

氏名	原 康之 <small>はら やすゆき</small>
学位の種類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 27 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	プロスタグランジン E1 添加冷保存前灌流が心停止下摘出肝グラフトの温阻血再灌流障害に及ぼす効果について
論文審査委員	主査 教授 里見 進 教授 近藤 丘 教授 齋木 佳克

論文内容要旨

【目的】常温酸素化バッファーによる 30 分間の冷保存前灌流 (前灌流) が、心停止下摘出肝グラフトにおいてエネルギーステータスを改善し、温阻血再灌流障害を軽減することが報告されている。しかしながら、前灌流のみでは心拍動下摘出肝グラフトのレベルまでは胆汁産生能の回復や細胞障害の軽減は得られていない。本研究では更なる改善を目的に、様々な肝保護作用があるとされるプロスタグランジン E1 (PGE1) の前灌流液への添加効果を、ミトコンドリア機能と細胞死の検討を中心に行なった。

【方法】ラット肝を用い ex vivo の灌流実験を行った。温阻血群では死戦期を経て 30 分の温阻血後直ちに 6 時間冷保存し 1 時間再灌流した。前灌流群では温阻血肝摘出後に 30 分間常温酸素化バッファーで灌流し冷保存した。PGE1 群では前灌流液に PGE1 (10ng/ml) を添加した。各群の門脈流量・胆汁産生量・灌流液中肝逸脱酵素・灌流液中炎症性サイトカイン・ミトコンドリア機能・アポトーシス関連蛋白の発現・JNK 活性・病理組織学的所見を比較検討した。

【結果】再灌流時の胆汁産生量・灌流液中の肝逸脱酵素は前灌流群で改善傾向を示し、PGE1 群で有意に改善した。又、PGE1 群では再灌流液中の TNF- α が有意に減少した。再灌流後のプロトン ATPase 活性は前灌流群と PGE1 群で改善傾向を示した。ミトコンドリアの膨潤、及びミトコンドリアからのチトクローム c の放出は前灌流群で抑制傾向を示し、PGE1 群ではどちらも有意に抑制された。細胞死関連蛋白の検討では、温阻血群でミトコンドリアの Bcl-2 の発現が有意に低下し、PGE1 群で細胞質中の JNK の活性と Bax の細胞質からミトコンドリアへの移行が有意に抑えられていた。病理組織学的検討では、PGE1 群でネクローシス面積比率と TUNEL 陽性細胞数の有意な減少を認め、開存類洞腔面積も温阻血群に比べ有意に改善していた。

【結論】冷保存前灌流のみでも組織・細胞障害は改善傾向を示したが、PGE1 を添加することで心拍動下摘出肝グラフトと同程度まで有意に改善した。PGE1 による微小循環の改善とミトコンドリアを介した細胞死 (ネクローシス/アポトーシス) の抑制がその機序であると考えられた。PGE1 添加冷保存前灌流は、心停止下摘出肝グラフトを用いた肝移植において有効な一手段となることが示唆された。

審査結果の要旨

博士論文題目 プロスタグランジン E1 添加冷保存前灌流が心停止下摘出肝グラフトの温阻血再灌流障害に及ぼす効果について.....

所属専攻・分野名 医科学 専攻・..... 先進外科学 分野
学籍番号 氏名 原 康之.....

肝移植は様々な疾患に対して確立された治療法であるが、世界的にドナー不足と移植待機中の死亡数の増加が問題となっている。これらの解決策として心停止ドナーからの肝移植が検討されているが、温阻血再灌流障害による術後合併症が高頻度で起こると報告されている。この障害を克服する方法として、冷保存前に短時間（30 分間）常温酸素化バッファーで灌流（前灌流）する方法が考案され、エネルギーステータスの改善、再灌流時の胆汁産生能の改善やアポトーシスの減少、MAPKs 活性の抑制がもたらされたと報告されている。しかし、前灌流のみでは心拍動下摘出肝グラフトに比べ機能の改善は不十分であった。そこで内因性の抗酸化物質であるビリベルジンや、free radical scavenger であるエダラボンを前灌流液へ添加したが、心拍動下摘出肝グラフトと同程度の状態までは改善しなかった。そこで本研究では、心拍動下ドナーからのグラフトと同程度の状態にまで回復させることを目的に、様々な肝保護作用をもつと報告され肝臓外科の分野においても臨床応用されているプロスタグランジン E1 (PGE1) を前灌流液に添加し、その改善効果について細胞死に深く関与するミトコンドリアの機能に焦点を当て検討している。

結果、胆汁産生能の改善、再灌流液中の肝逸脱酵素・TNF- α の減少、ミトコンドリア機能の改善（プロトン ATPase 活性の改善・ミトコンドリア膨潤の抑制・ミトコンドリアからのチトクローム c 漏出の抑制）、細胞質内 JNK 活性の抑制、Bax のミトコンドリアへの移行抑制が認められた。又、病理組織学的検討でもネクローシス/アポトーシスの抑制、肝類洞構造の保持・開存が認められた。これらの検討結果から、PGE1 添加冷保存前灌流は、微小循環の改善によりミトコンドリア機能の改善や細胞質内の JNK 活性抑制をもたらし、MPT の誘導やチトクローム c の漏出を抑え、ネクローシスやアポトーシスといった細胞死を軽減することで温阻血再灌流障害を軽減することが明らかとなった。

本研究は、30 分間という比較的短時間の PGE1 添加冷保存前灌流により、心停止ドナーからのグラフトが心拍動下摘出肝グラフと同程度の機能まで改善し得ることを示し、今後、臨床において心停止グラフトを用いた肝移植を検討するうえで有意義な知見をもたらした。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。