慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Divergent roles of superoxide and nitric oxide in reduced-size liver ischemia and reperfusion injury : Implications for partial liver transplantation
Sub Title	肝部分虚血・再灌流障害における活性酸素・一酸化窒素が有する多面性 : 部分肝移植との相関について
Author	浦上, 秀次郎
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.30-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0030

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.

Divergent roles of superoxide and nitric oxide in reduced-size liver ischemia and reperfusion injury: Implications for partial liver transplantation

（肝部分虚血・再灌流障害における活性酸素・一酸化窒素が有する多面性：部分肝移植との相関について）

浦　上　　秀　次　郎

内容の要旨

肝移植は劇症肝不全や末期慢性肝疾患に対する有効な治療法であるが、ドナー臓器不足問題は深刻である。グラフト肝のviabilityはグラフト容量と冷保存時間に依存していることが臨床経験から指摘されているが、その病態生理は不明な点が多い。

肝温虚血・再灌流障害モデルにおける肝障害に活性酸素、炎症性サイトカインなどが関与し、またsuperoxide dismutase（SOD）、eNOSなどがこれらの抑制に寄与していることが知られているが、部分肝移植と虚血・再灌流障害により引き起こされる肝障害や機能不全の機序の相同性は明らかではない。

本報ではグラフト容量と冷保存時間がグラフト肝機能・生存に与える影響を評価し、虚血・再灌流障害モデルで得られた活性酸素・一酸化窒素の知見を基に、部分肝移植モデルにおける病態生理の類似性，相違性について検討した。

Lewis系雄性ラットを用いて30%，40%，50%部分肝グラフトモデルを作成し、２，４，６時間冷保存後に肝移植を行い、生存を観察した。別に各群を肝移植24時間後に屠殺し、血液・グラフト肝を採取し、肝機能・炎症性サイトカイン、肝組織を評価した。別に各群で７日間生存例を屠殺し、肝再生率を検討した。

６時間冷保存30%グラフト群にpolycationic form SOD fusion protein（MnSOD2/3），α-lipoic acid（LA），S-nitrosoglutathione（GSNO），補体のC5a receptor（C5aR）antagonistを用い、各々冷保存液中に添加ならびにドナー・レシピエントに投与し、生存を観察した。

４，６時間冷保存した30%グラフト群の生存率は各々50%，25%であったが、その他の群は全例生存した。40%以上のグラフト群は６時間冷保存でも全例生存しており、40%以上がfeasibleなグラフト容量であると考えられた。ALT，T-Bilは、グラフト容量・冷保存時間依存性に高値であった。IL-6，TNF-αは６時間冷保存の30%グラフト群において極めて高値であった。肝組織像は、４，６時間冷保存した30%グラフト群でのみ壊死性変化が見られた。移植７日後の肝再生は６時間冷保存の30%グラフト群においてのみ著しく傷害されていた。以上より、グラフト容量と冷保存時間がグラフトのviabilityとレシピエントの生存の重要な規定因子であることが示された。

長時間冷保存の過小グラフト肝移植においては、antioxidants，NO donor，C5aR antagonistの投与はグラフトのviability，レシピエントの生存率改善に寄与しなかった。これより、部分肝移植モデルでのグラフト肝機能障害の病態生理は、虚血・再灌流障害モデルに観察された結果と異なり、活性酸素・一酸化窒素の関与機序が異なる可能性が示唆された。

論文審査の要旨

肝虚血・再灌流障害、冷保存障害の機序・メカニズムなどに関する実験研究はこれまで多くの研究者により報告されているが、その病態生理には依然として不明な点が多い。移植医療を含んだ肝臓外科の術後成績の向上のためにも、肝虚血・再灌流障害の詳細なメカニズムの解明は急務である。我々は、マウス肝部分温虚血・再灌流モデルならびに肝切除を伴う温虚血・再灌流モデルにおいて得られた知見をもとに、冷保存を伴うラット部分肝移植モデルを確立し、生存率・肝機能を系統的に評価した。また、これらのモデルにおける活性酸素・一酸化窒素の関与に関しても併せて検討した。

審査では、まず抗酸化物質として実験に使用されたMnSOD2/3の特性に関して質問がなされた。これに対し、同物質は比較的半減期の長いmitochondrial MnSOD（SOD2）に、血管内皮細胞表面への結合能力が極めて高いextracellular SOD（SOD3）のC末端部を遺伝子導入することにより得られたfusion protein SODであり、その半減期は30時間と極めて長く、より強力に、より長時間その抗酸化効果を期待できるものであると回答された。次に、６時間冷保存を伴う30%グラフト肝移植モデルにおいて観察された肝実質細胞の空胞変性や細胞質褪色などの壊死性変化が肝小葉内において特異な分布が認められたか否かの質問がなされ、一定の傾向は認められなかったこと、他家の報告と比較して本報の所見は組織障害が軽微であったことが回答された。また、抗酸化物質の一つとして葉酸を用いた理由について質問がなされ、老化抑制を見るための経口投与モデルとは異なり、腹腔内投与により細胞内グルタチオン濃度を上昇させ、その抗酸化作用を期待したと回答された。ラット肝切除の具体的な方法についての質問がなされ、右側中葉（30%）、中葉（40%）、中葉＋右葉（50%）を基準にしてモデルを作成したと回答された。また、マウス肝温虚血再灌流モデルにおいて認められた抗酸化物質ならびに補体阻害剤投与による肝障害抑制効果がラット部分肝移植モデルにおいて認められなかった理由についての質問がなされた。これに対し、各薬剤の投与量・投与法はマウスを用いた自験結果ならびにラット隔離肝灌流モデルによる他研究者からの報告を参考に実験がなされたが、マウスとラットの種差による影響、温虚血と冷虚血による病態機序の相違の可能性などが示唆され、薬剤の投与量・方法、時期を含めて今後更に解析・検討が必要であると回答された。最後に、冷保存を伴う微小グラフト肝移植モデルにおいては、糖代謝・脂質代謝の変化、さらに増殖因子の関与の可能性が指摘され、今後の検討課題であると回答された。

以上のように、本研究は今後更に検討すべき課題を残しているものの、冷保存を伴う部分肝移植グラフトモデルを確立し、その術後機能を系統的に評価した点、また将来的に生体肝移植におけるsmall-for-size graftの病態解明にむけて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
　　医化学　末松　　誠　　内科学　日比　紀文
　　解剖学　相磯　貞和
学力確認担当者：池田　康夫
　　審査委員長：末松　誠

試問日：平成19年1月24日