

学位論文題名

CHANGES IN RENAL BLOOD FLOW IN RESPONSE
TO SYMPATHOMIMETICS IN THE RAT
TRANSPLANTED AND DENERVATED KIDNEY

(交感神経作動薬に対するラット移植腎及び除神経腎の腎血流反応差異)

学位論文内容の要旨

腎移植時の手術操作によって、移植腎は非移植腎とは異なる環境におかれることが考えられる。抗原特異的免疫反応、非特異的炎症・創傷治癒反応、虚血・再灌流障害、血管収縮性物質への反応、腎への自律神経支配の変更などである。これらの要素のうち神経支配の変更による影響を調べることを目的として、動物実験を行った。免疫学的に同系のラットを用いることで抗原特異的な免疫学的影響を除外し、非移植腎に認められる交感神経作動薬に対する腎血流の変化が移植腎でどのように見られるかを検討した。また虚血・再灌流障害の影響を受けない除神経モデルにおいて、腎血流変化が移植腎のそれと同様であるかどうかについて検討した。

実験動物は、近交系同系の週齢13-15週のラット(TO/Hkm;北海道大学医学部動物実験施設)を用いた。移植モデルでは腹部に異所性腎移植を行い、右の自己腎を摘出した。また除神経モデルでは左腎の血管周囲を外科的に剥離した後、フェノール及びエタノールにて化学的除神経を行った。一定期間の経過観察の後、これらのラットを再開腹して両側の腎表面にレーザードップラー組織血流測定装置を装着し、経時的に腎血流を測定した。ラットはネンブタール腹腔内麻酔の後、塩酸ガラミンにて筋弛緩を行い、気管挿管下に人工呼吸し、頸動脈カテーテルより血圧・脈拍を同時に測定した。頸静脈カテーテルから塩酸ドパミンと塩酸フェニレフリンを投与し、腎血流・血圧・脈拍の推移を観察した。

まず、塩酸ドパミン(10, 100, 500ug/kg)の急速静注にて、両側健常腎では腎血流の一過性の低下の後、初期血流を上回る腎血流増加がみられ、15分で初期血流に復した。左右腎の血流変化は同期していた。移植モデルにおいて、移植後30・60・90・240日目に自己腎と移植腎の同時腎血流測定を行ったところ、移植腎では自己腎に比較して

一過性の腎血流低下が増強し、その後の腎血流増加の程度が抑制された。移植後期間が長くなるに伴い、自己腎の血流パターンへの近似が見られたが、240日目の時点でも完全に自己腎血流パターンとは一致しなかった。左除神経腎と右自己腎の血流パターンの比較を移植又は除神経後30日目に行ったところ、除神経腎と移植腎の、自己腎との血流パターンの差異は同程度であった。

塩酸ドパミン急速静注後15分を経過して、腎血流が完全に初期値に復した時点から、塩酸フェニレフリン(60 ug/kg/min)を15分間持続静注し、上記と同様のモデルにて腎血流を測定したところ、両側健常腎では血圧の上昇に伴い、血圧と腎血流は緩徐に上昇し、プラトーに達した。移植モデル及び除神経モデルでは、同時測定した自己腎では同様に腎血流がプラトーに達したが、移植・除神経腎では緩徐に低下した後、約10分後に突然の腎血流低下をきたし、殆ど血流ゼロとなった。この反応は、移植後の全期間(30-240日)及び除神経後30日目の全ての操作腎にのみ見られた。

腎の自律神経支配は、交感神経系の α ・ β 線維及びドパミン受容体が関与しているとされている。臨床的に移植腎では電解質利尿の異常やドパミン低容量による腎血流保持作用の無効性が指摘されている。これは移植操作や移植後の環境などによって影響を受けるためと考えられるが、本検討で血流反応の経時的回復、除神経モデルとの相似、非可逆的反応障害の存在が確認された。

虚血再灌流障害・レニン・アンギオテンシン系やエンドセリン・一酸化窒素や細胞誘導性サイトカインの影響など、他に影響を与えた因子が考えられるが、除神経も移植操作後の腎血流・電解質利尿に影響する因子として無視できないということが示された。臨床の腎移植において使用される免疫抑制剤には、交感神経 α 刺激性を持つ薬剤が含まれており、除神経の移植腎に対する作用が増悪することが想定される。

今後、虚血再灌流後のサイトカイン動態や、創傷治癒作用に寄与する細胞誘導性サイトカインの働き、移植腎血流に影響するレニン・アンギオテンシン系の動態等の因子についても検討を加えて、移植という異常環境下の生体反応と、その正常化について研究を進めていきたい。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 本 間 研 一
副 査 教 授 小 柳 知 彦
副 査 教 授 吉 岡 充 弘

学 位 論 文 題 名

CHANGES IN RENAL BLOOD FLOW IN RESPONSE TO SYMPATHOMIMETICS IN THE RAT TRANSPLANTED AND DENERVATED KIDNEY

(交感神経作動薬に対するラット移植腎及び除神経腎の腎血流反応差異)

腎移植の手術操作後、移植腎は抗原特異的免疫反応、非特異的炎症、虚血再灌流障害、血管内皮由来の局所作用物質の影響、腎自律神経支配の変化、免疫抑制剤の影響などにより移植前とは異なる環境に置かれる。臨床では腎機能の保全を目的としてドパミン低用量持続投与を行うが、移植腎では血管切断・再吻合に伴い腎の交感神経支配が障害されており、移植後の腎にドパミン低用量投与を行うことの意義は不明である。そこでドパミンなどの交感神経作動性薬剤の移植腎および除神経腎血流に与える影響について動物実験を行った。免疫学的に同系のラットを用いることで抗原特異的免疫反応を除外し、通常腎に認められる交感神経作動薬に対する腎血流の変化が、移植腎でどのように認められるかを検討した。また虚血、再灌流障害の影響を受けない除神経モデルについても検討した。移植モデルは腹腔内麻酔後、腹部に異所性腎移植を行い、右の自己腎を摘出した。除神経モデルは左腎の血管周囲を外科的に剥離した後、フェノール及びエタノールにて化学的除神経を行った。各モデルを一定期間後に腹腔内麻酔後再開腹し、塩酸ガラミンにて筋弛緩を行い、気管挿管下に人工呼吸器により呼吸を維持し、頸動脈カテーテルより血圧・脈拍を測定した。移植又は除神経腎と非操作腎表面にレーザードップラー組織血流測定装置を装着し、頸静脈カテーテルから塩酸ドパミンと塩酸フェニレフリンを投与し、腎血流、血圧、脈拍の推移を記録した。

塩酸ドパミン (0, 10, 100, 500 μ g/kg) 生食溶解液 200 μ l の急速静注にて、両側健常腎ではドパミン用量依存性に腎血流の一過性の低下の後、初期血流を上回る腎血流増加がみられ、15分で初期血流に復した。左右腎の血流変化は同期していた。移植、除神経操作後30日目に对照非操作腎との血流パターンの比較を行ったところ、除神経腎と移植腎の、非操作腎との血流パターンの差異は同様の傾向が認められた。移植後30日、60日、90日、240日目にドパミン急速静注を行ったところ移植腎では自己腎に比較して初期

の腎血流低下が増強し、その後の腎血流増加が抑制された。移植後期間が長くなるに伴い、自己腎の血流パターンへの近似が見られたが、240日目の時点でも完全に自己腎血流パターンとは一致しなかった。初期血流低下の最低値、血流低下相の持続時間、回復後の血流最高値の3つのパラメータを移植腎に対する自己腎の比で表し、移植後経過期間で比較した結果、移植腎で低下していた腎血流最低値は240日目に自己腎同様に回復したが、後2者は移植後期間が経過しても回復することなく、移植腎血流低下持続時間は延長し、移植腎血流最高値も低下した。塩酸フェニレフリン ($40 \mu\text{g/kg/min}$) を15分間持続静注し、同様のモデルにて腎血流を測定したところ、非操作腎では血圧の上昇に伴い、腎血流は緩徐に上昇し、プラトーに達した。移植モデル及び除神経腎では緩徐に腎血流が低下した後、最高血圧が190-220mmHgでプラトーに達した時点で突然の低下をきたし、殆ど血流ゼロとなった。この反応は、移植60日目の1例を除く30-240日目の全期間 ($n = 3 \sim 5$) 及び除神経後30日目の全ての操作腎に認められた。

公開発表に先立ち、各審査員から個別の審査を受け、研究の背景や学位論文の内容について詳細な説明を行った。公開発表において、まず申請者はスライドを用いながら約20分間、学位論文の要旨を発表した。これに対して、副査の吉岡充弘教授より、交感神経線維の再生を示す組織学的検討及び再生の時期、持続的 α 受容体刺激による腎血流の急激な低下現象の作用機序について、次いで副査の小柳知彦教授より、化学的除神経を目的とした水酸化ドパミンの使用、臨床で行われる自家腎移植に考え得る除神経の効果についての質問があった。また主査の本間研一教授から、腎の機能のパラメータとしての糸球体濾過量の必要性、正常両側腎の血流比の左右差、持続的 α 受容体刺激時の自己調節機構と血流の異常上昇に関する質問があった。また、フロアから外科的・化学的除神経による腎動脈壁内の深層神経線維の除神経の有無、血管の収縮や拡張に関わる一酸化窒素の血管拡張作用についての質問があった。これらに対し、申請者は自らの研究結果や過去の論文の内容を引用し、明解に回答した。

本論文は、動物実験モデルを用いて、移植腎および除神経腎の交感神経作動薬に対する腎血流量増大反応が非可逆的に低下していることを明らかにし、腎移植後における薬物治療に新しい方向性を示すものである。審査員一同はこれらの成果を高く評価し、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。