

論文の内容の要旨

論文題目 若年ブタを用いた大動脈ホモグラフト移植後のグラフト石灰化に対する、炭酸ランタンによる治療効果の検討

氏名 李 洋伸

【背景】

ホモグラフトとは、脳死下臓器摘出後または心停止後ドナーから提供された同種心臓弁・血管組織のことを指し、代用弁・血管として組織移植に用いられる。ホモグラフトとして移植されるものとして大動脈弁、肺動脈弁、胸部下行大動脈があり、人工弁や人工血管に比べ抗感染性、抗血栓性に優れ、また良好な血行動態が得られるため、感染性心内膜炎などの重症感染性疾患や複雑な再建を要する先天性心疾患等で用いられている。

一方、ホモグラフトは凍結保存法の開発により耐久性が飛躍的に向上したが、機械弁や人工血管に比して劣ることが知られており、その主な原因は石灰化によるグラフト変性である。グラフト石灰化は、移植後遠隔期に弁狭窄・閉鎖不全、弁周囲逆流などの弁機能不全や仮性動脈瘤を引き起こす。特に若年者のレシピエントにおいては、石灰化によるグラフト機能不全が術後早期に発生し、再手術を必要とする症例が多く認められている。

ラット皮下移植モデルを用いた当科の先行研究によると、若年者における成長期特有の生理的な高リン血症の条件下に、移植に伴う炎症によって移植ホモグラフトの石灰化が促進されることが示された。したがって、若年者の高リン血症を抑制させることにより、ホモグラフト移植後の石灰化を抑制できる可能性が示唆された。さらに同皮下移植モデルを用いて炭酸ランタンによるホモグラフト移植後の石灰化抑制効果を確認し、次にウサギ血流影響下移植モデルを作成して術後急性期の炭酸ランタン投与が成長障害や骨軟化症などの合併症を最小限に抑えつつ移植ホモグラフトの石灰化を抑制することが示された。

今回我々は、ホモグラフト移植後の石灰化に対する炭酸ランタンによる治療効果を、より臨床に即したモデルを作成して検証することを目的とした。当科でこれまで行ってきた大動脈ホモグラフト移植モデルは小動物を用いた皮下、頸動脈への異所性移植モデルであったため、よりヒトに近い評価系としてブタ下行大動脈の同所性移植モデルを確立した。また、我々の先行研究ではホモグラフトを新鮮グラフトとして移植を行ってきたが、本研究では東京大学医学部附属病院組織バンクのプロトコールに準じてホモグラフトの凍結保存・解凍処理を行った。さらに、炭酸ランタンの使用量も臨床の現場で慢性腎不全患者が実際に使う量に準じて定めた。

【方法】

生後 4 週のドナーブタから下行大動脈を採取し、プログラムフリーザーを用いて -80 度まで凍結させた後、液体窒素気相内 (-150 度以下) に保存した (平均保存期間 14.2 ± 8.7 日)。凍結保存ホモグラフトを解凍後、生後 5 週のレシピエントブタの下行大動脈に移植した。レシピエントは通常飼料のみで飼育する対照群 (C 群、 $n = 5$) と、通常飼料に加え炭酸ランタン 45mg/kg/日 を術前 1 週間および術後 4 週間経口投与する炭酸ランタン群 (L 群、 $n = 5$) の 2 群に分け、移植手術 8 週後にグラフト摘出手術を行った。

摘出したホモグラフトは病理組織学的検査及び原子吸光度法による石灰化定量を用いて移植後石灰化の評価を行った。また、血液学的検査では、ヘマトクリット (Hct)、血漿カルシウム (Ca) 濃度、血漿無機リン (Pi) 濃度、血漿アルカリフォスファターゼ (ALP) 濃度、血漿乳酸脱水素酵素 (LDH) 濃度を移植手術時および摘出手術時に測定した。炭酸ランタンによる成長障害評価目的にレシピエント左大腿骨を摘出し、大腿骨長測定、Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA) 法による骨密度測定、および 3 点曲げ試験による骨力学的強度の測定を行った。統計検定は JMP version 14 (SAS Institute, Cary, NC, USA) を用い、 $p < 0.05$ を統計学的に有意とした。

【結果】

ホモグラフト移植手術時の体重 (C 群 8.9 ± 0.9 kg、L 群 8.6 ± 0.4 kg、 $p = 0.63$)、手術時間 (C 群 195 ± 12 分、L 群 199 ± 25 分、 $p = 0.72$)、下行大動脈遮断時間 (C 群 48.2 ± 6.8 分、L 群 50.4 ± 3.4 分、 $p = 0.54$)、グラフト全長 (C 群 41.0 ± 2.2 mm、L 群 42.4 ± 1.8 mm、 $p = 0.31$)、グラフト外径 (C 群 7.5 ± 1.3 mm、L 群 7.7 ± 1.4 mm、 $p = 0.82$)、グラフト内径 (C 群 5.6 ± 1.1 mm、L 群 5.8 ± 1.2 mm、 $p = 0.79$) に有意差を認めなかった。

摘出したホモグラフトの von Kossa 染色では、C 群において中膜弾性線維に沿った全周性の高度石灰化を認めたが、L 群では中膜石灰化が抑制された。HE、EVG 染色では、両群とも中膜石灰化部位において平滑筋細胞や弾性線維の壊死を認め、これらは部分的に脱落・消失し、残存した弾性線維は断裂していた。L 群ではこれらの変化は C 群に比し軽減し、摘出ホモグラフト中カルシウム含有量 (mg/g dry weight) は L 群で有意に低下した (C 群 123.2 ± 26.5 、L 群 74.9 ± 11.3 、 $p = 0.006$)。一方、両群において移植後ホモグラフトに内膜肥厚を認め、肥厚した内膜には線維芽細胞、平滑筋類似細胞および線維組織が増生していた。内膜/中膜比 (面積) は両群間に有意差を認めなかった (C 群 0.37 ± 0.37 、L 群 0.15 ± 0.10 、 $p = 0.531$)。

血液学的検査において、血漿 Pi 濃度 (mg/dL) は、移植時には C 群 8.0 ± 1.4 、L 群 7.0 ± 1.2 と L 群で低下していた ($p = 0.24$)。また摘出時の同濃度は C 群 6.3 ± 0.3 、L 群 6.2 ± 0.8 であり両群間に有意差を認めず ($p = 0.68$)、いずれも 8 週間の術後観察期間中に低下する傾向を認めた。血漿 Ca 濃度 (mg/dL) は C 群において移植時 11.0 ± 0.7 、摘出時 10.7 ± 0.2 と著変を認めなかったのに対し、L 群では移植時 9.7 ± 1.0 、摘出時 11.1 ± 0.2 と上昇傾向を認めたが ($p = 0.052$)、これらは正常範囲内の変化であった。血漿 ALP、LDH 濃度はいずれも成長

に伴い低下する所見を認めたが、C、L 両群間に有意差を認めなかった。また、Hct 濃度に関しても両群間に有意差を認めなかった。また、移植手術後観察期間中の体重増加率は C 群 1.69 ± 0.15 、L 群 1.61 ± 0.09 ($p = 0.29$) で両群間に有意差を認めなかった。また、大腿骨長、大腿骨密度、大腿骨強度においても両群間に有意差を認めなかった。

【結語】

若年ブタに大動脈ホモグラフトを移植し、術後急性期に炭酸ランタン投与することによって、成長障害、骨軟化症や溶血性貧血などの合併症を起こすことなくグラフト石灰化が抑制される可能性があることが示された。本研究は凍結保存処理されたホモグラフトの移植後石灰化に対する炭酸ランタンによる抑制効果を大動物レベルで初めて明らかにし、小児心臓外科領域における移植ホモグラフト石灰化による早期グラフト不全の回避、再手術率の減少に寄与する可能性を示した。