

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 金本 英之

犬の肝疾患に対する臨床的な診断法には血液検査、画像診断、病理組織学的検査などがある。診断のゴールドスタンダードは病理組織学的検査であるが侵襲性や客観性・定量性に問題がある。これらの問題点を補うための診断的検査方法の確立を目的として、以下の研究を行った。

### 第一章：新規超音波造影剤ソナゾイドを用いた犬の肝臓における限局性病変の鑑別

犬の肝臓における悪性病変と良性病変を鑑別するための方法として、新規超音波造影剤ソナゾイドを臨床応用することを目的として研究を行った。健常な犬の肝臓におけるソナゾイドの造影効果を検討した結果、肝動脈、門脈および肝実質での造影効果を認め、実質相においてその造影効果は少なくとも15分以上持続した。さらに、肝臓に限局性病変のある症例に対してソナゾイドを用いた超音波造影検査を行った。実質相において、同検査は感度100%、特異性88.9%で悪性病変を良性病変と鑑別することができた。造影効果の長さ、診断能の高さから、ソナゾイドを用いた超音波造影検査は犬の腫瘍性肝疾患の鑑別に対する非侵襲的な診断方法として有用であることが示唆された。今後、超音波造影の制限事項や、健康診断スクリーニングとしての有用性、良性悪性を決める意義があるかないかについても臨症例を用いて検討する必要があることが指摘された。

### 第二章：犬の肝硬変のマーカーとしてのヒアルロン酸

ヒトの肝線維化マーカーであるヒアルロン酸について、肝疾患の犬における血中濃度と病理組織学的な肝線維化の程度、負の予後因子として報告のある黄疸および腹水の有無を比較した。さらに、肝臓組織中のヒアルロン酸の分布を検討した。肝硬変の症例では、非肝硬変性の肝実質疾患、健常群、肝臓以外の疾患群に比較して有意な血中ヒアルロン酸濃度の上昇が認められ、非肝硬変性の肝疾患群では肝臓以外の疾患群と比較して有意なヒアルロン酸濃度の増加が認められた。肝臓内においてヒアルロン酸の分布は線維組織の分布と一致するものであった。また、黄疸あるいは腹水のある症例はそうでない症例に比べて有意に高い血中ヒアルロン酸濃度を示した。血中ヒアルロン酸濃度の測定は、犬における肝硬変の鑑別において、非侵襲的な検査として有用であることが示唆された。今後の課題としては、ヒアルロン酸以外のマーカーについての検討が必要であり、肝硬変になる前の繊維化の時点モニターできるようになることが、臨床応用上は重要であることが指摘された。

### 第三章：犬の肝実質疾患における遺伝子発現解析の臨床診断への応用

犬の肝実質性疾患に対する客観的・定量的な検査として、遺伝子発現解析の応用について検討を行った。慢性肝炎（CH）と、アメリカンコッカースパニエルの肝障害（ACSH）についてマイクロアレイ解析を行ったところ、この二つの疾患群では遺伝子発現プロファイルが異なることが明らかとなった。この二つの疾患の鑑別に遺伝子発現解析の手法が有用である可能性が示唆された。両群で発現が上昇している遺伝子の多くはとくに線維化にかかわる遺伝子であると解釈できたが、炎症にかかわる遺伝子に関しては CH のみで上昇が認められた。ACSH は炎症以外の要因による線維化を病態とする疾患であることが示唆された。

次に、両群において発現の上昇が認められた遺伝子のうち、線維化にかかわる遺伝子の発現量を定量的 PCR にて定量し、病理組織学的な線維化の程度と各遺伝子の発現量を比較したところ、いずれの遺伝子においても強い相関が認められた。また CH の負の予後因子である黄疸あるいは腹水のある症例は、ない症例に比べて有意に各遺伝子の発現量が高かった。これらの結果から、これらの遺伝子の発現量を測定することで、線維化をより客観的・定量的に評価できる可能性が示唆された。今後の課題として、このマーカー遺伝子を実際の臨床例に用いて、その有用性を評価することが必須と考えられた。

本研究は、犬の慢性肝疾患に対する新たな検査ツールを提供するための基礎研究として、非常に有用であると考えられる。第1章の超音波造影に関してはすでに臨床応用が可能な手法であり、生検前のスクリーニングとして極めて有用性が高い。第2章の肝繊維化マーカーとしてのヒアルロン酸は、これまで獣医領域で全く取り扱われてこなかった臨床病理項目であり、肝硬変マーカーとしての位置づけは意義があるが、今後その他のマーカーについても検討するべきであろう。また第3章の遺伝子発現解析も、実際にどのように臨床に応用するのかを今後詳細に検討する必要があるが、新たな病態、重症度評価ツールとして期待できるものである。上記の内容については、犬の肝疾患の基礎獣医学上、そして臨床応用上非常に価値のあるものであり、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。