

論文審査の要旨

報告番号	総研第	号	学位申請者	室川 剛廣
審査委員	主査	田川 義晃	学位	博士 (医学)
	副査	小賤 健一郎	副査	堀内 正久
	副査	佐藤 雅美	副査	宮田 篤郎

The Protective Effects of Carbon Monoxide Against Hepatic Warm Ischemia-Reperfusion Injury in MHC-Inbred Miniature Swine

(MHC 確立クラウン系ミニブタ肝臓温虚血再灌流障害に対する一酸化炭素の保護効果)

慢性的かつ圧倒的な移植臓器不足を克服するための手段の一例として心停止ドナーからの臓器提供が挙げられる。肝虚血再灌流障害は、肝移植における急性期の臓器機能不全のリスクとなるが、特に心停止ドナーの場合は、心停止に伴う温虚血の条件が移植成績を左右することから、その対策として様々な研究が行われている。その一つとして、抗酸化作用、抗炎症作用、抗アポトーシス作用などを有する一酸化炭素 (Carbon Monoxide: CO) に着目した研究が行われてきたが、肝虚血再灌流障害に対する CO の有効性は小動物を用いた急性期実験の報告に限られていた。そこで学位申請者は前臨床大動物実験として、ミニブタを用いた肝虚血再灌流障害モデルを作成し、急性期から慢性期における CO の有効性と安全性および作用機序の解明を目的とする本研究を行った。

MHC 確立クラウン系ミニブタ用いて、門脈と固有肝動脈を 45 分間遮断し肝温虚血を誘導した後に、遮断を解除する肝温虚血再灌流障害モデルを作成した。肝血流遮断中は、致死的な腸管うっ血や血圧低下の回避を目的として、脾静脈および右外頸静脈にカテーテルを挿入しバイパス回路を作成し、遠心ポンプを用いて体外灌流を行った。このモデルを用いて、手術開始から再灌流後 2 時間 まで計 345 分間にわたり CO を経気道的投与 (血中 CO-Hb 濃度を 15% 前後に調整) した CO 群 (n=3) と CO 吸入を行わない対照群 (n=3) に分け、生化学的評価 (AST、ALT、LDH、T-bil)、病理学的評価 (再灌流後 2 時間と術後 4 日の肝生検検体を用いた HE 染色による肝細胞障害や TUNEL 染色による肝細胞のアポトーシス評価)、炎症性サイトカイン評価 (ELISA 法による血清 TNF- α 、HMGB-1、IL-6 測定) を指標として肝虚血再灌流障害に対する CO の投与効果を評価した。その結果、以下の知見が明らかとなった。

- 1) 体外灌流の併用により、慢性期までの評価が可能な非致死性ミニブタ肝温虚血再灌流障害モデルを確立した。
- 2) 観察期間 30 日にわたり CO 吸入による呼吸・循環器系、活動性などに対する明らかな副作用は認めなかった。
- 3) 対照群で術後 4 日にかけて AST、ALT、LDH、T-bil が著明に上昇したが、CO 群では有意に上昇が抑制された。
- 4) 再灌流 2 時間後の肝生検による病理学的評価では、対照群では CO 群に比べて、HE 染色で肝小葉中心性に肝細胞死、出血ならびに肝細胞の変性を強く認めた。また TUNEL 染色で対照群で広範な肝細胞のアポトーシスを認めるのに対し、CO 群ではこれらの障害像は非常に軽度であった。術後 4 日目の肝生検では、対照群では上記の虚血再灌流障害像およびアポトーシスの残存を認めるのに対し、CO 群ではほぼ正常像への改善がみられた。
- 5) TNF- α 、HMGB1 は CO 群で有意に抑制され、IL-6 は統計学的有意差を認めないものの CO 群の方が低値であった。

以上のように本研究では、ミニブタを用いた前臨床大動物実験により、低用量 CO の経気道的投与が副作用を生ずることなく肝温虚血再灌流障害の抑制効果を示すことを明らかにした。また CO による抗アポトーシス効果と抗炎症性効果が本実験における作用機序の主体であることが示された。本研究の結果は、移植医療における新たな治療法の確立に寄与しうるものと期待される。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。