

Title	肝組織内銅および銅結合蛋白の肝CT値に及ぼす影響-ラットによる実験的検討-
Author(s)	吉川, 淳; 松井, 修; 秋元, 学 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1995, 55(3), p. 190-192
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/15044">https://hdl.handle.net/11094/15044</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 肝組織内銅および銅結合蛋白の肝 CT 値に及ぼす影響

—ラットによる実験的検討—

吉川 淳      松井 修      秋元 学      真田順一郎  
 上田 隆之      高島 力

金沢大学医学部放射線医学教室

**Effect of Copper and Copper Binding Protein  
 on the CT Attenuation Value of Liver :  
 Experimental Study in Rats**

Jun Yoshikawa, Osamu Matsui,  
 Manabu Akimoto, Junichiro Sanada,  
 Takayuki Ueda and Tsutomu Takashima

We analyzed the effect of copper and copper binding protein on CT attenuation value in a rat model. CT attenuation values of the liver were compared with hepatic copper content and grade of orcein-positive granules, which are thought to be a counterpart of polymerized methalothionein in lysosomes. The difference between hepatic copper and CT attenuation value was not statistically significant ( $R=0.056$ ,  $p=0.96$ ). CT value had a positive correlation with the grade of orcein-positive granules ( $Rho=0.755$ ,  $p=0.0001$ ). We concluded that the CT attenuation value of liver can be elevated by rich polymerized methalothionein (copper binding protein) in lysosomes.

Research Code No. : 514.1

**Key words** : CT, Copper, Copper binding protein,  
 Hepatocellular carcinoma

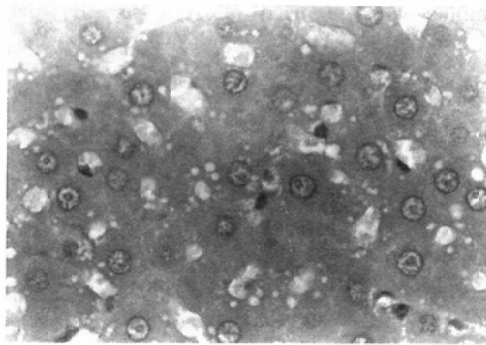
Received Aug. 18, 1994; revision accepted Sep. 21, 1994  
 Department of Radiology, Kanazawa University

## はじめに

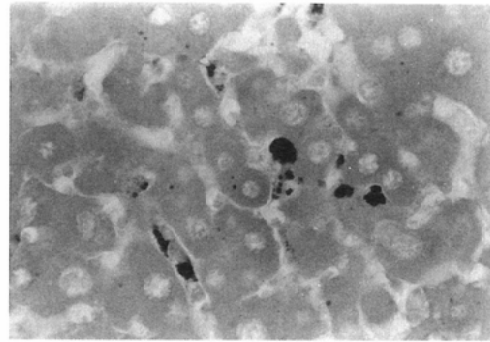
近年単純 X 線 CT で高吸収値を呈す肝細胞癌において、オルセイン染色で強陽性を呈す例があることが報告され、同時に腫瘍内に高度の銅の存在が指摘されている<sup>1,2)</sup>。筆者らは、肝組織中の金属銅および銅結合蛋白のどちらが肝 CT 値上昇の原因であるかを考察するために、銅の先天代謝異常をもつ Long-Evans Cinnamon rat (以下 LEC ラット) と銅負荷を行った Wistar rat (以下 Wis ラット) を用いて検討した。

## 方法

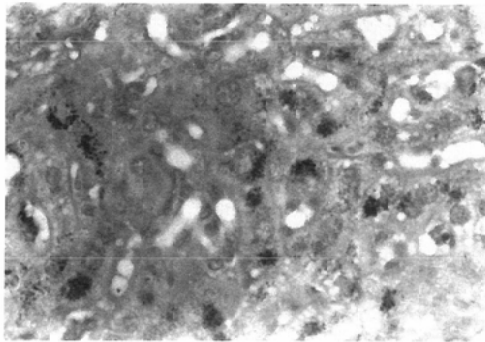
40 匹の Wis ラット (体重 250-300g) を用い、うち 5 匹を正常対照とした。肝内胆汁うっ滞に伴い肝内オルセイン陽性顆粒が出現することから<sup>3)</sup>、5 匹の Wis ラットは総胆管を腭上縁で結紮した。15 匹は、さらに過剰の銅負荷を行い高度のオルセイン陽性顆粒の出現を期待し、総胆管結紮後に塩化第二銅液として銅量 1.8-2.4mg/kg を腹腔内投与した。15 匹は Toyokuni らの方法に従い<sup>4)</sup>、硫酸銅をニトリノ三酢酸 (Nitritriacetic acid : 以下 NTA) でキレートし、銅量として 4mg/kg を腹腔内に連日または隔日投与した。LEC ラットは、肝内に高度の銅沈着が出現する慢性肝炎期 (15 月齢) のうちで、Wis ラットと体重の一致した 5 匹を使用した。実験開始後 21 日から 120 日に、肝 CT 値を測定後、肝臓を摘出し、ヘマトキシリン・エオジンおよびオルセイン染色で観察した。オルセイン陽性顆粒は、0 : 陽性顆粒を認めないもの、1 : 類洞内 kupffer 細胞にのみまたは一部肝細胞内に少量認められるもの、2 : 小葉中心部または周辺部の肝細胞内に 1 と 3 の中間程度認められるもの、3 : 小葉中心部および周辺部肝細胞内に多量に認められるものの 4 段階 (スコア) に分類した (Fig. 1)。肝組織内銅濃度は、新鮮乾燥凍結標本の原子吸光法により測定した。肝 CT 値と組織内銅濃度の関係は一次回帰直線により、スコア化した陽性顆粒と CT 値



(A)



(B)



(C)

Fig. 1 Finding in orcein stain of rat liver

(A) Normal rat. No orcein positive granules are seen (grade 0).  
 (B) LEC rat. Orcein positive granules are seen mainly kupffer cells in sinusoid (grade 1).  
 (C) Rat with CBD ligation followed by additional copper overload. Numerous orcein positive granules are seen in hepatocytes (grade 3).

の相関はスピアマンの順位相関係数 (Spearman's correlation coefficient by ranks) により判定した。

結 果

肝 CT 値と組織内銅との間には相関係数  $R=0.056$  ( $p=0.96$ ) と有意の相関は認められなかった (Fig. 2). スコア化したオルセイン陽性顆粒と肝 CT 値の相関は, Spearman の順位相関係数  $Rho=0.67$  ( $p=0.0001$ ) (補正值  $0.738$ ) ( $p=0.0003$ ) と有意の相関を認めた (Fig. 3). LEC ラット肝の CT 値は正常対照よりも軽度上昇していたが, 銅負荷を行った Wis ラット群よりも有意に低かった。

考 察

今回の検討では, Wis ラット, LEC ラット両群を含む系で肝内銅濃度と CT 値の間には明らかな相関関係は認められず, 生体に存在し得る組織内銅濃度の CT 値に与える影響はほとんど無視できると考えられた. 一方スコア化したオルセイン陽性顆粒と肝 CT 値の間には相関関係が認められた. オルセイン染色は, 細胞質中の可溶性の銅結合蛋白そのものを染色せず, ライソゾーム内の凝集した銅結合蛋白成分を可染するとされ<sup>3)</sup>, ラット肝においてもヒト肝と同様の染色所見を示すことが報告されている. したがって, オルセイン陽性顆粒と肝 CT 値の間の有意の相関は, 肝細胞内ライソゾーム内粗大凝集銅結合蛋白と肝 CT 値の間の相関に置き換えることが可能と考えられ, 肝の CT 値を上昇させる要因としては, 組織内金属銅ではなく銅結合蛋白が考えられた.

筆者らおよび中越らの検討によっても LEC ラット肝細胞質中にはオルセイン陽性顆粒状の出現がほとんどないが<sup>5)</sup>, 細胞質内には瀰漫性に高濃度に銅結合蛋白が存在することが示されている<sup>6)</sup>, したがって LEC ラット肝では

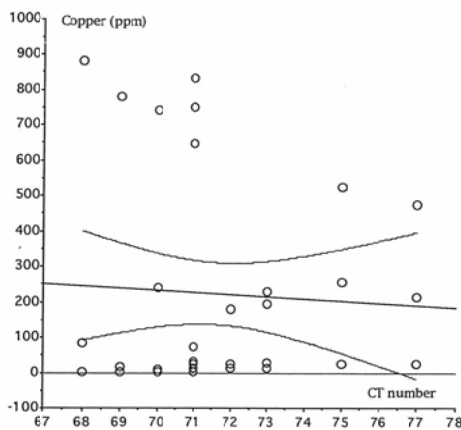


Fig. 2 Correlation between hepatic copper content and CT attenuation value

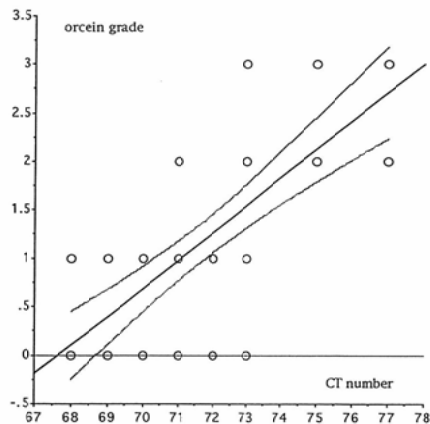


Fig. 3 Correlation between grade of orcein positive granules and CT attenuation value

銅結合蛋白が多量に存在してもライソゾーム内で凝集した形にならないと考えられるが、今回の検討では LEC ラット肝 CT 値の上昇が他群に比較して軽度であった。したがって、銅結合蛋白の存在様式と CT 値の関係では、細胞質中に瀰漫性に高度の銅結合蛋白が存在しても CT 値の上昇の原因とならず、高度に凝集した形で多量に存在することが必要と考えられた。

本研究は、文部省科学研究費補助金一般研究 (C) (課題番号 04670662) の援助を受けた。

#### 文 献

- 1) Kitagawa K, Matsui O, Kadoya M, et al: Hepatocellular carcinoma with excessive copper accumulation: CT and MR findings. *Radiology* 180: 623-628, 1991
- 2) Yuki K, Kondo Y: High-density hepatocellular carcinoma on unenhanced CT. *AJR* 158: 917, 1992
- 3) 中沼安二, 太田五六: 各種肝疾患の肝細胞に出現する顆粒状オルセイン陽性物質と肝組織内銅量, *日消誌* 75: 1190-1195, 1978
- 4) Toyokuni S, Okada S, Hamazaki S, et al: Cirrhosis of the liver induced by cupric nitrinotriacetate in Wistar rats. *Am J Pathology* 134: 1263-1274, 1989
- 5) Nakakoshi T, Fujita N, Kang JH, et al: Magnetic resonance imaging of hereditary spontaneous hepatitis in Long-Evans Cinnamon rats. *Invest Radiol* 28, 1010-1014, 1993
- 6) 菅原直毅, 西村久雄, 西村典子, 他: 肝炎肝癌自然発症 LEC ラットの肝臓における銅メタロチオネインの局在-免疫組織学法による検討-, *札幌医誌* 62: 189-192, 1993