



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

ラット肺移植におけるドコサヘキサエン酸静脈内投与の免疫抑制効果に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-02-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐々木, 裕茂 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/15177

氏名 (本籍) 佐々木 裕 茂 (岐阜県)
 学位の種類 博士 (医学)
 学位授与番号 乙第 1094 号
 学位授与日付 平成 8 年 12 月 18 日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当
 学位論文題目 ラット肺移植におけるドコサヘキサエン酸静脈内投与の免疫抑制効果に関する研究
 審査委員 (主査) 教授 廣 瀬 一
 (副査) 教授 植 松 俊 彦 教授 安 田 圭 吾

論文内容の要旨

臓器移植において、現在もお解決しなければならない問題点の1つに、拒絶反応に対する有効な免疫抑制剤の開発が挙げられる。最近では、免疫抑制剤の中から作用機序の異なる薬剤を組合せることで、副作用を軽減し、肺移植においても拒絶反応は効果的に抑制されるようになった。ドコサヘキサエン酸 (docosahexaenoic acid : DHA) はエイコサペンタエン酸と共に ω 3系多価不飽和脂肪酸であり、魚油中に多く含まれる。魚油の経口摂取により、腎臓移植では、サイクロスポリンの腎毒性が減少し、糸球体濾過量の増加等、腎機能が改善するという報告や、ラット心臓移植では移植心の生着延長や、サイクロスポリンによる高血圧の軽減が報告されている。またDHAの静脈内投与により、拒絶反応、急性心筋梗塞のような急性炎症疾患で、組織損傷の減少の可能性があると報告や、delayed-type-hypersensitivity responseが抑制され、拒絶反応等を抑制する可能性があるとの報告もある。今回の実験において、DHAの肺移植後の拒絶反応における免疫抑制剤としての有効性をラット肺移植モデルを用いて検討した。

実験方法

F344 (体重240~380g) をrecipientに、WKAH (体重225~350g) をdonorとして、ラット左胸腔内同所性肺移植を行なった。次の如きA~Dの4群を設定した。A群は無処置群 (n=3), B群はF344→F344の同系移植・非DHA投与群 (n=3), C群はWKAH→F344の同種移植・非DHA投与群 (n=6), D群はWKAH→F344の同種移植・DHA投与群で、D群-1はDHA 0.5g/kgを術後0, 3日目に2回投与した群 (n=3), D群-2はDHA 0.5g/kgを術後隔日 (0, 1, 3, 5日目に4回投与した群 (n=3), D群-3はDHA 0.5g/kgを術後連日 (0, 1, 2, 3日目に4回投与した群 (n=6) とした。DHAは純度98%以上のトリグリセリド型DHAを10%含むエマルジョンを用い、すべて静脈内投与した。尚、D群では、DHA投与用静脈の確保、全身状態維持を目的として、犠死するまで右外頸静脈から10%グルコース維持液にて持続注入を行なった。更に移植2週間前から、donor及びrecipient共に魚粉を除いた餌を与えた。C群で拒絶反応が完成する術後7日目に犠死させ、組織、末梢血、broncho alveolar lavage (BAL) における拒絶反応の程度を検討した。尚、組織学的検索での判定には藤村らの分類を用いた。(stage I : minimal rejection, stage II : mild rejection, stage III : moderate rejection, stage IV : severe rejection)

実験結果

1. 組織所見

stage II, IIIを軽度から中等度拒絶例、stage IVを高度拒絶例とした。左側肺では、C群は、軽度から中等度例が1肺、高度例が5肺であった。D群-1は、高度例が3肺であった。D群-2は、軽度から中等度例が3肺であった。D群-3は、軽度から中等度例が6肺であった。C, D群-1と比較して、D群-3では軽度から中等度例が有意に多かった ($P<0.05$)。

2. 末梢血

白血球数はA, B, C群と比較してD群-1, D群-3で有意に多かった ($P<0.05$)。白血球分画絶対数において、多核球はA, B, C群と比較して、D群 (1, 2, 3) で有意に多かった ($P<0.05$)。Ia抗原陽性細胞は、A群と比較してD群-3で有意に多かった ($P<0.05$)。CD4/CD8, NK細胞活性は、有意差は見られなかった。

3. BAL

総細胞数では、左側肺でB群と比較してC, D群-1で有意に多かった ($P < 0.05$)。細胞分画絶対数では、左側肺でリンパ球が、C群と比較してA, B, D群(1, 2, 3)で有意に少なかった ($P < 0.05$)。多核球はA, B群と比較してD群-1で有意に多かった ($P < 0.05$)。NK細胞活性は、左側肺でB群と比較してD群-2, D群-3が有意に多かった ($P < 0.05$)。CD4/CD8, Ia抗原陽性細胞は有意差は見られなかった。

尚、DHAの副作用として、尾根部の汚れは、D群-1で2匹、D群-2で3匹、D群-3で5匹見られ、軟便はD群すべてのラットで見られた。また食欲低下、体重減少はD群-1で2匹、D群-2で3匹、D群-3で6匹見られ、減少率の有意差はなかった。また死亡例は、D群-1, D群-2で各1例ずつ認められた。

考 察

拒絶反応抑制の程度を組織学的に比較すると、D群-3は明らかにC群と比較して、有意に拒絶反応の程度が軽度であったことから、DHAの有効性が確認された。しかしA群, B群と比較すると、D群-3では拒絶反応のstageは進行しており、今回のDHAの投与量、投与方法では肺移植においては完全には拒絶反応を抑制できなかった。

末梢血では、DHA投与群で有意に白血球が増加しており、拒絶反応に関係なくDHAの作用として白血球が増加したと考えられた。また分画では多核球がD群で増加しており、DHAによる白血球増加は、多核球による増加が主であることが示された。

BALでは総細胞数が増加した左肺C群, D群-1と比較して、D群-2, D群-3の総細胞数が少ない傾向が見られ、拒絶反応の進行の抑制効果が得られている可能性が示唆された。細胞分画絶対数は、C群と比較してD群で明らかにリンパ球が減少しており、これはDHAによる変化である可能性が示唆された。NK細胞活性は、左肺において、D群-2, D群-3がB群より多く、DHA投与で移植肺のNK細胞活性が増加したこととなる。この機序の解明は今後の課題である。

副作用に関しては、10%グルコース維持液による持続注入を行なったことで、コントロールできたと考えられる。

今回の研究においてDHAによる末梢血, BALの変化からはその抑制効果の機序は明らかにすることはできなかった。しかしながら単独連日投与で組織学的に見ると有効性はやや低いが、抑制効果は認められ、臓器移植における免疫抑制剤となりうる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者、佐々木裕茂は、ラット肺移植において、 $\omega 3$ 系多価不飽和脂肪酸であるドコサヘキサエン酸を単独静脈内投与した。組織学的に免疫抑制効果は認められ、ドコサヘキサエン酸が臓器移植における免疫抑制剤となりうる可能性を示した。これらの新知見は、外科学ならびに移植学の進歩に少なからず寄与するものと認める。

[主論文公表誌]

ラット肺移植におけるドコサヘキサエン酸静脈内投与の免疫抑制効果に関する研究

平成8年7月発行 日胸外会誌 44(7): 936~944