



| | |
|--------------|--|
| Title | 31P nuclear magnetic resonace (NMR) を用いた腎保存の研究 |
| Author(s) | 国方, 聖司 |
| Citation | 大阪大学, 1987, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/35753 |
| 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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | | | | |
|---------|---|-------|-----|-------|
| 氏名・(本籍) | 國 | 方 | 聖 | 司 |
| 学位の種類 | 医 | 学 | 博 | 士 |
| 学位記番号 | 第 | 7847 | 号 | |
| 学位授与の日付 | 昭和 | 62年 | 8月 | 3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 | ³¹ P nuclear magnetic resonance (NMR) を用いた腎保存の研究 | | | |
| 論文審査委員 | (主査) 教 授 | 園田 孝夫 | | |
| | (副査) 教 授 | 森 武貞 | 教 授 | 小塙 隆弘 |

論文内容の要旨

[目的]

現在、死体腎移植の普及とともに、腎移植するまでの保存腎をいかに保存するかが問題となっている。しかし臨床的に確立された保存腎の viability 判定法すらほとんどないのが現状である。

近年、非破壊的に測定でき種々の生化学的情報が得られる NMR を用いて、阻血腎ひいては腎移植に供する保存腎の viability 判定法を実験的に検討したので報告する。

[方法]

実験動物としては、家兎（約 1 kg）を用いて全実験をおこなった。

実験 1 ペントバルビタール麻酔下の家兎から左腎を摘出、洗浄し、直ちに人工血液である oxypherox® (pH=7.4) を用いて 37°C のもとで、400ml/時の定常流灌流をおこなった。灌流にて代謝が安定したところで、ポンプを止め、30分、45分、60分の阻血状態を作製し、この後再灌流をおこなった。初期灌流、阻血、再灌流の間、連続的に ³¹P NMR 測定をおこなった。測定装置は、日本電子 FX 200 分光器を用い、径 25mm NMR 試験管にて測定した。NMR 条件は、45パルス、2 秒のくりかえしで 1 測定には 250 回積算した。また化学シフトは、85% 磷酸を基準とした。細胞内 pH は、無機磷酸 (Pi) の化学シフト値から滴定曲線を用いて求めた。

実験 2 家兎腎の摘出、洗浄後、室温 (22°C) 下にて灌流することなく一定期間 (5 分～150 分) の間、単純保存し、この後灌流を開始した。保存 (阻血)、灌流の間、連続的に ³¹P NMR 測定をおこなった。測定条件は、室温でおこなった以外、すべて実験 1 と同様におこなった。

実験 3 麻酔下の家兎を左腰背部斜切開し、左腎を露出した。この後、プラスチック血管鉗子にて腎茎

部をクランプして阻血状態を作製し、一定時間（30分～3時間）の阻血後、血流を再開した。阻血前、阻血中、血流再開とこの間、連続的に³¹P T M R測定をおこなった。測定装置は、Oxford Research System T M R 32／200分光器を用いた。測定条件は、30° パルス、1.5秒のくりかえして1,000回積算した。また阻血前、阻血中、血流再開での腎組織のadenine nucleotideを高速液体クロマトグラフィーにても測定した。

〔成 績〕

灌流腎およびin vivoでの家兎腎の³¹P N M Rおよび³¹P T M R測定では、A T P (α , β , γ), A D P (α , β), A M P, Pi, 糖磷酸のシグナルが認められた。腎を阻血状態にすると、A T Pのシグナルは急速に減少するが、細胞内酸性化は比較的ゆっくりと進行した。実験1にて、阻血後のA T Pの再合成、細胞内酸性化の回復を検討するに、阻血時間が長いほど、これらの回復率は低下した。また室温（22°C）保存の実験2では、約100分の阻血にて細胞内pHは6.5と安定化した。そしてこれ以後は、細胞内酸性化は進行しないが、灌流してもA T P再合成、細胞内酸性化の回復は少なかった。これより阻血腎の回復の限界点は、22°Cのもとでは、細胞内pHが6.6～6.5（阻血時間90～150分）の間にあると考えられた。³¹P T M R測定した実験3において、各阻血腎に対してA T P intensity/Pi intensityのパラメーターを設定して検討するに、血流再開によるこのパラメーターの回復率は、阻血時間が短いものほど良好で、阻血時間が長いものは回復率が低かった。またこれは、高速液体クロマトグラフィーにて測定したA T P再合成率と相關した推移を示しており、A T P/Piのパラメーターは、阻血腎の障害度評価の有効な指標となると考えられた。

〔総 括〕

1. ³¹P N M Rをもちいると非破壊的に、腎組織の磷酸代謝物が測定でき、Piの化学シフト値から細胞内pHがもとめられた。
2. 阻血腎では、腎組織のA T Pは急速に減少するが、細胞内酸性化は比較的ゆっくりと進行した。そして酸性化の高度なものほど、A T P再合成能、細胞内酸性化の回復力が低下した。このことより、阻血腎の細胞内pHは、腎のviabilityを反映していると考えられた。
3. ³¹P T M Rにて測定されたA T P intensity/Pi intensityは、阻血腎の障害度評価に有効な指標であると考えられた。
4. 現在、試料口径の大きいN M R、T M R装置が開発されつつあり、将来³¹P N M Rを用いた保存腎のviability判定が、臨床応用できるであろうと考えた。

論文の審査結果の要旨

家兎腎に対し、経時的に³¹P N M Rを用いて阻血によるA T Pシグナルの減少及び細胞内酸性化の進行を観察した。再灌流後のA T P再合成及び細胞内酸性化の回復能から室温下における阻血腎の機能回復の限界は90分ないし150分の間にあることを推定した。また³¹P T M Rを用いたin vivoの阻血実験に

おいても同様の結果を得た。阻血腎の障害度評価の指標としてATP/Piのintensity比が有用であることを提唱したことは死体腎移植における保存腎のviability判定法として簡便、非侵襲的であり臨床応用の可能性を示すもので、学位論文に値する。