

| | |
|----------|--|
| 氏名 | にし ざわ ひろ やす 西 澤 弘 泰 |
| 学位(専攻分野) | 博士 (医学) |
| 学位記番号 | 医博第2235号 |
| 学位授与の日付 | 平成12年3月23日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 研究科・専攻 | 医学研究科外科系専攻 |
| 学位論文題目 | Efficiency of Pentoxifylline in Donor Pretreatment in Rat Liver Transplantation (ドナー術前ペントキシフィリン投与の有効性に関するラット肝移植モデルにおける検討) |

論文調査委員 (主査) 教授 千葉 勉 教授 山邊博彦 教授 山岡義生

論文内容の要旨

緒言

ドナー前処置は、臓器保存における新しい概念である。Pentoxifylline (PTX) は Kupffer 細胞の活性化を抑制し、ラット肝移植後のグラフト肝に対する障害を軽減すると報告されている。本実験では、ドナーに対し PTX を前処置した場合の冷虚血及び温虚血後の肝障害に対する PTX 有効性を、ラット肝移植モデルを作成し検討した。

材料・方法

実験は、用量依存性実験を行い、次に肝移植実験を行った。動物は、体重 220-270 g の雄性ルイスラット (RT1^L) を使用し、麻酔にはエーテルを使用した。

用量依存性実験：PTX (0, 20, 50, 80 mg/kg) を、生食 1 ml で溶解し、腹腔内投与した。1 時間後、開腹し、門脈と肝動脈をマイクロクリップで、30 分間遮断した (各群 n=6)。

肝移植実験：ラット肝移植は、Kamada と Calne の方法に従って行い、肝動脈再建は行わなかった。灌流には、UW 液を使用した。ドナーラットには、50 mg/kg の PTX を、生食 1 ml で溶解したもの、又は、対照として生食 1 ml を、開腹 1 時間前に腹腔内投与した。動物は、冷虚血群と温虚血群の 2 群に分けた。冷虚血群では、グラフト肝は摂氏 4 度の UW 液内で 12 時間保存し、その後、同所性に移植した。温虚血群では、門脈と肝動脈をマイクロクリップで、ドナー手術に先だって 30 分間遮断した。その後、グラフト肝を同所性に移植した (各群 n=6)。温虚血群での冷保存時間は、90 分以内で、門脈の遮断から再灌流までの無肝期は、15 分以内であった。

検体の採取と評価：門脈再灌流後 30 分・3 時間・24 時間に採血。血中 tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), glutathione S-transferase-alpha (GST-alpha), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT) を測定した。

統計分析：結果は、平均値±標準誤差で表し、Mann-Whitney' s U test で解析。0.05 以下の P 値を、有意差ありと判定した。

結果

用量依存性実験：PTX で前処置した 3 群は、対照群に対して、ほとんどの採血ポイントで有意に血清 TNF-alpha, GST-alpha, LDH, AST 及び ALT 値を抑制した。血清 TNF-alpha 値の抑制効果の点から 50 mg/kgPTX の前処置が、最も有効な腹腔内投与量と判断した。この結果、肝移植実験では 50 mg/kgPTX をドナー前処置として腹腔内投与することとした。

肝移植実験の冷虚血群：血清 AST, ALT 値は 24 時間で急速に上昇した。PTX

前処置群の血清 AST, ALT 値は、30 分で、対照群よりも、有意に低値を示した。血清 LDH 値は、24 時間で上昇し、PTX

前処置群の血清 LDH 値は、30 分で、対照群よりも、有意に低値を示した。血清 GST-alpha 値は、30 分で上昇し、その後も高値を維持したが、PTX 前処置群では、30 分と 3 時間で、対照群に比較し有意に低値を示した。血清 TNF-alpha 値は、対照群では 30 分後から高値を示した。一方、PTX 前処置群では、30 分後の時点で有意に低値を示したが、その後上昇した。

肝移植実験の温虚血群：血清 AST, ALT 値は 3 時間でピークを示した。PTX 前処置群の血清 AST 値は、対照群よりも全ての採血ポイントで、有意に低値を示した。PTX 前処置群の血清 ALT 値は、30 分と 24 時間で、対照群よりも、有意に低値を示した。血清 LDH 値は、3 時間でピークを示した。PTX 前処置群の血清 LDH 値は、対照群より 30 分と 24 時間で、有意に低値を示した。血清 GST-alpha 値は、30 分で急速に上昇し、24 時間で正常値に戻った。PTX 前処置群の血清 GST-alpha 値は、対照群より 30 分と 24 時間で、有意に低値を示した。対照群の血清 TNF-alpha 値は、3 時間でピークを示し、PTX 前処置群の血清 TNF-alpha 値は、対照群より 30 分で、有意に低値を示した。

結 論

対照群と比較すると、PTX 前処置群の血清 TNF-alpha, GST-alpha, LDH, AST 及び ALT 値は、門脈再灌流後 30 分で冷虚血・温虚血両群において抑制され、更に門脈再灌流後 24 時間で温虚血群において抑制された。これらの結果、ドナーに対する PTX 前処置は、ラット肝移植モデルにおいて、冷保存・再灌流と温虚血・再灌流後の肝障害を有意に抑制する事が示された。作用機序としては、Kupffer 細胞活性化の抑制が考えられた。

結論として、ドナーに対する PTX 前処置は、肝移植において、臓器獲得・虚血・再灌流障害から、グラフト肝を保護する効果が期待できる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、ドナーに対し pentoxifylline (PTX) を前処置した場合、グラフト肝の Kupffer 細胞の活性化を抑制することにより、肝臓移植後の冷虚血・温虚血障害を抑制しうることをラット肝移植モデルを作成し解明したものである。

ドナーラットには PTX 50 mg/kg を、生食 1 ml で溶解し、開腹 1 時間前に腹腔内投与した。対照群として生食 1 ml を投与した。冷虚血障害実験では、グラフト肝は摂氏 4 度の University of Wisconsin 液内で 12 時間保存し、その後、同所性に移植した。温虚血障害実験では、門脈と肝動脈をマイクロクリップで、ドナー手術に先だって 30 分間遮断した。その後、グラフト肝を同所性に移植した。

冷虚血障害実験の PTX 前投与群では、再灌流 30 分後で、血清 TNF-alpha・GST-alpha・AST が有意に抑制された ($p < 0.01$)。温虚血障害実験の PTX 前投与群では、再灌流 30 分後で、血清 TNF-alpha・GST-alpha・AST が有意に抑制され ($p < 0.05$)、再灌流 24 時間後で、血清 GST-alpha・AST が有意に抑制された ($p < 0.05$)。

実験の結果、ドナーに対する PTX 前処置は、肝移植において、Kupffer 細胞の活性化を抑制し、グラフト肝の冷虚血・温虚血障害を抑制しうる可能性が示唆された。

以上の研究は、肝臓移植外科に寄与するところが多い。

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 12 年 2 月 16 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。