの結果では、非施行例 1 例を除いた他の 3 例ではすべて肝機能は保たれており、フェニルアラニン呼気試験の結果でもほぼ同様の結果が得られたことから、フェニルアラニン呼気試験が (閉塞性) 黄疸時でも、アシアロシンチ同様に肝機能を評価できる可能性が示唆された。

Table ¹³C 排出率 30 分値および ¹³C 累積回収率 80 分値の 95%信頼区間

	Group I (n=14)	Group II (n=14)	Group III (n=14)
¹³ C 排出率 30 分値 (% ¹³ C dose/hr)	9.2-13.7	6.8-9.6	3.2-6.8
¹³ C 累積回収率 80 分値 (%dose)	9.3-12.8	6.6-9.8	3.8-7.1