

Title	Generation of nitric oxide as a rejection marker in rat pancreas transplantation
Author(s)	田中, 知徳
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39851
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	たなか みのり 田中 知徳
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 12415 号
学位授与年月日	平成8年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Generation of nitric oxide as a rejection marker in rat pancreas transplantation (ラット膵移植後における急性拒絶反応の指標としての一酸化窒素生成に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 暉 (副査) 教授 谷口 直之 教授 門田 守人

論文内容の要旨

〔目的〕

膵移植は既に臨床応用されているが、他の臓器に比して拒絶され易く、また拒絶反応の制御は困難である。従って、拒絶反応を早期に診断することが膵移植では特に重要である。一方、急性拒絶反応では、生体内で種々の免疫担当細胞が賦活化され、各種サイトカインが生成されると考えられている。近年、IL-1 β やTNFといった炎症性サイトカインの刺激によって、一酸化窒素(NO)が、マクロファージ等から生成されることが明らかにされてきた。NOは、血管弛緩因子や神経伝達物質として作用するほか、好中球の接着抑制や血小板の凝集抑制、細胞障害等の種々の生理活性をもつことが報告されている。そこで本研究では、ラット膵移植モデルを用い、拒絶とNO産生との関係を明らかにするため、生体内でのNOのend productsである血漿中のnitrite+nitrate、及び循環血液中でヘモグロビンと結合したnitrosylhemoglobin(HbNO)とを経時的に測定し、移植後の急性拒絶反応におけるNOの産生動態を検討した。

〔方法〕

F344ラット(RT1^M)をドナーに、あらかじめstreptozotocin投与にて糖尿病状態としたLewisラット(RT1^L)をレシピエントに用い、腹部異所性同種膵移植を行なった。対照群として、Lewisラットをドナーとして同系膵移植を行なった。移植後経日的に採血を行い、血糖を測定するとともに、血漿中のnitrite+nitrateをGriess反応によって測定し、液体窒素下で凍結した全血中のHbNOを電子スピン共鳴法(ESR)にて測定した。

〔成績〕

移植前に高血糖状態であったLewisラットの血糖値は、移植後速やかに正常に復した。移植後血糖値は同系移植群では変化しなかったが、同種移植群では徐々に上昇し、14 \pm 0.7日で300mg/dl以上となり移植膵の拒絶と診断した。移植膵の組織学的検索では、同種移植後7日目では、ランゲルハンス島の約40%が正常に保たれていたが、13日目にはすべて廃絶していた。血漿中のnitrite+nitrateは、同系移植群、同種移植群ともに移植後1日目に術前に比し上昇を認めた。これは、手術侵襲、虚血再灌流障害等の影響によるためと推察される。その後、血漿中のnitrite+nitrateは同系移植において3日目以降減少し、移植前の値に復し変動を認めなかった。一方、同種移植群では3日目に低下傾向を示したものの、5日目以降再び上昇し、移植後7日目にピークを認めた。全血のESRによる測定では、移植後1日目に、同系移植群、同種移植群で、 $g=2.0$ の低分子のラジカル由来と考えられるシグナルを

検出したのみであった。同系移植群においては、移植後13日目に至るまでHbNOのスペクトルは検出されなかった。一方、同種移植群においては、移植後5日目から明らかなHbNOのスペクトルを検出し、その濃度は、5日目では $3 \pm 1 \mu\text{M}$ 、7日目には $12 \pm 4 \mu\text{M}$ とピークを示した。さらに、7日目には、NOの窒素の核スピンの由来する超微細構造を伴ったHbNOに特徴的なスペクトルを検出した。

〔総括〕

1. ラット膵移植後の血中のNOの変動について、血漿中のnitrite+nitrateとHbNOとを指標として検討を行なった。
2. 血漿中のnitrite+nitrateは、移植後1日目に上昇し、同系移植群では、その後低下し変動を示さなかったが、同種移植群では、一旦低下した後、再上昇し7日目にピークを示した。
3. 同系移植では移植後13日目に至るまでHbNOのスペクトルは検出されなかったが、同種移植群では移植後5日目から明らかなHbNOのスペクトルを検出し、その濃度は7日目にピークを示した。
4. 血漿中のnitrite+nitrateの測定及びESRによるHbNOスペクトルの検出は膵移植後急性拒絶反応の診断の指標となりうると考えられる。

論文審査の結果の要旨

膵移植の成績が他の臓器に比して不良である原因の一つとして、急性拒絶反応の的確な診断方法が確立されていないことが挙げられる。一方、臓器移植後の急性拒絶反応においては、種々のサイトカインが生成され、これらのサイトカインによって一酸化窒素(NO)の生成が惹起されていることが考えられる。本研究は、ラット同種膵移植モデルを用いて、血漿中nitrite+nitrateの変動及び、循環血液中のNOとhemoglobinとの結合体であるnitrosylhemoglobinの電子スピン共鳴法による測定から、急性拒絶反応におけるNOの産生動態について検討した。その結果、急性拒絶反応中に血漿中nitrite+nitrateが増加し、また血液中にnitrosylhemoglobinを検出した。従って、ラット膵移植後の急性拒絶反応においてNOが生成され、その代謝産物が血中に現れることが明らかになった。以上の知見は、末梢血液中のNO産物の測定が、膵移植後の急性拒絶反応の診断的指標となりうることを示したものであり、今後の臨床応用に貢献するものと思われ、学位論文に値すると思われる。