

氏名(本籍)	さい 齋	とう 藤	とし 敏	のり 典
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	医	第	2298	号
学位授与年月日	平成3年2月27日			
学位授与の条件	学位規則第5条第2項該当			
最終学歴	昭和59年3月31日 杏林大学医学部医学科卒業			

学位論文題目 衝撃波照射による腎組織損傷の観察
—超微細構造からの観察—

(主査)
論文審査委員 教授 折笠 精一 教授 松野 正紀
教授 名倉 宏

論文内容要旨

【目 的】

これまでの光学顕微鏡による研究では、衝撃波による腎組織障害の主原因は、血管障害、血流障害であることが示された。しかし衝撃波による直接的な細胞障害については不明であった。そこで衝撃波による腎細胞損傷を、超微細構造から比較検討した。

【方 法】

実験には家兎を用い、麻酔はペントバルビタールでおこなった。衝撃波照射群と血流障害群を作製し、これらを比較検討した。衝撃波照射群は3群作製し、衝撃波20回照射直後の観察(A群)、500回照射直後の観察(B群)、500回照射1週間後の観察(C群)を各々3羽ずつおこなった。衝撃波発生源にはピエゾ素子を用いた。この素子は衝撃波照射用の超音波プローブと共に、オーヴァーヘッド膜型アプリーター内に納められている。衝撃波の照射条件は1.3 kbar. 2 shots/sec.とし左腎下極皮質を照射した。腎摘出10分前にヘパリン1500単位を静注し腎を摘出した。その後、直ちに腎動脈より2.5%グルタルアルデヒド加0.1Mカコジル酸ナトリウムを灌流し固定した。さらに浸透固定後、1mm程に細切し、オスミウム酸で後固定とした。次いで脱水、エポソ包埋、50nmの超薄切片作製をおこなった。これにウラン鉛染色をおこない、透過型電子顕微鏡で観察した。一方、血流障害群はヘパリン1500単位を静注後、左腎動脈を1時間結紮した後摘出、衝撃波障害群と同様に固定、観察した。なお、いずれの群でも尿細管は近位で所見が豊富であったのでおもに近位尿細管の所見を記載する。

【結 果】

A群では皮質に間質性出血が認められ、その近くを光学顕微鏡(以下LMと略す。)で観察すると近位尿細管細胞の管腔への突出、さらに融解壊死も認められた。しかし糸球体、血管には変化はないようであった。近位尿細管の電子顕微鏡(以下EMと略す。)による観察では刷子縁の脱落、細胞のかみ合いで囲まれた大きな空胞の形成、管腔内への細胞の突出が観察された。糸球体細胞の変化はみられなかった。また血管系も周囲の間質の浮腫性増生以外変化はみられなかった。B群では大きな被膜下血腫の形成と剖面では楔状の皮質の出血を認めた。LMでは尿細管の融解壊死と共に動脈壁の融解壊死もみられた。EMではA群と同じ変化の近位尿細管の他に、ほぼ全ての刷子縁の脱落と細胞内小器官の破壊を伴う尿細管が観察された。糸球体でも足細胞、内皮細胞のミトコンドリアの破壊が観察された。これらのクリスタは打ち抜かれたように破壊され

ていた。今回はEMでは動脈壁の融解壊死は観察できなかった。C群の衝撃波照射部位の腎表面は陥没しており、その剖面では少量のヘモジデリンの沈着が認められた。LMでは尿細管数は著減し、線維組織の増生が観察されたが、糸球体、血管系には変化がないようであった。EMによる観察において、残存した近位尿細管の細胞は萎縮しており、基底膜との離解、多数の自己食食顆粒が細胞質内に観察された。刷子縁数も少なく、その長さも不揃いに観察された。糸球体では足細胞の破壊されたミトコンドリアがB群と同じように観察された。次に血流障害群であるが、腎表面はやや貧血様で、LMによる観察では一部の近位尿細管細胞の空胞化がみられた。これをEMで観察すると刷子縁の破壊と細胞質の電子透過性の亢進がみとめられ、多数の細胞内小器官の管腔内流出も観察された。

【考 察】

近位尿細管細胞にはA群、B群ともに細胞のかみあいに囲まれた、水分あるいはそれに近いものであると思われる大きな空胞がみられた。衝撃波照射により大きな空胞形成と刷子縁の脱落がおこり、細胞質内の電解質濃度変化と内圧亢進が発生し、細胞が管腔内に突出したものと考えられた。またB群の障害の激しいところでは、刷子縁もほとんどみられず、主にミトコンドリアと小胞体の破壊による小さな空胞が観察された。管腔内には細胞内小器官の流出もみられ、これらは尿細管細胞が衝撃波照射により破壊されたことを示していた。さらにC群では残存した一部の近位尿細管では細胞萎縮、細胞と基底膜の離解、核の変形等がみられるものの、刷子縁は再生してきているようであった。糸球体ではB群とC群で足細胞と内皮細胞のクリスタが打ち抜かれたように破壊されているミトコンドリアが観察された。これらはミトコンドリアの2重膜構造のために損傷が発生したのかもしれない。血流障害群でも上記の変化に類似した所見を呈していたが、衝撃波照射群と血流障害群では次の点で異なっていた。衝撃波照射群では1)大きな空胞が細胞質内に出現する。2)照射条件によって所見が変化する。3)血流障害より早い時間で障害が発生する。4)糸球体の変化は血流障害群ではみられない。以上より衝撃波照射部の腎組織細胞は、衝撃波の直接作用により、つよい細胞障害を受けると考えられた。

審査結果の要旨

上部尿路結石治療に体外衝撃波結石破碎術が広く用いられているが、衝撃波の生体組織に対する詳細な影響について不明な点が多い。本論文は透過型電子顕微鏡により、衝撃波の動物腎に対する影響を観察した初めての論文である。従来の衝撃波障害腎の光学顕微鏡による観察では、血管障害による血流障害が大きく関与していると考えられたため、これと衝撃波障害を超微細構造より観察、比較した。

衝撃波発生源にはピエゾセラミクス素子を用いた。これはオーバーヘッド膜型アプリーター内に設置してあり、この衝撃波は収束領域が1x1x20mmと小さいことが特徴的である。また衝撃波の照準はピエゾ素子の中央に設置した超音波プローブを用いて行った。この装置により、リアルタイム超音波画像下に腎を観察しながら、収束領域の小さい衝撃波照射実験が可能となった。また、超音波画像により正確に腎臓が確認できるよう、実験には家兎を用いた。実験は衝撃波照射群と血流障害群の2つに分けて行い、さらに衝撃波照射群は次の4群を作製した。すなわち衝撃波を照射しないコントロール群、衝撃波を20回照射し、その直後に腎を固定した群、衝撃波を500回照射し、その直後に腎を固定した群、衝撃波を500回照射し、その1週間後に腎を摘出し、固定した群である。全群へパリン化した後、腎を摘出、直ちに腎動脈より乳酸リンゲル液を灌流、さらにグルタルアルデヒドで灌流固定した。この方法によりコントロール群で近位尿管の刷子縁等は良好に観察された。

衝撃波照射群では近位尿管において最もその変化が著しかった。尿管細胞にはinfoldingに囲まれた大きな空胞が出現し、刷子縁の破壊も確認された。さらに障害の著しい部位ではミトコンドリア等細胞内小器官の破壊が観察され、これらは尿管腔内にも散在していた。これに対して糸球体細胞ではミトコンドリアのクリスタの破壊が主として観察されたのみであった。衝撃波障害群ではinfoldingに囲まれた大きな空胞の出現など、血流障害群では観察されないものが多く、また血流障害群より短時間で著しい障害が発生していた。すなわち超微細構造より観察したことにより、組織学的には困難であった血流障害と衝撃波障害の発生機序の違いを明らかにした。さらに衝撃波障害は組織学的には完全な非可逆性変化と考えられたが、照射1週間後の尿管では刷子縁の再生像が極く一部で観察された。

以上のように本論文では衝撃波の超微細構造に及ぼす影響を透過型電子顕微鏡を用いて実験的に明らかにしており、このような報告は欧米でも例がなく、学位論文に十分値するものとする。