

学 位 申 請 論 文

犬の同種腎移植に関する基礎的研究
—特に免疫抑制剤の使用方法和腎機能、肝機能について—

[論 文 要 旨]

1992年2月

南 毅 生

(外科学第二講座)

人医界においては慢性腎不全に対する治療方法として、血液透析と腎移植が代表的である。しかし、血液透析は1回4～6時間、週に数回病院内で治療を行なわなければならない。一方、腎移植では、一旦移植腎が機能を開始すると、入院の必要はなく免疫抑制剤の投与以外、通常に近い日常生活を営むことも可能である。

小動物臨床においても高年齢化にともない慢性腎不全症例は増加する傾向にあり、適切な治療の実施が望まれている。このような慢性腎不全の治療方法として犬においても腎移植が効果的かつ経済的であると考えられるが、ヒトのような確実な腎移植方法とくに免疫抑制剤の投与方法については未だに確立されていない。ヒトの腎移植においては、ヒトリンパ球抗原系 (human leukocyte antigen, H L A) を検査し主要組織適合性抗原 (major histocompatibility complex, M H C) を出来るだけ合致させた移植腎の受給者 (recipient) と提供者 (donor) を選択している。しかし、犬においてはリンパ球抗原 (dog leukocyte antigen, D L A) を検査し、確定することは現在のところ困難であり、犬の腎移植においてはヒトよりもより高度の免疫抑制法の確立が必要である。そこで著者は、recipient と同様に donorにも移植前に免疫抑制剤を投与するという新しい方法を考案し、犬の腎移植について、腎機能はもちろん肝機能にも影響が少なく長期間生存が可能な免疫抑制剤の適切な投与方法を開発する目的で実験を行なった。

1. 自家腎移植群ならびに非免疫抑制群

腸骨窩を移植腎の移植床とし、腎動脈・外腸骨動脈吻合、腎静脈・総腸骨静脈吻合ならび尿管・膀胱吻合を行う手術方法が有効であることを確認するために5頭の雑種成犬を用いて自家腎移植を行なった。また、生存期間を比較するための対照群として雑種成犬を無作為に抽出し2頭を一对とした非免疫抑制腎移植群 (10頭) を作成した。

自家腎移植群（第1群）においては、腎機能の指標である血清クレアチニン（Cr）ならびに血液尿素窒素（BUN）値は1週間の観察期間を通じて正常範囲内で推移した。このことから、この移植手術手技が腎臓にほとんど障害を与えない有効な方法であることが確認された。

非免疫抑制群（第2群）での生存日数は、 8.7 ± 2.4 日（平均±標準偏差）であり、生存期間は雑種成犬を使用した従来報告とほぼ同様であった。この群では、移植後数日で血清CrならびにBUNの値が上昇したことから移植後短期間で拒絶反応により腎機能が喪失したものと考えられた。

2. 免疫抑制剤短期間投与群

ここでは、アザチオプリン (azathioprine, Az)、ミゾリビン (mizoribine, Mz) ならびにプレドニゾロン (prednisolone, Pr) の3種の免疫抑制剤を2剤または3剤併用することによって、免疫抑制効果を最大限に利用し、副作用を最小限とする投与方法を確立する目的で実験を行なった。免疫抑制剤は donor と recipient の両者に移植5日前から移植前日まで投与し、さらに recipient には移植後7日目まで投与し、投与期間中の腎臓ならびに肝臓の機能に対する影響について観察した。その後は拒絶反応を誘発する目的で、recipient の免疫抑制剤の投与を中止した。免疫抑制方法は、次の4群に分けて行なった。AzとPrの2剤を投与した群、すなわち移植5日前より donor と recipient の両者に Az 2.5mg/kg、3日前より Pr 1mg/kg をそれぞれ1日1回経口投与し、移植当日からは recipient に Az, Pr 共に 1.0mg/kg を7日目まで投与した Az (2.5mg/kg) / Pr 群（第3群：10頭）。移植5日前より両者に Az 5.0mg/kg を、3日前より Pr 1.0mg/kg を1日1回経口投与し、移植当日からは recipient に Az, Pr 共に 1.0mg/kg を7日目まで投与した Az (5.0mg/kg) / Pr 群（第4群：12頭）。MzとPrの2剤を投与した群、

すなわち移植5日前よりMz 5.0mg/kg、3日前よりPr 1.0mg/kgをそれぞれ1日1回経口投与し、移植当日からはMz 2.5mg/kg、Pr 1.0mg/kgを7日目まで投与したMz(5.0mg/kg)/Pr群(第5群:10頭)。移植5日前よりMz 5.0mg/kg、3日前からAz 2.0mg/kg、Pr 1.0mg/kgを1日1回毎日経口投与し、移植当日からはMz 2.5mg/kg、Az 1.0mg/kgならびにPr 1.0mg/kgを投与したAz、Mz、Prの3剤投与群(第6群:10頭)である。

第3群と第6群の生存日数はそれぞれ、 16.2 ± 4.1 日ならびに 14.0 ± 2.6 日であった。生存日数について、対照群(第2群)に対して第3群と第6群には有意な延長が観察された。しかし、この2群間には有意差は認められなかった。

腎機能では、第3群と第6群では免疫抑制剤の投与期間中に異常所見は認められなかったが、第5群では免疫抑制剤投与中も拒絶反応によると考えられる腎機能の低下が認められた。全群共に免疫抑制剤の投与中止後は数日内に拒絶反応の発現によって腎機能は消失した。

肝機能を示す、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)ならびにアルカリフォスファターゼ(ALP)値は、AzとPrの2剤を併用した群において、Az、Mz、Prの3剤を併用した群あるいはMz、Prの2剤を併用した群よりも上昇する傾向が観察され、Azを高用量使用した第4群においては重度の肝障害が観察された。AzとPrの2剤の組み合わせでは、長期間投与に伴って肝障害を起こすことが考えられた。

以上の結果より、腎移植後、長期間免疫抑制剤を投与する最も有効な方法は、Az、Mz、Prの3剤投与方法(第6群)であることが示唆された。

そこで、この免疫抑制方法が従来AzとPrの2剤を投与する方法に比較してより有効な方法であることを確認する目的で、Az、Mz、Prの3剤投与方法を雑種成犬ならびにビーグル成犬に腎移植後長期間実施し

その有用性を確認した。

3：免疫抑制剤長期間投与群

第6群でのAz.Mz.Prの3剤投与方法を実験犬の死亡時まで、雑種成犬8頭（第7群）とビーグル成犬8頭（第8群）に実施した。また、ビーグル成犬群には著者が開発した急性拒絶反応の診断基準（1：血清Cr値が1日で0.5mg/dl以上上昇したこと、あるいは2：血清Cr値が2.0mg/dl以上に上昇したこと）を適用して治療（デキサメサゾン1.0mg/kg、1日1回3日連続静脈内投与）し長期生存に努めた。生存日数は、雑種成犬群ならびにビーグル成犬群それぞれ 44.5 ± 20.5 日ならびに 142.5 ± 111.4 日であり、両群共に生存日数の有意な延長が認められた。

腎機能は、両群共に免疫抑制下で正常に保たれていた。しかし、一旦拒絶反応が発現するとCrならびにBUNは上昇した。このような場合ビーグル成犬群には、拒絶反応の基準に準じて急性拒絶反応の治療を行なった結果、処置後2～3日で治療前に回復し効果が認められた。また、ビーグル成犬群に行なった静脈性腎盂造影ならびに内因性クレアチニンクリアランス（CCr）では、急性拒絶反応時には腎機能が低下し、治療後回復することが分かった。なお、拒絶反応後の血清Cr値は数日で回復するものの、CCr値はさらに数日遅れて正常に回復した。このことは、腎機能を判断するうえで、血清Cr値よりもCCr値は、よりの確に腎機能を把握できるものと考えられた。ビーグル成犬群において長期間生存した例においてCrは正常範囲内で推移しているにもかかわらず、BUNの中程度の上昇がみられた。このことは、長期間生存例においては何らかの腎機能低下あるいはその前駆症状を示していることが示唆された。腎臓の組織学的検査では、糸球体内微小血栓を含むリンパ球と形質細胞を主体とする細胞介在性の急性拒絶反応ならび

に長期間生存例では糸球体硬化を主病変とする慢性拒絶反応によるものと思われる所見が観察された。肝機能においては、ALP, ALTならびに、 γ -グルタミールトランスフェラーゼ (GGT) を測定した結果、移植後一過性にこれらの酵素値は上昇し、その後徐々に低下する傾向にあった。長期間生存例ではこれらの値はほぼ正常値に回復した。また、ビーグル成犬群 (第8群) で行なったALPの電気泳動法では、免疫抑制剤投与初期に認められたALPの上昇はほとんどステロイド誘発性であることが確認された。肝臓の組織学的検査においては、ステロイド性肝症と考えられる種々の程度の肝細胞の空胞化が観察された。しかしながら、その他には免疫抑制剤の副作用と考えられる異常所見は観察されなかった。とくにビーグル成犬群では手術中に肝生検を実施し、剖検時の所見と比較した。その結果、剖検時には数例にステロイド性肝症が観察されたが、免疫抑制剤の投与期間あるいは免疫抑制剤の総投与量と肝臓の病変の程度には関係は認められなかった。

以上の結果より、ステロイド性肝症に関しては、今後Pr減量を含む長期間投与方法を検討する必要性が示唆されたが、著者の行なったMz, Az, Prの3剤をdonorとrecipientの両者に移植の5日前より前処置として投与する免疫抑制方法は数カ月から半年間は移植腎の機能を維持でき、犬における慢性腎不全の治療として腎移植が臨床的に応用可能であることが確認された。