

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月21日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592010

研究課題名（和文） 生体肝移植術後管理の新しい指標：呼気一酸化炭素濃度

研究課題名（英文） Bran-New Indicator of the Management for Living Donor Liver Transplantation：Exhaled Carbon Monoxide

研究代表者

松三 昌樹（MATSUMI MASAKI）

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：70219476

研究成果の概要（和文）：肝臓移植の途中では、一旦血液の流れが止まった肝臓を新しい体に移植するといろいろな変化が起こります。現時点ではこの変化を正確に捉える方法はなく、今回の研究では患者様の吐く息のなかの一酸化炭素を測定して、その濃度が肝臓移植後の変化を捉えられるかどうかを検討しました。結果として呼気中一酸化炭素濃度は移植された肝臓の Heme oxygenase-1 というタンパク質、遺伝子発現と関与しており、肝臓移植後の何らかの変化を反映していることが解りました。今後この濃度を指標として治療を調節していくことを目指します。

研究成果の概要（英文）：During living donor liver transplantation, several changes would be happen after ishemia/reperfusion. Nowadays, there is no definite indicator of these changes. Therefore, we examined whether exhaled carbon monoxide (CO) concentration would be the indicator of these changes during liver transplantation. As the results, we found that exhaled CO concentration had a correlation with intra-hepatic heme oxygenase -1 gene expression and protein expression as well. This result indicated that exhaled CO concentration would be a novel therapeutic marker of ishemia/reperfusion injury.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2009年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 2010年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 2011年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：周術期管理、肝臓移植、虚血再灌流障害、一酸化炭素、Heme oxygenase-1

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、虚血再灌流によって惹起される酸化ストレスによる肝障害は超急性グラフト機能不全のみならず、急性・慢性拒絶反応にも影響を及ぼすことが明らかになり、虚血再灌流

障害と短期・長期のグラフト機能の関係が注目されている。

(2) 我々はこれまで、虚血性急性腎不全など、虚血再灌流に伴う酸化的ストレスより標的臓器にストレス蛋白：Heme Oxygenase-1 (HO-1)

が誘導され、そのレベルは酸化ストレスの程度に比例することを報告してきた。

(3) 我々は最近、全身性炎症反応症候群症例では呼気中の一酸化炭素(CO)レベルが上昇し、その増加が内因性のヘム分解反応の亢進によることを明らかにした。

(4) 我々は肝移植術中の呼気COを測定し、再灌流後にその濃度が上昇することを報告した。

2. 研究の目的

本研究の目的は 呼気COが(1)グラフトに誘導されたHO-1の酵素反応に由来し、(2)酸化ストレスとそれによる細胞障害の指標になることを分子生物学的手法を用いて明らかにし、さらに(3) I/R後の呼気COレベルとClinical Outcomeとの関係を検討し、呼気COレベルがLDLT術後管理の指標となることを目指す。

3. 研究の方法

(1) グラフト再灌流後に上昇した呼気CO値がグラフトに誘導されたHO-1に由来することを明らかにする。

① 生体肝移植を受ける症例を対象に術中、呼気COレベルを測定し、同時に血中COヘモグロビン濃度を測定する。

② グラフトの再灌流1時間前・1時間後でグラフト組織を一部採取しHO-1 mRNAの発現をReal Time-RT-PCR法で、HO-1活性をCO産生能で調べる。

(2) 呼気COが酸化ストレスとそれによる細胞障害の指標になることを虚血再灌流後の呼気COレベルの上昇とClinical Outcomeとの関係を検討する。

① 術後の肝機能とHO-1やCOとの関係を調べる。

② 病院滞在日数、術後合併症などの臨床的予後とHO-1、COのとの関係を調べる。

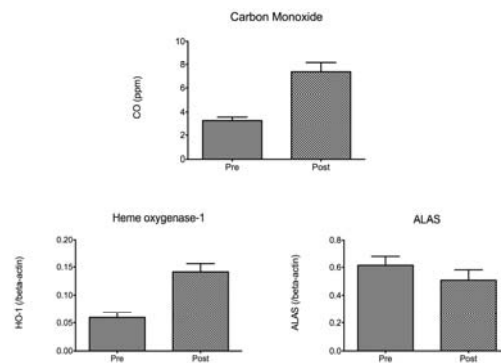
4. 研究成果

(1) 呼気COの由来

① 以前の報告と同様に呼気CO濃度は再灌流前と比較して再灌流後に著明に上昇していた(図1)。肝組織中のHO-1 mRNA発現も再灌流後に著明な上昇を示し、逆にヘム合成系の酵素であるALAS mRNA発現は低下していた(図1)。

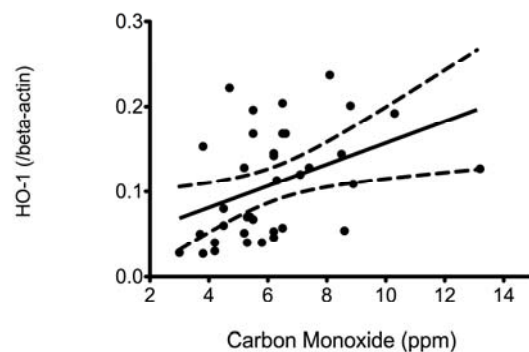
以上の結果より肝臓移植術中の虚血再灌流障害により肝臓内のヘム蛋白崩壊が起こっていることが示唆された。肝移植術中に人の肝臓組織でのヘム蛋白の崩壊をとらえたものはこれまでには無く、全くの新しい知見である。

図1 虚血再灌流後のヘム蛋白崩壊の指標の変化



② 虚血再灌流後に上昇していた呼気COと肝組織HO-1 mRNAの発現は有意に相関しており、肝移植術中呼気COの上昇は肝臓内でのヘム蛋白の崩壊に伴うHO-1 mRNAの発現増加に起因している可能性が示唆された(図2)。

図2 呼気一酸化炭素と肝組織Heme Oxygenase-1 mRNA発現の関係

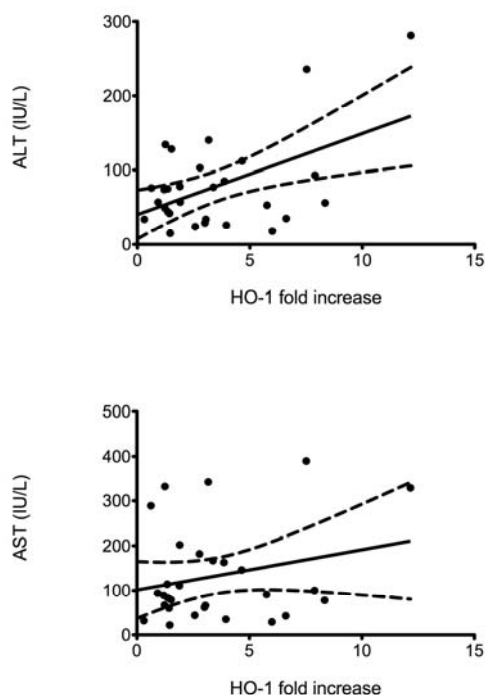


(2) 呼気CO、肝HO-1発現と予後

① 虚血再灌流後のHO-1 mRNA発現は術後の肝

逸脱酵素である alanine aminotransferase と有意に相関があり (図 3)、虚血再灌流後の肝組織でのヘム蛋白の崩壊が術後の肝機能障害と関係していることが示された。

図 3 Heme Oxygenase-1 発現と術後 transaminase の関係



②しかしながら肝 HO-1 mRNA 発現と術後合併症、病院滞在期間などとは関係を認めなかった。

以上の結果より呼気 CO は肝移植術中虚血再灌流後の肝組織内でのヘム蛋白崩壊を反映しており、その上昇は、術後肝機能障害の指標となる可能性が示唆された。今後呼気 CO を指標として、術後の肝機能障害を軽減する予防的治療の検討を行っていきたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

①Matsumi, J., Morimatsu, H., Matsusaki, T., Kaku, R., Shimizu, H., Takahashi, T.,

Yagi, T., Matsumi, M. and Morita, K. Heme breakdown and ischemia/reperfusion injury in grafted liver during living donor liver transplantation. Int J Mol Med、査読有、29; 2012: 135-40

②Morimatsu, H., Takahashi, T., Shimizu, H., Matsumi, J., Kosaka, J., and Morita, K. : Heme Proteins, Heme Oxygenase-1 and Oxidative Stress. In “Oxidative Stress - Molecular Mechanisms and Biological Effects”, ed. V. Lushchuk and HM. Semchyshyn, pp.109-124, InTech 2012 査読有

③Morimatsu, H., Takahashi, T., Matsusaki, T., Hayashi, M., Matsumi, J., Shimizu, H., Matsumi, M. and Morita, K. An increase in exhaled CO concentration in systemic inflammation/sepsis. J Breath Res 4: 2010: 047103 査読有

[学会発表] (計 2 件)

①松三絢弥、清水裕子、森松博史、高橋徹、森田潔、生体肝移植における肝 Heme Oxygenase-1 mRNA と呼気一酸化炭素濃度の関係、日本麻酔学会年次総会、2010年6月3日、福岡

②Matsumi J, Morimatsu H., Shimizu H, Takahashi T., Morita K. Relationship between exhaled carbon monoxide and oxidative stress in ischemic-reperfusion injury during living donor liver transplantation.

Annual meeting of the European Society of Anesthesiologists, 2009年6月6日、ミラノ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松三 昌樹 (MATSUMI MASAKI)
岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：70219476

(2)研究分担者

森田 潔 (MORITA KIYOSHI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：40108171

森松 博史 (MORIMATSU HIROSHI)

岡山大学・岡山大学病院・講師

研究者番号：30379797

高橋 徹 (TAKAHASHI TORU)

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号：40252952

(H21年度のみ)

(3)連携研究者