

Title	Bilirubin Rinse : A Simple Protectant Against the Rat Liver Graft Injury Mimicking Heme Oxygenase-1 Preconditioning.
Sub Title	ビリルビンリンス法の開発： ヘムオキシゲナーゼ-1によるプレコンディショニングに匹敵する移植肝保護効果の検討
Author	加藤, 悠太郎
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.1 (2004. 3) ,p.22-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040302-0022

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Bilirubin Rinse : A Simple Protectant Against the Rat Liver Graft Injury Mimicking Heme Oxygenase-1 Preconditioning.

(ビリルビンリンス法の開発：ヘムオキシゲナーゼ-1による
プレコンディショニングに匹敵する移植肝保護効果の検討)

加藤 悠太郎

内容の要旨

論文審査の要旨

肝移植においてグラフト肝冷保存再灌流障害の制御は重要な課題である。ヘム代謝の律速酵素であるheme oxygenase (HO) の誘導型アイソザイムHO-1を冷保存前にグラフト肝に誘導すること (HO-1 preconditioning) による冷保存再灌流障害抑制効果が近年報告されている。HO酵素反応の最終産物は一酸化炭素 (CO)、ビリルビンおよび2価鉄であるが、それぞれ重要な生物活性を有することが最近明らかになった。しかし上記の臓器保護効果においていずれの産物が主要な役割を担っているか詳細は不明である。

本研究では、第一に16時間冷保存ラット肝の体外再灌流モデルを用いて、HO-1 preconditioningのグラフト肝保護効果におけるHO反応産物依存性の機序について検討した。第二に16時間冷保存肝移植モデルを用いて、第一の検討で重要な関与が認められたビリルビンを移植直前にグラフト内投与 (ビリルビンリンス)、その冷保存再灌流障害抑制効果について検討した。

1. HO-1 preconditioningによるグラフト保護効果の機序の検討

ラットより採取した全肝を保存液University of Wisconsin液内に16時間、4℃で保存後、酸化Krebs-Henseleit緩衝液で門脈より体外再灌流するモデルを作成した。グラフト肝のHO-1 preconditioningは冷保存開始18時間前にHO-1誘導薬剤Heminの腹腔内投与にて行った。Hemin処置群では冷保存再灌流後、胆汁内ビリルビン・胆汁酸・リン脂質分泌量の増加を伴う有意な胆汁流量増加を認め、肝酵素逸脱量で評価される肝細胞障害も有意に軽減した。HO阻害剤投与により有意に抑制されたHemin処置の効果は、低用量ビリルビンの共灌流により濃度依存性に再現された。さらにHO-1非誘導肝においても、再灌流早期の低用量ビリルビン共灌流によりHO-1誘導に匹敵する冷保存再灌流障害抑制効果を確認した。また再灌流によってグラフト肝細胞に発生した酸化ストレスはHemin処置あるいは低用量ビリルビン共灌流により有意に抑制された。

2. 肝移植におけるビリルビンリンスの有効性に関する検討

ビリルビンリンスの有効性をラット同所性肝移植モデルで検討し、HO-1 preconditioningの効果と比較した。その結果、移植直前に低用量のビリルビンでグラフト肝リンスを施行した群ではビリルビンリンス非施行群に比して、移植後胆汁流量・血清肝酵素逸脱量・術後24時間生存率が有意に良好であった。またこのビリルビンリンスのグラフト肝保護効果はHO-1 preconditioningによる効果に匹敵した。

以上の実験では、ビリルビンは至適低濃度でのみ有効であり、高濃度での投与は逆に各パラメータを悪化させ、その毒性が示唆された。

以上の結果から、HO-1 preconditioningの冷保存再灌流障害抑制によるグラフト保護効果の機序の一つとしてビリルビンの抗酸化作用が示唆され、またビリルビンリンスの冷保存再灌流障害抑制効果はHO-1 preconditioningの効果に匹敵すると考えられた。臨床応用可能な長時間冷保存グラフト肝保護法として、ヘム代謝に影響を与えず、また単純かつ廉価であるという点で、用量を至適に保ったビリルビンによるリンスの方が薬物的HO-1誘導よりも優位性がある可能性が示唆された。

肝移植におけるグラフト肝冷保存再灌流障害の抑制方法としてHO-1 preconditioningの有効性が報告されているが、その機序については不明点が多い。本研究では、同機序において、HO反応産物であるビリルビンの抗酸化作用が主要な役割を担っていることが明らかにされ、さらにex vivoおよびin vivo両実験系において、グラフト肝に対するビリルビンリンスは、HO-1 preconditioningに匹敵する冷保存再灌流障害抑制効果を発揮した。

審査では、主にビリルビンリンスに関して質疑がなされた。投与ビリルビンの有効濃度の範囲が狭い理由が問われ、また毒性が出現するビリルビン濃度周辺の投与濃度をさらに細く設定すべきとの指摘がなされた。これに対し、in vitroでの報告では抗酸化作用を發揮するビリルビン濃度の範囲はさらに広いが、ex vivoおよびin vivoでは比較的low濃度でも細胞毒性が出現し、有効濃度の範囲が狭くなる可能性があり、現時点では詳細は不明であると回答された。また、ビリルビンリンスの臨床応用を考える上で、上記のような微妙な濃度設定は可能かという問いに対して、ヒトにおける有効投与濃度の設定にはさらなる検討が必要であるが、可能であるとの考えが示された。また、临床上、移植肝に対するリンスの際にビリルビンが肝内に不均一に分布し、高濃度に集積した領域の肝障害が出現する可能性について質問され、リンス手技の向上により克服し得る問題であると回答された。また、ex vivoに比してin vivoで投与ビリルビン有効濃度が若干高い理由を問われたが、in vivoでは再灌流時に肝内に供給される血中のアルブミンがビリルビンある程度捕捉し、ビリルビンの肝細胞毒性を軽減している可能性について言及された。さらに、ビリルビンリンスの有効性の機序としてビリルビンの抗酸化作用以外の作用の関与は考えられるかとの質問に対して、文献的にはその他の肝細胞保護効果の報告はなく、現時点では否定的であるとの考えが述べられた。一方、本研究におけるKupffer細胞由来の酸化ストレスの重要性を問われたが、本研究ではKupffer細胞および好中球由来の酸化ストレスの関与が僅少である冷保存時間および再灌流環境を設定したことが説明された。また、肝組織acrolein免疫染色写真の質が低いとの指摘があり、さらに肝組織acrolein免疫染色写真の一部で、陽性肝細胞核数が別途カウントした数に合致しない傾向があり、掲載写真の選択を考慮すべきと指摘された。

以上、本研究は、投与ビリルビンの濃度設定や組織標本写真に改善すべき点が指摘され、また、臨床応用を考える際に検討すべき点も多く残されているが、ビリルビンの抗酸化作用による冷保存肝再灌流障害抑制効果がin vivoではじめて示され、ビリルビンリンスの臨床応用の可能性も示唆された点で、今後の肝移植の成績向上に寄与し得る有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹
内科学 石井 裕正 解剖学 相磯 貞和
病理学 岡田 保典
学力確認担当者：北島 政樹、石井 裕正
審査委員長：石井 裕正

試問日：平成15年12月16日