

氏 名	まつ した たか かず 松 下 貴 和
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2619 号
学位授与の日付	平成 15 年 3 月 24 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	Suppressed complement activation in human decay accelerating factor transgenic porcine liver cross-circulated with non-human primates に関する研究 (非ヒト霊長類との交差灌流におけるヒト Decay Accelerating Factor 遺伝子 導入ブタの補体活性化の抑制)
論文調査委員	(主 査) 教 授 三 森 経 世 教 授 田 中 紘 一 教 授 山 岡 義 生

論 文 内 容 の 要 旨

異種臓器を臨床応用するためにはヒトにおける異種免疫反応を制御する必要がある。本研究ではヒト補体活性化制御因子であるヒト decay accelerating factor (hDAF) 遺伝子を導入したブタ肝臓を用いて、霊長類であるヒヒとの直接交差灌流における霊長類の異種免疫反応抑制効果について検討した。

【方法】5頭の hDAF 遺伝子導入ブタ (hDAF 群) と5頭の子孫導入ブタ (対照群) から摘出した肝臓を用い、免疫抑制剤を投与しない健常ヒヒと各5頭と直接交差灌流を行った。異種免疫反応に起因すると考えられる、1) 肝灌流圧の上昇 (肝動脈灌流圧 200mmHg 以上、または門脈灌流圧 60mmHg 以上)、2) 肝臓からの多量の滲出液、3) 軽度の肉眼的溶血、4) 血小板減少のいずれかの現象が認められたときには交差灌流を中止し、上記が認められない場合には最長24時間の交差灌流を行った。溶血の指標としてヒヒ血清ヘモグロビン値を、ブタ肝組織におけるヒヒ補体の活性化をヒヒ IgM、補体 C3、補体活性化最終産物である C5b-9 を免疫組織染色にて評価した。ブタ肝臓の機能評価は胆汁産生量にて評価した。

【結果】対照群では2例に灌流圧の上昇を、3例に溶血を認めたためすべて6時間以内に交差灌流を中止した (交差灌流時間は 4.4 ± 1.2 時間)。hDAF 群では1例に肝臓からの多量の滲出液、1例に血小板減少を認め13時間および17時間で交差灌流を中止したが、3例は24時間の交差灌流を行うことができた。交差灌流時間は 20.4 ± 5.1 時間で、対照群より有意に延長した ($p < 0.005$)。上記の灌流中止条件を設定することによりヒヒは血小板減少や貧血は認めるものの全例において交差灌流中の血行動態が安定し尿量は維持され、交差灌流後の重篤な合併症を認めなかった。また、交差灌流後のブタ肝組織においては異種免疫反応の特徴である出血や壊死を認めず、灌流終了時の血清ヘモグロビン値は対照群 14.8 ± 6.5 mg/dL、hDAF 群 8.0 ± 7.3 mg/dL と軽度の上昇を認めるのみで溶血による腎機能障害を認めなかった。対照群では交差灌流開始1時間後にブタ肝臓 (主として小葉間動脈) にヒヒ IgM や C3、C5b-9 が沈着し、ヒヒ補体が活性化された。しかし、hDAF 群ではヒヒ IgM や C3 の沈着は同様に認められるものの C5b-9 は認められず、補体活性化カスケードが抑制された。ブタ肝臓における交差灌流時間中の単位時間あたりの胆汁産生量は一定に保たれ両群間で差を認めなかったが、灌流時間の延長により胆汁産生総量は hDAF 群で有意に増加した (対照群: 58.1 ± 32.2 mL/kg 肝重量、hDAF 群: 304.6 ± 117.0 mL/kg 肝重量)。

【考察】霊長類との直接交差灌流において hDAF 遺伝子導入ブタの肝臓はヒヒの補体活性化を制御することができ、異種免疫反応による肝組織傷害、灌流圧の上昇や溶血などを抑制することにより長時間の交差灌流と肝機能維持が可能であった。この結果から異種動物への hDAF 遺伝子導入は霊長類における異種免疫反応の抑制に有効であることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、ヒト補体活性化制御因子であるヒト decay accelerating factor (hDAF) を遺伝子導入したブタの肝臓におけ

る霊長類の異種免疫反応抑制を、ヒヒとの直接交差灌流時の補体活性化制御効果から検討されたものである。

本研究では、健常ヒヒとの直接交差灌流において非遺伝子導入ブタ肝臓では溶血や灌流圧の上昇により6時間以上交差灌流を継続できないが（平均交差灌流時間： 4.4 ± 1.2 時間）、hDAF 遺伝子導入ブタ肝臓では長時間（ 20.4 ± 5.1 時間）の交差灌流が可能であること、交差灌流中のブタ肝臓の胆汁産生は良好で肝機能が維持されること、またヒヒの血行動態を安定に維持できること、交差灌流後にヒヒに重篤な合併症をおこさないことが示された。更に病理組織学的な検討では非遺伝子導入ブタ肝臓、hDAF 遺伝子導入ブタ肝臓共にヒヒ IgM が血管内皮に沈着し、IgM により活性化されたヒヒ補体 C3 沈着も認めるものの、hDAF 遺伝子導入ブタ肝臓は C5 convertase を抑制することによりヒヒ補体活性化最終産物である C5b-9 複合体は形成されず、hDAF により C5 convertase が抑制され、補体活性化を抑制し肝組織傷害が軽減されることが示された。

以上の研究は肝臓における異種免疫反応の機序の解明に貢献し、異種臓器の臨床応用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15年2月26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。