

Title	隣保存に関する実験的研究 : 72時間保存を成功させるための要因
Author(s)	金井, 俊雄
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35403
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【30】

氏名・(本籍)	か 金	い 井	とし 俊	お 雄
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7362	号	
学位授与の日付	昭和61年5月30日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	膵保存に関する実験的研究			

— 72時間保存を成功させるための要因 —

論文審査委員	(主査)	森	武貞
	(副査)	教授 杉本 侃	教授 園田 孝夫

論文内容の要旨

[目的]

現在、臨床の膵移植に用いられている保存法は単純冷却保存で、この方法では保存液の組成が非常に重要である。Collins液、Sacks液などがよく用いられるが、これらはすべて腎の保存において開発されたものである。保存時間についても、実験的には48時間までは可能であるが、腎の96時間と比較する著しく劣っている。膵には内分泌と外分泌の両細胞が併存し、傷害された膵は、外分泌細胞からの消化酵素による自己融解をうける特殊性もある。従って、膵特有の保存液の検討が必要である。

本研究は、4℃単純冷却保存法で72時間の膵保存を安全に、しかも確実にを行うための保存液を作製することを目的とした。そこで、まず、保存膵のviabilityをin vitroで判定する方法として膵灌流法を考案した。次に、この灌流法を用いて、72時間膵単純冷却保存のための、保存液の至適条件について検討した。最後に、灌流法で得られた結果の有効性を確認するために、72時間保存した犬膵臓の同種移植を行った。

[方法]

実験動物には、雑種成犬164頭を用いた。

膵保存は、摘出した膵左葉を脾動脈より、4℃の冷却保存液約30mlで灌流した後、4℃の同保存液500mlに浸漬して行った。まず、Ringer's lactate液とSacks' II液 (pH7.8) を用いて48時間の保存を行った。次に、Collins'M液、Sacks' II液 (pH7.0)、およびSacks' II液を基礎液とし浸透圧を変えた液 (220, 290, 430mOsm/L)、グルコース濃度を変えた液 (0, 100, 250mg/dl)、pHを変えた液 (6.2, 7.0, 7.4, 7.8 at 4℃) を使用して72時間保存を行った。これらの保存液について膵保存の有効性を比較検討す

るとともに、添加薬剤としてのアプロチニン (10万K I E/L), メチルプレドニゾロン (250mg/L) の必要性の有無についても検討した。

48時間保存膵は、灌流と移植の二つの方法で viability の判定を行い、両者の相関性を検討した。72時間保存膵は、先ず灌流法を用いて viability の判定を行い、各種保存液を検討した。次に、最良の成績の得られた溶液で72時間保存した膵を移植し、その膵の viability を確認した。

灌流は、single-pass method で行い、灌流液には、Iversen 法に準じ、Krebs-Ringer 液を用いた。Viability の判定は、灌流液中のグルコース濃度を50mg/dlから200mg/dlへ変化させた時の、30分間の insulin 分泌変化総量 ($\Sigma \Delta I R I$) を指標とした行った。移植は、同種動物の右腸骨窩に行った。膵管は尿管と吻合、レシピエントの膵は全摘した。術後、免疫抑制剤は使用しなかった。移植後、経時的に空腹時血糖 (FBS) を測定した。72時間保存膵移植犬においては、術後7日目に経静脈ブドウ糖負荷試験 (IVGTT) を行った。また、移植膵を顕微鏡および電顕を用いて組織学的にも検討した。

[結 果]

I. 保存膵機能評価における灌流法の妥当性について

48時間保存された膵の viability 判定に、灌流法と移植を用い、比較検討した。Sacks' II 液 (pH7.8) 保存膵は、灌流法で8例中5例が新鮮膵と同等の insulin 反応 ($\Sigma \Delta I R I$ 値: 9,000 μU 以上) を示し、また移植実験においても8例中5例が5日以上良好な膵機能 (FBS: 150mg/dl以下) を示した。一方、Ringer's lactate 液保存膵は、全例で著しく低い insulin 分泌 ($\Sigma \Delta I R I$ 値: 630 μU 以下) を示し、移植成績も悪く、8例中1例5日以上良好な膵機能を示したにとどまった。以上より、保存膵の移植後の機能は、灌流法による $\Sigma \Delta I R I$ の値と相関することが明らかとなった。

II. 灌流法による72時間膵保存液の至適条件の検討

先ず、保存液としてCollins' M液あるいはSacks' II (pH7.0) 液を検討した。Collins' M液保存膵では8例中2例が、またSacks' II 液 (pH7.0) 保存膵では7例中5例が、新鮮膵と同等の insulin 分泌反応 ($\Sigma \Delta I R I$ 値: 9000 μU 以上) を示した。次にSacks' II 液を基礎液として、保存液のpH、浸透圧、グルコース濃度の効果、および添加薬剤としてのアプロチニンとメチルプレドニゾロンの効果について検討した結果、pHは7.4、浸透圧は高張 (420-430mOsm/L)、グルコース濃度は低濃度 (0-100mg/dl) が有効で、両添加薬剤は必須であることが判明した。

III. 72時間保存膵の移植成績

至適条件の保存液を用いて72時間保存した膵を同種移植したところ、11例中8例で、5日以上にわたりFBSが150mg/dl以下に維持され、移植膵が機能しているものと思われた。術後7日目に、8例中7例にIVGTTを施行したところ、全例に有意の insulin 分泌 (I.I.: $0.7 \pm 0.04 \mu U / mg \times 100$) を認めた。血糖消失K値は $2.63 \pm 1.65\% / min$ であった。術後7日目の組織像では、顕微鏡的には小円形細胞の浸潤を認めたが、ラ氏島の形態は保持され、電顕的にはラ氏島内に β 顆粒を多数認めた。

[総 括]

1. 保存膵の灌流法における $\Sigma \Delta I R I$ 値は、膵移植の成績とよく相関し、保存膵の viability 判定に有用であると考えられた。

2. 灌流法を用いて検討した結果、脾保存のための保存液の至適条件は、基礎液として高張な（420－430mOsm/L）Sacks' II液を用いpHを7.4に保ち、アプロチニン（10万K I E/L）およびメチルプロドニゾロン（250mg/L）を添加することであった。
3. 本保存液を用いた4℃単純冷却法により、72時間保存した犬脾の移植に成功した。

論文の審査結果の要旨

脾は保存に弱く、実験的にも48時間保存が限度とされてきた。本研究は、まず保存脾のviabilityを判定する方法として脾灌流法を考案し、次にこの判定法に基づいて保存液を改良し、72時間の脾保存の可能性を検討したものである。脾の保存液として備えるべき条件を詳細に検討し、得られた至適条件下で72時間保存した犬脾臓の同種移植に初めて成功している。その成績は臨床脾移植に寄与するところ大であって、学位に値する。