

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Effect of formalin fixation on measured concentrations of deposited gadolinium in human tissue : An autopsy study
別タイトル	組織内のガドリニウム濃度に対するホルマリン固定の影響の検討
作成者（著者）	長谷川, 誠
公開者	東邦大学
発行日	2022.12.14
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：堀正明 / タイトル：Effect of formalin fixation on measured concentrations of deposited gadolinium in human tissue : An autopsy study / 著者：Makoto Hasegawa, Desiree A. Marshall, Luis F. Gonzalez Cuyar, Daniel S.Hippe, Shar Samy, Kenneth R. Maravilla / 掲載誌：Acta Radiologica / 巻号・発行年等：63(3): 345 350, 2022 /
著者版フラグ	none
報告番号	32661乙第2969号
学位記番号	乙第2805号
学位授与年月日	2022.12.14
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD32187313

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

長谷川 誠より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号乙第 2805 号

学位申請者 : は せ がわ まこと
長 谷 川 誠

学位論文 : Effect of formalin fixation on measured concentrations of deposited gadolinium in human tissue : An autopsy study

(組織内のガドリニウム濃度に対するホルマリン固定の影響の検討)

著 者 : Makoto Hasegawa, Desiree A. Marshall, Luis F. Gonzalez-Cuyar, Daniel S. Hippe, Shar Samy, Kenneth R. Maravilla

公表誌 : Acta Radiologica 63(3) : 345-350, 2022

論文内容の要旨 :

背景・目的:

ガドリニウム (Gd) 造影剤は MRI 検査において診断能を向上させることができるため、臨床的に広く使用されている。造影剤に使用されている Gd そのものはレアアースの一種で、人体に毒性があるが、造影剤で使用される場合はキレートに結合しているため患者に安全に投与できる。ただし、一部の不安定なキレートから Gd が遊離することが知られており、腎性全身性線維症 (nephrogenic systemic fibrosis : NSF) との関連性が指摘されている。正常腎機能患者では Gd 造影剤 (Gadolinium Based Contrast Agent : GBCA) は投与後 24 時間以内にほとんど尿中に排泄されると考えられているが、近年は正常腎機能患者でも微量の Gd が体内に沈着していることが報告されている。

体内の Gd 沈着を証明する研究の多くは剖検例から得られた組織を誘導結合プラズマ質量分析法 (inductively coupled plasma mass spectrometry : ICP-MS) を用いて検出しているものが多い。ただし、剖検例から得られた組織は通常ホルマリン固定されてから分析されている。GBCA は水溶性であるため、ホルマリン固定により沈着している Gd 量は変動する可能性があるが、その影響は検証されていない。本研究の目的は剖検例から得られた組織内 Gd 濃度のホルマリン固定の影響を検証することである。

対象・方法:

University of Washington で 2017 年 4 月から 9 月の間の剖検例のうち、カルテ情報から GBCA の使用歴のある症例から皮膚

および骨のサンプルが採取された。ホルマリンに固定されていない状態の皮膚および骨より3種類の組織片（採取された状態で冷凍保存、ホルマリン固定1か月およびホルマリン固定3か月）が作成された。また、カルテ情報よりGBCAの種類（linear、macrocylic）、投与量、投与回数、患者情報（年齢、性、推算糸球体濾過量：estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR))を記録した。

組織内のGd濃度の測定はICP-MSを用い、新鮮・固定（1か月）・固定（3か月）のGd濃度の変化率（%）が計算された。また、腎機能、造影剤の種類等のサブグループ間の比較を2標本t検定（two-sample t-test）を用いて行った。

結果：剖検例18例のうち、12例にmacrocylic GBCA、1例にlinear GBCA、5例は両タイプが投与されていた。eGFRが60未満であった5例のうち3例はmacrocylic GBCAのみ投与されていた。

骨のサンプルでは新鮮なものと比較して1か月固定ではGdの濃度は平均として30.7%減少した。1か月と3か月固定の比較ではGdの変化はごくわずかで、平均として1.5%の減少がみられた。新鮮なものから1か月と3か月の濃度の平均値の変化は-31.2%であった。皮膚のサンプルは骨のサンプル同様に新鮮なものと比較して1か月固定でGd濃度は平均で36.9%低下していた。ただし、骨のサンプルと違い、サンプル間のばらつきがみられた。

過去の報告同様に新鮮なサンプルではGdの濃度は骨で一番高く、腎機能が低下している患者のサンプルで有意に高かった。また、macrocylic GBCAのみが投与されていた患者からのサンプル内のGdはlinear GBCAが投与されていた患者からのサンプル内の濃度よりも有意に低かった。しかし、ホルマリン固定によるGd濃度の変化率はmacrocylic GBCA、linear GBCAの比較では有意差は見られなかった。

考察：

GBCAと腎機能低下患者のNSFの関連が報告されてから、正常腎機能患者でのGdの体内沈着が注目されるようになった。特に造影MRIを繰り返された患者の淡蒼球・歯状核のT1 weighted imaging 高信号が報告されてから、沈着しているGdの量や影響について動物実験や剖検例から得られた組織をICP-MSを用いて検討した報告が増えている。剖検例から得られた組織の多くはホルマリン固定・パラフィン固定がされているが、それらの影響について検討はあまりなされていない。過去の報告ではホルマリン固定およびパラフィン固定後の前立腺組織では亜鉛（Zn）などの金属化合物は固定前と比較して $24 \pm 11\%$ の低下が報告されている。動物実験では脳組織のホルマリン固定ではGdの濃度に有意な影響が無いという報告がある。ただし、動物実験のサンプルサイズは小さく、またヒトの剖検例とはGdの挙動は違いがあると考えられる。今回の結果ではホルマリン固定で固定前と比較して30-40%の濃度低下がみられた。特に最初の1か月で大きく変化していることが分かった。

今回の検討ではいくつかの限界がある。まず、小さいサンプルサイズがあげられる。また、脳組織は剖検例から採取できなかったことから含まれていないことがあげられる。腎機能低下患者ではよりGd濃度の変化率が高かったが、正常腎機能患者と沈着しているGd化合物が異なる可能性が考えられた。しかし、その原因は今後も検討が必要と考える。

結論：

剖検例から得られた組織ではホルマリン固定によりGd濃度は大きく低下することが分かった。今後の組織内のGd濃度を検討する研究では組織の固定方法や固定期間にも注意が必要と考えられた。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号乙第 2805 号	氏 名	長 谷 川 誠
学位審査担当者	主 査	堀 正 明
	副 査	高 橋 啓
	副 査	常 喜 信 彦
	副 査	内 藤 篤 彦
	副 査	佐 藤 二 美

学位論文の審査結果の要旨 :

臨床のMRI 検査において、ガドリニウム (Gd) 造影剤は広く用いられている。正常腎機能の患者でも、微量の Gd の残存、沈着が知られている。この組織に沈着した Gd の検出に、誘導結合プラズマ質量分析法(inductively coupled plasma mass spectrometry : ICP-MS)が広く用いられている。剖検例の組織はホルマリン固定後であるが、分析に対する固定の影響に関して知られておらず、その影響を調査した。

University of Washington で 2017 年 4 月から 9 月の間の剖検例のうち、Gd 造影剤の使用歴のある症例から頸部皮膚および肋骨のサンプルが採取され、3 種類の組織片 (採取された状態で冷凍保存、ホルマリン固定 1 か月およびホルマリン固定 3 か月) が作成された。また、カルテ情報より Gd 造影剤の種類 (キレートが直鎖型、環状型)、投与量、投与回数、患者情報 (年齢、性、eGFR) を記録した。Gd 濃度の測定は ICP-MS で行われ、経時的な変化率の測定および、腎機能等によるサブグループ解析が行われた。

ホルマリン固定前と比して固定 1 か月後で、骨のサンプルで平均 30.7%、皮膚のサンプルで平均 36.9%Gd の濃度低下が認められた。固定後 1 か月後と 3 か月後での差はわずかであった。固定前のサンプルでは Gd 濃度は骨で高く、腎機能が低下している患者のサンプルで有意に高かった。環状型の Gd 造影剤のみを使用した群で、そうでない群と比して Gd 濃度は有意に低かった。固定後の Gd 濃度の変化率に関しては、造影剤の種類による差がなかった。

学位審査会は、2022 年 10 月 25 日に堀、高橋、内藤、佐藤が参加し、常喜は書面審査として評価を行った。まず申請者より約 20 分間の研究報告があった後に質疑応答がなされた。質疑応答では、Gd の生体への沈着の意義と毒性に関する現状のコンセンサス、過去の脳への沈着における報告との相違、サンプル部位 (臓器) による結果の相違の意義、本研究結果における生体での Gd 沈着量の妥当性について、より非侵襲的な手法を用いた今後の研究の展望などの質問がなされた。申請者はそれら全ての質問に適切に回答した。

本研究は、Gd 造影剤使用後の生体への沈着の評価に関して、多くの既報にあるホルマリン固定後では実際より低く算出されている可能性が高いことを示し、今後の方法論を確立する上で重要な研究であり、審査委員全員一致のもとで、学位に値するものと判断された。