

氏名	趙 向 東
学位(専攻分野)	博士 (医学)
学位記番号	論医博第 1956 号
学位授与の日付	平成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	ET-Kyoto Solution plus Dibutyryl Cyclic Adenosine Monophosphate is Superior to University of Wisconsin Solution in Rat Liver Preservation (ラット肝保存において University of Wisconsin 液を上回る Dibutyryl Cyclic Adenosine Monophosphate を添加した ET-Kyoto 液の効果)
論文調査委員	(主査) 教授 伊達洋至 教授 宮地良樹 教授 前川平

論 文 内 容 の 要 旨

各種臓器移植は、終末期重症疾患の治療法として確立されているが、移植後早期のグラフト機能不全は重大な合併症のひとつであり、しばしば患者の死亡の原因となるため、残された大きな課題である。早期グラフト機能不全の主な原因は冷虚血再灌流傷害である。冷保存中にグラフトは時間とともに生体エネルギー (ATP) 消耗など機能的変化と細胞の浮腫や細胞膜変性などの形態的变化 (特に内皮細胞において) を生じ、移植再灌流時、微小循環不全をきたす。

これまで University of Wisconsin 液 (UW 液) は腹部臓器の標準的臓器保存液として使用されてきた。しかしながら、UW 液にはまだいくつかの改善点がある。第 1 に、UW 液は粘性が高いため UW 液で血管内フラッシュを開始する前にあらかじめ粘性の低いリンゲル液等で血管内の血液を洗い流す必要がある。第 2 に、UW 液に含有されるラジカルスカベンジャー glutathione は化学的に不安定で常温では保管できず、使用時まで 4℃ で保管する必要がある。第 3 に、UW 液はカリウム濃度の高い細胞内液型保存液であり、そのため血管の収縮を招く。また、再灌流する直前にはグラフト内の UW 液をリンゲル液等で洗い流し、患者体内に高濃度のカリウムが流入しないようにする必要がある。

一方、ET-Kyoto 液 (ET-K 液) は京都大学で独自に開発した臓器保存液で細胞保護効果のある非還元二糖類トレハロースを含む細胞外型保存液である。UW 液と比較して粘性、カリウム濃度ともに低い。そして化学的にも安定しているため常温での保存が可能である。ET-K 液は、肺、腎臓、皮膚および筋肉弁、そして臍島の保存においても良好な保存能が証明されている。Dibutyryl cAMP (db-cAMP) は cAMP アナログで細胞膜透過性有し、細胞内で脱アセチル化されて cAMP に変わる。cAMP は細胞内の second メッセンジャーとして機能し、肺虚血再灌流傷害において内皮細胞を保護することが報告されている。

本研究では ET-K 液の肝保存における有効性について検討した。ラット肝移植モデルにおいて db-cAMP 添加 ET-K 液 (ET-K + db-cAMP) の効果を UW 液と比較した。

方法: Lewis ラットの肝臓を 4℃ の ET-K + db-cAMP 液あるいは UW 液で灌流し 24 時間保存後に同系肝移植を行った。移植前に UW 液はリンゲル液で wash out したが、低カリウム含有の ET-K + db-cAMP 液は wash out を行わなかった。再灌流後 4 時間でのグラフトの機能、病理学変化、および 7 日間生存率を評価した。

結果: 生存率は ET-K + db-cAMP 群 (以降 ET-K + db-cAMP と標記) が UW 群 (以降 UW) より有意に高かった (ET-K + db-cAMP / UW, 87%/25%; $p < 0.05$)。再灌流後 4 時間の血中トランスアミナーゼは ET-K + db-cAMP において UW より有意に低く、また、胆汁の産生も有意に多かった (ALT: $527 \pm 88 / 1728 \pm 380$ IU/l, $p < 0.01$; LDH: $1105 \pm 352 / 4796 \pm 059$ IU/l, $p < 0.01$; bile output: $702 \pm 125 / 489 \pm 108 \mu\text{l/kg/min}$, $p < 0.05$)。類洞内皮細胞 (SEC) 傷害の指標である血中ヒアルロン酸は ET-K + db-cAMP において UW より有意に低かった ($1988 \pm 791 / 2809 \pm 673 \text{ng/ml}$, $p < 0.05$)。これらに一致して肝細胞および SEC のアポトーシスの出現頻度は ET-K + db-cAMP で UW より有意に少なかった。更に CD31 免疫染色により、SEC の傷害が ET-K + db-cAMP において UW より軽度であることが示された。

結論：ラット肝保存において、ET-K+db-cAMPはUWより優れていた。今後、臨床肝移植におけるET-K+db-cAMPの効果検討が望まれる。

論文審査の結果の要旨

ET-Kyoto液（ET-K）は非還元性二糖類トレハロースを含む細胞外液型臓器保存液である。その効果は肺、腎、膵島などにおいて報告されてきたが肝については未検討である。本研究ではET-Kyoto液の肝における有効性を調べるため、ラット肝移植モデルにおいてdibutyl cyclic AMP（db-cAMP）を添加したET-K（ET-K+db-cAMP）の効果をUniversity of Wisconsin液（UW）と比較した。Lewisラットの肝臓をET-K+db-cAMP液またはUW液で灌流し24時間冷保存後に同系肝移植を行った。ラットの生存率はET-K+db-cAMP群がUW群より有意に高かった。再灌流後4時間での血中逸脱酵素はET-K+db-cAMP群においてUW群より有意に低く、胆汁の産生量は有意に多かった。類洞内皮細胞（SEC）傷害の指標である血中ヒアルロン酸はET-K+db-cAMP群においてUW群より有意に低かった。これらに一致して肝細胞およびSECのアポトーシスの頻度はET-K+db-cAMP群でUW群より有意に少なかった。また、CD31免疫染色の結果、SECの傷害がET-K+db-cAMP群においてUW群より軽度であった。以上より、ラット肝保存においてET-K+db-cAMPはUWより優れていた。

本研究結果は、ET-Kyoto液を臨床肝移植に応用するうえで重要である。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成20年2月25日実施の試問を受け、合格と認められた。