



Title	肝移植におけるグラフト障害の発生機序－微小循環障害の関与
Author(s)	竹井, 謙之
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38396
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 ^{たけ}竹 ^い井 ^{よし}謙 ^{ゆき}之

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 0 5 1 9 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 5 年 2 月 5 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 肝移植におけるグラフト障害の発生機序---微小循環障害の関与

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 鎌 田 武 信

(副査)
教 授 森 武 貞 教授 松 田 暉

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

肝移植の臨床への応用にあたっては、多くの克服すべき課題があり、拒絶反応と並んで、移植直後に起こる臓器機能不全“primary nonfunction (PNF)”がグラフトの予後に大きな影響を与える因子として重要である。しかし、PNFの成因はいまだ明らかなではない。本研究では、微小循環の面からグラフト障害の発生機序を明らかにし、さらに微小循環障害におけるKupffer細胞の関与について検討した。

[方法ならびに成績]

(1) ラット同所性肝移植

免疫系の関与を排除するため、ドナー、レシピエントともにLewisラットを用いた。グラフトはEuro-Collins (EC)臓器保存液中に0-4℃にて単純浸漬保存した。ラットを用いた同所性肝移植は、門脈と下肝下大静脈をそれぞれカフを用いて再建することにより行った。

(2) 移植後のグラフト微小循環の評価

移植手術後、蛍光生体顕微鏡システムにより肝微小循環を解析した。Acridine orange ($2.5 \mu\text{mol/kg i. v.}$)により多核白血球を標識し、類洞内白血球速度を算出した。肝細胞viabilityの判定はpropidium iodide (PI)を静注し、PI陽性細胞を検出した。コントロール(非移植)肝では、白血球速度は $500\text{--}550 \mu\text{m/sec}$ で白血球は類洞内を滑らかに移動した。しかし、EC保存液に1時間保存後(生存条件)移植された肝では、術後4時間後の白血球速度は $232 \pm 32 \mu\text{m/sec}$ と半減し、ECに4時間保存後(非生存条件)の肝では、 $145 \pm 12 \mu\text{m/sec}$ とさらに有意に減少していた。一方、白血球の類洞壁への接着現象は1時間保存群では類洞内白血球数の約1.6%に認められたにすぎなかったが、4時間保存群では約10%に達した。移植4時間後の観察では、1時間保存群においてPI陽性の壊死肝細胞はほとんど認められなかったのに対し、4時間保存群では肝小葉全域に広範な壊死細胞の出現を認めた。

(3) 冷保存によるKupffer細胞の活性化

好中球の内皮細胞への接着は活性マクロファージ(M ϕ)や好中球より放出される種々のメディエーターにより内皮

細胞表面が損傷を受けたり、接着分子の発現が起こることによって惹起される。そこで、冷保存が、肝の resident Mφ である Kupffer 細胞 (KC) の機能に及ぼす効果について検討した。肝は EC 保存液にて 4-24 時間、冷保存を行ない、保存終了時のグラフト KC のコロイドカーボンの貪食能によりその活性化度を評価した。4 時間の保存後には、グラフトのカーボン摂取率は非保存肝 ($102 \pm 19 \text{ mg/g/h}$) に比し約 30% 増加しており、さらに長時間の保存では時間依存性にカーボン摂取率は増加した。移植後 2 時間のグラフト肝の走査電顕像では、KC の形態的活性化、内皮細胞傷害が認められ、保存時間が長くなるほどこれらの所見はより顕著であった。一方、レシピエントの上肝下大静脈血で測定した tumor necrosis factor (TNF) 値は術後早期より保存時間に依存して上昇を開始し、術後 2 時間でピーク値に達した。あらかじめドナーラットに KC 機能を抑制する methyl palmitate を投与しておくことで KC 活性化は抑制され、グラフトの生存時間は有意に延長した。

(4) Ca 拮抗剤のグラフト保護効果

KC の活性化は、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇によって惹起される。そこで、Ca 拮抗剤 nisoldipine (Niso) が、グラフトの予後に及ぼす影響について検討した。EC 保存液に Niso ($0.8 \mu\text{M}$) を添加し、4 時間保存後、グラフトのカーボン摂取率を測定すると、Niso の濃度に依存して KC 活性化は抑制され、 $1.4 \mu\text{M}$ ではカーボン摂取率は約 $1/3$ ($48 \pm 9 \text{ mg/g/h}$) まで減少した。EC 溶液にて 4 時間保存群ではレシピエントの平均生存時間は約 1 日に留まった。また、血清 GOT 値は術後 2400 U/l にも達し、組織学的にも広範な肝壊死を認めた。一方、EC に Niso $1.4 \mu\text{M}$ を添加後、4 時間保存を行った群では、生存日数は 25 日と有意に延長した。さらに Niso は血清 GOT 値を約 50% 低下させ、組織学的にも内皮細胞障害、実質細胞障害を軽減した。また上肝下大静脈血 TNF 濃度の上昇は Niso によりほぼ完全に抑制 ($< 0.1 \text{ IU/l}$) された。生体顕微鏡による検討では、Niso 添加により類洞接着現象を呈する白血球数の 70% 以上の減少が認められた。

[総括]

肝移植時のグラフト障害の発生機序として類洞内白血球接着現象を主体とする微小循環障害が大きな役割を果たすことが明かとなった。KC は、移植後、TNF などのメディエーターを産生し、類洞内皮細胞の傷害・機能修飾を惹起することにより微小循環障害機序に関与している。KC の活性化を抑制することによりグラフトの予後を改善することが可能であった。

論文審査の結果の要旨

肝移植においては、免疫機序が関与する拒絶反応と並び、術後早期に出現する primary nonfunction がグラフトの予後を規定する因子として重要である。しかし、その成立機序の詳細についてはいまだ明らかではない。

本論文は、肝移植後惹起される微小循環障害と、活性化を受けた Kupffer 細胞より産生される TNF がグラフト障害機序に大きな役割を果たしていることを明らかにし、さらにカルシウム拮抗剤が Kupffer 細胞の活性化を抑制し、グラフトの予後を改善することを見いだした。これらの知見は、primary nonfunction の発生を減少させ、移植成績を向上させることにより臨床肝移植に寄与すると期待される。よって学位を授与するに値すると思われる。