

鞍型コイルを用いた³¹P-MRSにおけるラット灌流保存肝の灌流温度の検討

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 和田, 英俊 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/972

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 119号	学位授与年月日	平成 4年 3月26日
氏名	和田 英俊		
論文題目	鞍型コイルを用いた ^{31}P -MRS におけるラット灌流保存肝の灌流温度の検討		

医学博士 和田英俊

論文題目

鞍型コイルを用いた ^{31}P -MRS におけるラット灌流保存肝の灌流温度の検討

論文の内容の要旨

【はじめに】 肝臓の保存は、現在、臨床において単純冷却保存が主流であり、近年、保存液として University of Wisconsin solution (UW 液) が開発され、保存時間は飛躍的に延長してきている。しかし、より長時間の保存には、臓器灌流を行って、酸素と栄養素を補給し老廃物を除去する持続灌流保存が理想的手法であると考えられる。

今回、ラット摘出肝臓の灌流モデルを作製し、 ^{31}P -MRS (Magnetic Resonance Spectroscopy) を用いて経時的に組織内のエネルギー代謝を測定することにより、灌流温度の検討を行った。また、 ^{31}P -MRS の測定には、従来、臓器の一部しか測定できない表面型コイルが用いられることが多いが、肝臓全体のエネルギー代謝を測定するために自作の鞍型コイルを使用した。

【方法】 幅 4 mm、厚さ 0.1 mm の銅板を使用して、ラットの肝臓全体がコイルの空間内に含まれるような直径 27 mm、長さ 30 mm の鞍型コイルを作製した。このコイルの性能を検討するために、JOEL 社製の径 11 mm の表面型コイルとで、Signal/Noise 比 (S/N 比) を比較した。

Wistar 系雄性ラット (250–300 g) に pentobarbital sodium (50 mg / kg) を腹腔内投与し麻酔後、肝臓を摘出し、門脈より 4 °C の Euro-Collins 液 30 ml (+ heparin 500 U) にてフラッシュした。灌流前の肝重量を測定後、門脈より Krebs-Henseleite 液 (95% O_2 / 5% CO_2 飽和) を 20–25 ml (2 ml/min/g · liver) にて、非拍動流で非循環で灌流した。灌流温度は、肝表面温度とし、2 °C、10 °C、20 °C、37 °C とした。MRS 内に摘出灌流肝を設置し、灌流開始後 30 分、60 分、120 分、180 分、360 分の ^{31}P -MRS を測定するとともに、流出灌流液中の GOT、GPT、LDH を測定した。また、360 分灌流後の肝重量を測定後、hematoxylin-eosin 染色にて、組織学的検索も行った。

【結果】 S/N 比は、自作の鞍型コイルが 571.9 に対して表面型コイルは 165.5 であり約 3.5 倍の良好な感度を得られた。

$\beta\text{ATP}/\text{Pi}$ は、全ての灌流温度で 180 分後まで上昇しその後ほぼ一定レベルとなった。また、60 分後までは 10 °C が他の温度に比べ有意に高値を示した。360 分後には 2 °C、10 °C が 20 °C、37 °C に比較して有意に高値を示した。細胞内 pH において、2 °C、10 °C は灌流開始後より 7.3~7.4 であったが、20 °C、37 °C はアシドーシスの傾向を示した。

GOT は、120 分以後 37 °C が他の温度より有意に高値を示し、360 分後には 20 °C が 2 °C、10 °C より有意に高値を示した。GPT は、120 分以後 37 °C が有意に高値を示し、LDH は、180 分以後 37 °C が有意に高値を示したが、その他に有意な差はなかった。

灌流前後の肝重量は、全ての温度とも有意に減少したが、減少率に有意な差はなかった。

光顕における組織学的所見は、37 °C において肝細胞索の解離、細胞濃染の不均一が中心静脈周囲から中間帯にかけて認められた。20 °C でも一部同様な所見がみられたが、2 °C、10 °C には変化はなかった。

【結論】

1. 自作の鞍型コイルを用いた ^{31}P -MRS において、肝臓全体のエネルギー代謝の経時的变化を良好に測定することが可能であった。
2. ^{31}P -MRS において灌流温度が 2 °C、10 °C で良好な保存状態が得られ、これは生化学的、組織学的検索の結果と一致した。
3. エネルギー代謝の面では、10 °C が他の灌流温度に比べて回復が速いことから臨床応用の点では 10 °C が至適灌流温度である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

肝臓の保存は、臨床において単純冷却保存が主流であるが、酸素と栄養素を補給し老廃物を除去できる持続灌流保存は、より長時間の保存が出来る可能性がある。

そこで申請者は、非侵襲的に経時的にリン化合物が測定できる³¹P-Magnetic Resonance Spectroscopyを用いて灌流温度の検討を行った。また、肝臓全体のスペクトルを得るために自作の鞍型コイルを使用した。

銅板を使用した直径27mm、長さ30mmの鞍型コイルは、市販の直径11mmの表面型コイルに比べ約3.5倍のSignal/Noise比が得られ、感度のよい鞍型コイルが作製された。

Wistar系雄性ラットの摘出肝の門脈より Krebs-Henseleit液(95%O₂ / 5%CO₂)を2 ml/min/g.liverで非拍動流にて6時間灌流し、灌流温度2℃、10℃、20℃、37℃で比較した。

βATP/Piは、灌流開始60分まで10℃の群が他の群より有意に高値を示した。180分以後は、2℃と10℃に有意の差を認めなかったが、20℃、37℃はそれらと比較して有意に低値を示した。

細胞内pHは、20℃、37℃でアシドーシスの傾向があったが、有意な差は認めなかった。

GOT、GPT、LDHに関しては、37℃は2℃、10℃、20℃と比較して有意に高値を示した。

灌流前後の肝重量の変化は、全ての群で有意に低下したが、温度による有意差はなかった。

病理組織学的には、37℃で中心静脈周囲から中間帯にかけて細胞索の解離、細胞濃染の不均一がみられ、一部に細胞の壊死性変化が認められた。20℃も一部同様の所見が得られたが、2℃、10℃には、ほとんど変化を認めなかった。

以上の結果より、灌流温度が2℃、10℃において良好な保存状態が得られたが、灌流初期は10℃でエネルギー保有量が高く、エネルギー代謝の面では、10℃が至適灌流温度であることが示唆された。

以上の論文の内容説明に対し、

- 1) 10℃において灌流流量はどこまで低下できるのか
- 2) 灌流温度10℃が効果的である理由
- 3) 10℃で灌流した肝と正常肝の病理組織学的変化
- 4) 灌流温度の設定方法
- 5) 拍動流と非拍動流の相違
- 6) 灌流保存中のviabilityの評価と移植生着率の相関
- 7) 灌流保存はなぜ主流にならないのか
- 8) 360分灌流後、肝重量が減少する理由
- 9) 鞍型コイルの材料
- 10) βATP/Piが灌流後に上昇する理由

などについて質疑がおこなわれた。これらによって申請者は実験条件、その制約、導かれる結論に対し、よく理解していることが示された。

本研究は³¹P-magnetic resonance spectroscopyを用いたラット肝灌流モデルにて灌流温度を検討し、エネルギー代謝の面から10℃が至適温度であることを示唆したもので、実験モデルとしても将来の発展も期待できる有力な研究であることが明らかになった。よって審査委員会は本論文が、博士(医学)の学位を授与するに十分な内容を有するものと、全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 河 邊 香 月

副査 教授 神 田 洋 三 副査 教授 白 澤 春 之

副査 教授 藤 瀬 裕 副査 助教授 中 村 達