HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Application of contrast-enhanced ultrasonography of the hepatic vein for the differentiation of canine diffuse liver disease [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	森下, 啓太郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	乙第7026号
Issue Date	2017-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/66525
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Keitaro_Morishita_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：森下啓太郎

学位論文題名

Application of contrast-enhanced ultrasonography of the hepatic vein for the differentiation of canine diffuse liver disease

（犬のびまん性肝疾患の鑑別における肝静脈造影超音波検査の応用）

犬は、急性肝炎に比べ慢性肝炎の罹患率が高い。慢性肝炎のほとんどはその原因が明らかではなくいずれも進行性であり、最終的に肝線維症、肝硬変へと進行する。病態が進み、腹水貯留、肝性脳症、黄疸など肝不全兆候が認められた時点で治療介入をしても、すでに大部分の肝組織は不可逆的な障害を受けているため予後改善は困難である。よって、早期の診断、治療が必要不可欠であるが、初期の臨床徴候は非特異的、またはほとんど症状を呈さないため、オーナー自身が気付く事は難しい。また健康診断のために血液検査を実施したとしても、他の肝疾患との鑑別には有用ではないため、確定診断には肝生検が必要不可欠である。しかしながら、侵襲的な検査であるため全症例に実施するのは難しい。そこで本研究では超音波造影剤ソナゾイドを使用した肝静脈造影超音波検査（CUES）に着目した。本検査は、肝炎や肝硬変に起因する肝臓内の血行動態の変化（動脈化）を非侵襲的に検出することが可能であり、肝生検や観血的門脈圧測定の代替法として近年医学領域で注目されている。本研究の目的は、ソナゾイドを用いた犬の肝静脈 CEUS の手法を確立し、犬のびまん性肝炎、特に慢性肝炎や肝硬変の診断に寄与することである。

本研究は、①正常犬を用いた基準値の確立と検査の再現性評価、②犬の前類洞性門脈高血圧モデル 6 頭を作製し CEUS の測定値の変化を評価、③臨床例 41 頭を対象に CEUS は慢性肝炎の検出に有用かを検討、の 3 段階で実施した。

肝静脈 CEUS は、ソナゾイド 0.01 mL/kg を静脈内投与後から 2 分まで行い、画像解析ソフト ImageJ を用いて肝静脈内のエコー輝度の経時的変化を解析した。Time-intensity curve（TIC）を作成し、TIC 上に肝静脈到達時間（HVAT）、最高点到達時間（TTP）、最高相到達時間（TTPP）、減衰率（WR）の 4 つの測定項目を設定した。

実験 1 では、健康なビーグル犬 12 頭に対し各 3 回 CEUS を行った。プロポフォールの持続点滴によって不動化を実施した鎮静群（n=6）と用手保定のみで CEUS を実施した覚醒群（n=6）の 2 群についてそれぞれ測定項目の基準値を確立し、さらに検査の再現性を評価するため変動係数（CV）を算出した。ソナゾイド投与後、

肝内血管は肝動脈、門脈、肝静脈の順に造影増強効果を受け、肝静脈のエコー輝度は他の血管に比べ緩徐に上昇し、造影効果が最大値に達するまで約 10 秒を要した。造影効果はその後徐々に減衰していき、検査終了時のエコー輝度は最大値の約 20%であった。両群の測定項目に有意差は認められなかった。鎮静群の測定項目の CV は 11.8–14.8%であり良好な再現性を示したが、覚醒群の CV は WR（7.6%）以外では 25.3–29.7%であり鎮静群と比較し高い傾向であった。

実験 2 では、ビーグル犬 6 頭に門脈高血圧を誘導し、その前後で CEUS の測定項目がどのように変化するかを検討した。開腹手術下で膵十二指腸静脈から挿入したカテーテルの先端を肝門部の門脈本幹で固定し、対側のポート部を右上腹部の皮下に縫合した。直径 150–300 μm のマイクロビーズ 10–15 mg/kg を 5 日間隔でポート部より投与し、肝内門脈を徐々に塞栓させることで門脈圧を上昇させた。全ての犬で門脈高血圧を誘導することが可能であり、必要なビーズ量の中央値は 170 mg/kg（範囲：105–285 mg/kg）であった。肝静脈は門脈高血圧を誘導する前と比較し急速に造影増強され、TIC の立ち上がり角度が上昇していた。4 つの測定項目のうち、TTP、TTPP の有意な短縮が認められた。単回帰分析の結果、TTPP と門脈圧との間に負の相関が認められた（$R^2 = 0.548$; $P = 0.014$）。以上の結果から、門脈高血圧によって TTPP が短縮することが明らかとなり、これは門脈高血圧に伴う肝臓の動脈化を反映していると考えられた。

実験 3 では、2012 年 11 月から 2016 年 5 月に北海道大学附属動物病院に来院し、びまん性肝疾患と診断された犬 41 頭を対象に肝静脈 CEUS を行った。肝生検や臨床病理検査結果をもとに、対象犬を肝炎群、原発性門脈低形成群、先天性門脈体循環シャント群、その他の肝疾患群に分類し、実験 1 で確立した正常犬のデータを合わせて各群の測定項目の差異を検討した。その結果、肝炎群における WR（中央値 18.0%、範囲 2.0–37.0%、n=14）は、原発性門脈低形成群（中央値 52.2%、範囲 11.5–86.3%、n=7）、先天性門脈体循環シャント群（中央値 60.0%、範囲 28.6–77.4%、n=9）、その他の肝疾患群（中央値 70.5%、範囲 26.6–88.4%、n=11）、正常犬（中央値 78.0%、60.7–91.7%、n=6）に比べ有意に低値であった。受信者操作特性（ROC）解析の結果、WR を≦37.1%とした場合の慢性肝炎の診断精度は、ROC 曲線下面積（AUROC）0.960、感度 100%、特異度 85.2%であった。以上の結果から、WR は実際の臨床例において慢性肝炎とその他の肝疾患を鑑別できる可能性が示唆された。

本研究によって、ソナゾイドを用いた犬の肝静脈 CEUS の手法が確立され、TIC 上に設定した測定項目のうち、WR は犬の慢性肝炎の診断に有用である可能性が示唆された。超音波造影剤ソナゾイドは肝臓の Kupffer 細胞によって貪食される性質を有する。従って WR が低下する要因として、炎症による Kupffer 細胞の貪食能の低下、組織構造の破壊や小肝症による Kupffer 細胞数の減少が挙げられた。さらに類洞の狭小化によって有効類洞血流量が減少し、貪食される造影剤の量が減少した可能性も考えられた。WR は他の測定項目と比較し良好な再現性を有することから、今後の臨床応用も期待できる。

一方、実験 2 の結果から、門脈圧の上昇に伴い TTPP が短縮することが示された。よって同一個体内の TTPP の経時的変化を追うことによって、門脈圧の上昇を予測できる可能性が示唆された。