



# A possible serum marker for rejection after small intestine transplantation

前田, 貢作

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1987-06-10

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙1089

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2001089>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	まえ 前	だ 田	こう 貢	さく 作	(和歌山県)
学位の種類	医学博士				
学位記番号	医博ろ第930号				
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当				
学位授与の日付	昭和62年6月10日				
学位論文題目	A Possible Serum Marker for Rejection After Small Intestine Transplantation (小腸移植後の拒絶反応に対する血清学的診断の 可能性)				
審査委員	主査 教授 中 村 和 夫 教授 斉 藤 洋 一      教授 伊 東      宏				

## 論文内容の要旨

### I. 緒 言

近年、免疫抑制剤の進歩によって臓器移植は飛躍的に発展したのにもかかわらず、小腸移植においてはめざましいものが認められてはいない。これは小腸という臓器の免疫学的特殊性によるところが大きく、拒絶反応や、Graft versus Host Disease (GVHD) が依然として主たる問題として残っている。さらに小腸移植では拒絶反応の早期診断が困難であり、現在では組織学的診断以外に有効な方法が認められない。我々はLysosomal Acid HydrolaseであるN-acetyl Hexosaminidase (HEX) が腸管虚血の際に血清中に上昇する点に注目し、小腸移植後の拒絶反応に対する血清学的診断法としての可能性を、ラットモデルを用いて検討した。

### II. 対象および方法

実験動物として、体重250 - 300 gの近交系雄性ラットを用いた。1) 同系移植群 (Lewis → Lewis; 5例), 2) 異系移植群 (Wistar → Lewis; 5例), 3) 異系移植 + 免疫抑制群 (Wistar → Lewis + Cyclosporine 25 mg/kg/day 筋注14日間投与; 5例) の3群に分け、抱水クロラー麻酔下にMicrosurgeryの手技を用いて、全小腸の約80%を異所性に移植した。手術はDonorの小腸を栄養血管を付けたまま摘出し、これをRecipientの腹腔内に移植した。Donorの上腸間膜動脈および門脈を、Recipientの大動脈および下大静脈にそれぞれ9 - 0 ナイロン糸を用いて端側吻合した。移植腸管の両端は腸瘻とし、術後の肉眼的観察に用いた。血清 HEX 活性値は術後隔日に

尾静脈から採取した血清より、O'Brein らの方法にて測定した。また同時に腸瘻部より鉗子生検を行い組織学的検討を加えた。

### Ⅲ. 結 果

本移植手技を18組のラットに行い、15匹の生存（83.3%）を得た。術後5日以内の死亡3例は手技によるものと考え、今回の検討から除外した。

1) 同系移植群（5例）：全例が40日以上生存し、組織学的にも拒絶反応を示す所見は得られなかった。HEX 活性値は6日目までは軽度上昇（ $819 \pm 57 \rightarrow 1333 \pm 116$  nmol/hr/ml）を認められたが、10日目には正常値に復し、以後上昇を認めなかった。 2) 異系間移植群（5例）：全例に明らかな拒絶反応を認めた。5例中3例は術後平均  $9 \pm 1$  日で死亡し、他の2例も術後6-10日目に肉眼的に拒絶反応と思われる変化を認めた。HEX 活性値は術後より上昇を認め、術後6日目には術前値の約2倍（ $864 \pm 11 \rightarrow 1571 \pm 144$  nmol/hr/ml）となり、10日目以降は統計学的に有意な値にまで上昇を示した。腸瘻より採取した粘膜生検標本では、著明な細胞浸潤と粘膜上皮の荒廃を伴う急性拒絶反応の像が全例に認められた。HEX 活性値の上昇が組織学的な拒絶反応の診断に先立つものが5例中2例、同時に認められたものが5例中3例であった。 3) 異系間移植および免疫抑制剤投与群（5例）：Cyclosporine 投与中は全例生存した。組織学的には明らかな拒絶反応を示す所見は認められなかった。HEX 活性値は同系移植群と同様の動きを示し、術後10日目には正常値に復した。

### Ⅳ. 考 察

小腸移植においては拒絶反応のコントロールは主たる問題であり、その早期診断法は不可欠であるが、未だ有効な方法がないのが現状である。Cohen らは  $^{14}\text{C}$ -Glucose を用いた移植腸管の吸収機能検査を拒絶反応の診断に用いようと試みたが、一旦拒絶反応が起こると、腸粘膜の破壊により Glucose の透過性に影響を与え、有用でないことが判明した。現在最も信頼のおける診断法は小腸粘膜生検による組織学的検討である。しかし拒絶反応が起こり始めてから小腸粘膜が荒廃するまでの期間が極めて短いため、頻回の検査を要し、煩雑で時間がかかり、しかも患者に対する負担の大きいこの検査法は不利である。そこで我々は生化学的手法で簡単に拒絶反応の診断ができないかを検討した。我々は腸管虚血の際に血清 HEX 活性値が上昇することに注目し、拒絶反応が腸粘膜の虚血性変化を伴うことから、その診断に有効ではないかと考えた。本実験において、拒絶反応の認められた群では、術後10日目以降、拒絶反応の認められなかった群に比して有意な HEX 活性値の上昇が認められた。さらに、この群の5例中2例では HEX 活性値の上昇が組織学的診断の24-48時間前に認められた。以上の結果から、血清 HEX 活性値は小腸移植後の拒絶反応の血清学的診断法として有用であることが示唆された。

## V. 結 論

- 1) ラットを用いた小腸同種移植実験において、異系間の移植例では明らかな拒絶反応が認められ、これと一致して血清 HEX 活性値の上昇が認められた。
- 2) 同系間の移植および免疫抑制例では、拒絶反応は認められず、HEX 活性値は術後早期に正常値に復した。
- 3) 以上より血清 HEX 活性値は拒絶反応の血清学的診断法として有用であると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

近年、免疫抑制剤の進歩によって臓器移植は飛躍的に発展したが、小腸移植に関しては今なおはかばかしい進歩が得られていない。これは小腸という臓器の免疫学的特殊性によるところが大きくその上、小腸移植では拒絶反応の早期診断が困難なことも発展を阻害する一因となっている。本研究は、Lysosomal Acid Hydrolase である N-acetyl Hexosaminidase (HEX) が腸管虚血の際に血清中に増加する点に着目し、これが小腸移植後の拒絶反応に対する血清学的診断法としての可能性について、ラットモデルを用いて検討したものである。

対象及び方法：実験動物として体重 250 ～ 300 g の近交系雄性ラットを用いた。これを(1) 同系移植群 (Lewis → Lewis; 5 例)、(2) 異系移植群 (Wistar → Lewis; 5 例)、(3) 異系移植 + 免疫抑制群 (Wistar → Lewis + Cyclosporine 25 mg/kg/day 筋注 14 日間投与; 5 例) の 3 群に分け、抱水クロラル麻酔下に Microsurgery の手技を用いて、全小腸の約 80% を異所性に移植した。手術は Donor の小腸の栄養血管を付けたまま摘出し、これを Recipient の腹腔内に移植した。Donor の上腸間膜動脈および門脈を、Recipient の大動脈および下大静脈にそれぞれ 9 - 0 ナイロン糸を用いて端側吻合した。移植腸管の両端は腸瘻とし、術後の肉眼的観察に用いた。血清 HEX 活性値は、術後隔日に尾静脈から採取した血清より、O'Brein らの方法にて測定した。また同時に腸瘻部より鉗子生検を行い組織学的検討を加えた。

結果：(1) 同系移植群 (5 例) では、全例が 40 日以上生存し、組織学的にも拒絶反応を示す所見は見られなかった。HEX 活性値は、6 日目までは軽度上昇 ( $819 \pm 57 \rightarrow 1333 \pm 116$  nmol/hr/ml) したが、10 日目には正常値に復し、以後上昇を認めなかった。(2) 異系移植群 (5 例)：全例に明らかな拒絶反応を認めた。5 例中 3 例は術後平均  $9 \pm 1$  日で死亡し、他の 2 例も術後 6 - 10 日目に肉眼的に拒絶反応と思われる変化を認めた。HEX 活動値は術後より上昇し、術後 6 日目には術前値の約 2 倍 ( $864 \pm 11 \rightarrow 1571 \pm 144$  nmol/hr/ml) となり、10 日目以降は同系移植群との間に統計学的に有意な差を示して上昇した。腸瘻より採取した粘膜生検標本では、著明な細胞浸潤と粘膜上皮の荒廃を伴う急性拒絶反応の像が全例に認められた。HEX 活性値の上昇が組織所見に先行したものが、5 例中 2 例、同時に認められたものが 5 例中 3 例であった。(3) 異系移植および免疫抑制剤投与群 (5 例)：Cyclosporine 投与中は全例生存した。組織学的には明らかな拒絶反応を示す所見は認められなかった。HEX 活性値は、同系移植群と同様の動きを示し、術後 10 日目には正常

値に復した。

小腸移植を成功させるには、拒絶反応のコントロールが極めて重要であり、その早期診断法は不可欠であるが、これまで有効な方法がなかった。Cohen らは C-Glucose による移植腸管の吸収機能検査を拒絶反応の診断に用いようと試みたが失敗した。現在、最も信頼のおける診断法は小腸粘膜生検であるが、実際問題としては、拒絶反応が起こり始めてから小腸粘膜が荒廃するまでの期間が極めて短いため、頻回の検査を要し、患者に対する負担が大きいという欠点がある。本研究は、生化学的手法を用いて、小腸移植時の拒絶反応を簡単かつ早期に診断する方法について研究したものであるが、従来全く注目されていなかった N-acetyl Hexosaminidase (HEX) の診断的意義について重要な知見を得たものとして、価値ある集積であると認める。よって本研究者は医学博士の学位を得る資格があると認める。