

氏 名	かい 貝 原 さとし 聡
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2260 号
学位授与の日付	平 成 12 年 5 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	Serotonin as a useful parameter for cold and warm ischemic injury in small bowel transplantation. (ラット小腸移植時における、冷・温阻血障害の指標としてのセロトニン測定の有用性の検討)
論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 山 岡 義 生 教 授 田 中 紘 一

論 文 内 容 の 要 旨

臓器移植において、グラフトの摘出から移植後血流再開までのいわゆる臓器保存時の冷・温阻血障害はグラフトの Viability に大きな影響を与える。この間に強い Damage を受けたグラフトは移植後の機能が不良で、しいては移植手術失敗へとつながる。小腸移植は他の臓器と異なりグラフト腸管の阻血に対する感受性が高いため、未だにグラフトの長期保存が困難であり、よって保存後のグラフトの障害を軽減し、また移植前にいかに障害の程度を評価するかが重要である。小腸グラフトの保存障害は従来より組織学的な評価が行われているが、組織検査は診断に時間を要し、またその評価も定量的でないという欠点がある。冷・温阻血に伴うグラフト腸管の変化の一つとして、グラフト粘膜の障害が挙げられる。よってこの研究において粘膜障害を定量的に評価することによってグラフトの Viability を推測できるのではと仮説し、腸管粘膜の Entero Chromaffin (EC) 細胞に多量に含まれるホルモンであるセロトニンが、小腸冷・温阻血障害の指標となりうるかをラット小腸移植モデルを用い検討した。

Lewis ラットのトライツ靱帯より 20cm の空腸をグラフトとして用いた。冷阻血障害としてグラフトを 4°C のネオマイシン加ラクテックリング液に 0.5・6・12・18・24 時間保存した(冷阻血群)。温阻血障害としては 0・15・30・60・120 分間血行を遮断した後にグラフトを摘出した(温阻血群)。冷阻血群は冷保存終了直後、温阻血群は腸管摘出直後に、グラフト内をラクテックリング液にて洗浄し対側よりの流出液を採取しセロトニン濃度を測定した。また腸管保存液のセロトニン濃度も測定し、両者の合計を冷・温阻血間にグラフトより放出された総セロトニン量とした。また同時にグラフトを一部生検し、通常の組織検査に加え抗セロトニン抗体を用いた免疫組織学的検索を行った。これら検体採取後にグラフトは Lewis ラットに異所性に移植された。

冷阻血群では保存時間の延長とともに腸管内洗浄液中セロトニン濃度は有意に上昇し、また保存液中のセロトニンは 12 時間以上の保存にて検出された。総セロトニン量は保存時間の延長とともに有意に上昇し、両者の間に有意の相関関係を認めた ($R^2=82.7\%$, $p<0.01$)。温阻血群においても阻血時間の延長とともに総セロトニン量は有意に上昇し、両者の間に有意の相関関係を認めた ($R^2=78\%$, $p<0.01$)。

組織学的検索では、冷・温阻血時間の延長に伴い粘膜細胞の脱落を認め、免疫組織染色では、冷・温阻血群ともに阻血時間の延長とともにセロトニン陽性細胞の減少が認められた。

冷阻血群では 18 時間まで、温阻血群では 60 分までの全例が移植後 14 日間生存したが、24 時間の冷阻血及び 120 分の温阻血では移植後の消化管出血にて全例が 24 時間以内に死亡し、生存例と死亡例の総セロトニン量には統計学的に有意の差を認めた ($p<0.01$ by two-group t-test: unpaired)。また総セロトニン量の cut-off 値を 2200ng とすると、移植後のラットの生存は Sensitivity 71.4%, Specificity 89.8% にて予測された。

以上の結果より、ラット小腸移植において冷・温阻血中にグラフト腸管より放出されるセロトニンを測定することにより、グラフトの冷・温阻血障害を定量的に評価でき、また移植後の Recipient の予後を推測できることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

臓器移植においてグラフトの阻血障害は術後機能に大きな影響を与えるが、小腸は他の臓器と異なり阻血に対して弱く、またその障害の程度を評価する明確な指標に乏しい。そこでグラフト腸管由来のセロトニンがグラフトの冷・温阻血障害の程度を表す指標として有効かを検討した。

ドナー・レシピエントともにルイスラットを用いた。グラフト小腸に、0.5, 6, 12, 18, 24時間の冷阻血または0, 15, 30, 60, 120分の温阻血を加え、グラフトから放出されたセロトニン量を HPLC 法にて測定した。冷阻血・温阻血ともに阻血時間の延長とともにセロトニン量は有意に増加し、阻血時間とセロトニン量との間には有意な相関関係を認めた。グラフト腸管内のセロトニン陽性細胞を免疫組織学的に検討した結果、阻血時間の延長に伴い数は減少した。次にこれら阻血障害を受けたグラフトをレシピエントに異所性に移植したところ、冷阻血24時間と温阻血120分のは全例24時間以内に死亡したが他のものは全て14日間生存した。生存例のセロトニン量は死亡例に比べ有意に低く、またセロトニン量の Cut-off 値を 2200ng とすると Sensitivity 71.4%, Specificity 89.8%にてレシピエントの生存を予測できた。以上の結果より、ラット小腸移植において、セロトニンはグラフトの阻血障害を表す指標として有効であり、移植後のレシピエントの予後を推測できることが示唆された。

以上の研究は小腸移植における阻血障害の評価の解明に貢献し今後の小腸移植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3月28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。