

Experimental Study on the Administrative Mode of 15-Deoxyspergualin in Canine Pancreas Allograft Transplantation

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8260

イヌ同種膵移植における 15-deoxyspergualin の 投与方法に関する実験的研究

金沢大学医学部外科学第二講座 (主任: 宮崎逸夫教授)

北 林 一 男

(平成3年2月6日受付)

イヌ同種膵移植における拒絶反応に対する 15-deoxyspergualin (DSG) の治療的投与の有効性を検討することを目的として実験を行った。雑種の成熟イヌ (8~20kg) を用いて同種部分膵移植モデルを作製した。術後第4日目より4日間 DSG を投与し、DSG の投与量により、I群: DSG 非投与群 (n=5), II群: DSG 1.0mg/kg/day 投与群 (n=5), III群: DSG 3.0mg/kg/day 投与群 (n=5), IV群: DSG 5.0mg/kg/day 投与群 (n=5) の4群に分類した。術後経日的に空腹時血糖 (fasting blood sugar, FBS), 血清インスリン, 血中 thromboxane B₂ (TXB₂), 血中 6-keto-prostaglandin F₁ alpha (6-keto-PGF₁α) を測定した。また、術後第14日目に移植膵を採取して組織学的検索を行った。FBS が2日間続けて 150mg/dl 以上となった時点でグラフト喪失として検討したところ、I群のグラフト生着期間は6.2±1.2日であったのに対し、II群では10.4±3.9日、III群では12.4±2.7日、IV群では16.8±3.2日であり、I群と比較してIII群およびIV群でグラフト生着期間の有意な延長を認めた。組織学的には DSG の投与量が多い群で移植膵組織の荒廃はより軽度であり、DSG の効果は投与した DSG の容量に依存してより効果的に発現した。また、血清インスリンは DSG の投与量が多い群でより良好な分泌が維持されており、DSG には膵毒性は存在しないことが示唆された。TXB₂ および TXB₂/6-keto-PGF₁α は、I群において術後第3日目から第5日目にかけて拒絶反応のために有意な上昇を認めた。しかし、術後第4日目より DSG を投与することにより第5日目においてII群では両者とも有意差はないもののI群より低下する傾向を示し、またIII群では TXB₂ には有意差は認めなかったが TXB₂/6-keto-PGF₁α はI群より有意に低下し、IV群では TXB₂ および TXB₂/6-keto-PGF₁α の両者ともにI群よりも有意な低下を認めた。以上の成績は、DSG の投与によって同種膵移植の拒絶反応を有効に治療しうるとともに、DSG による拒絶反応の治療における作用機序の1つとして TXB₂ 産生の抑制が関係していることを示唆している。

Key words acute rejection, 15-deoxyspergualin, immunosuppressant, pancreas transplantation, prostaglandin

若年に発症するインスリン依存性糖尿病に対して、現行のインスリン療法では腎症、眼症および神経症などの糖尿病性2次性病変の進行を完全に予防することは不可能である。血糖値の微妙な変化に感応して血中へのインスリン供給量を調整することにより、血糖値の正常化を図ることができる膵移植は、インスリン療

法ではなしえなかった糖尿病性2次性病変の予防と進行の防止を可能にする。このような治療効果を有する膵移植が治療法として定着するには、移植成績や手術の安全性の向上が必要である。さらに、拒絶反応を治療する免疫抑制療法の開発は、臓器移植をより一層発展させる最も基本的な要因である。

Abbreviations: CsA, Ciclosporin; DSG, 15-deoxyspergualin; FBS, fasting blood sugar; 6-keto-PGF₁α, 6-keto-prostaglandin F₁ alpha; PGI₂, prostaglandin I₂; PGs, prostaglandins; Tx, transplantation; TXA₂, thromboxane A₂; TXB₂, thromboxane B₂

代表的な免疫抑制剤の1つであるシクロスポリン (Ciclosporin, CsA) は移植成績を飛躍的に向上させた¹²⁾。しかし、副作用として腎や肝に対する毒性を有している³⁻⁵⁾ため、腎移植や肝移植では場合によっては拒絶反応の治療に十分は投与ができないことがある。

15-deoxyspergualin (DSG) (日本化薬, 東京) は本邦で開発された新しい免疫抑制剤であり、従来の免疫抑制剤にはみられなかった特性を有し、拒絶反応の治療薬として有効であるといわれている。本研究では DSG による拒絶反応に対する治療効果をイヌ同種腎移植にて検討した。また同時に、血中プロスタグランジン (prostaglandins, PGs) 値を測定し、拒絶反応時および DSG 投与による血中 PGs の変動を併せて検討した。

材料および方法

I. 実験モデルの作製

体重 8~20kg の雑種の成熟イヌ 20頭を用いた。チオペンタール (5mg/kg) 静注にて導入後気管内挿管し、酸素、笑気、フローセンによる全身麻酔にて維持した。術中は人工呼吸器による調節呼吸とし、乳酸リンゲルを点滴静注した。

1. ドナー手術

脾左葉を周囲より遊離した後、脾動静脈を剥離同定し根部にテーピングした。次に脾動脈の末梢側からカニューレを挿入し、脾動脈根部での血流遮断とともに氷冷ヘパリン加生理食塩水 (ヘパリン: 10U/ml) にて脾左葉を灌流冷却した。脾臓角にて脾左葉を離断し、脾動脈を起始部にて、また脾静脈は門脈流入部にて切離しグラフトを摘出した。摘出後直ちに氷冷ヘパリン加生理食塩水約 100ml を用いて、圧差 150cmH₂O にてグラフトを灌流した。

2. レシピエント手術

左腸骨窩において、グラフトの脾動静脈を総腸骨動静脈に 7-0 ポリプロピレン縫合糸を用いて端側吻合し、移植脾の尿管は腹腔内開放とした。また残存脾は Eloy ら⁹⁾の方法に準じて全摘した。

3. 術後管理

糖および電解質輸液を 1000~1500ml/日 7日間施行し、同時にアプロチニン 5万単位/日、セフェム系抗生物質 1g/日を投与した。

4. DSG の投与方法

DSG は術後第 4 日目より 4 日間投与した。DSG を生理食塩水で溶解し必要量を静注した。DSG の投与量に基づいて以下の 4 群に分類した。

I 群: DSG 非投与群 (n=5)

II 群: DSG 1.0mg/kg/day 4 日間投与群 (n=5)

III 群: DSG 3.0mg/kg/day 4 日間投与群 (n=5)

IV 群: DSG 5.0mg/kg/day 4 日間投与群 (n=5)

II. 検査項目および方法

1. 測定項目および測定方法

4 群とも経時的 (空腹時血糖のみ連日、他は術前、術後第 1, 3, 5, 7, 10, 12, 14日) に採血し空腹時血糖値 (fasting blood sugar, FBS)、血清インスリン値、血清 PGs を測定した。PGs はインドメタシン入りの専用採血管にて採血し、thromboxane A₂ (TXA₂) および prostaglandin I₂ (PGI₂) のそれぞれの安定代謝産物である thromboxane B₂ (TXB₂) および 6-keto-prostaglandin F₁ alpha (6-keto-PGF_{1α}) を測定した。

FBS はグルコース自動分析装置 (Auto & Stat, GA-1110) (京都第一科学社, 京都) を用いた酵素電極法にて、血清インスリンはエルモテック-インスリン (持田製薬, 東京) を用いて酵素免疫測定法にて測定した。PGs は血清にオクタデシルシリカ懸濁液を加え吸着を行い、洗浄、脱脂後酢酸エチルで抽出し、さらにケイ酸カラムを用いて PGs 分画を得たのち、¹²⁵I RIA kit (New England Nuclear, Boston, U.S.A.) によるデキストラン被膜活性炭法にて測定した。

2. 組織学的検索

術後 14 日目に移植脾を採取し、ヘマトキシリンエオジン染色を施行し鏡検した。

III. 統計学的検討

測定値はすべて平均値±標準偏差 (M±SD) で示した。平均値の差の検定は一元または二元配置分散分析後、Scheffe の多重比較により行い、危険率 5% 以下をもって有意の差とした。

成 績

I. グラフト生着期間

FBS が 150mg/dl 未満の範囲にある期間をグラフト生着期間とし、FBS が 2 日間続けて 150mg/dl 以上となった時点でグラフトを喪失と判断した。I 群におけるグラフト生着期間は 6.2±1.2 日であったのに対し、II 群では 10.4±3.9 日、III 群では 12.4±2.7 日、IV 群では 16.8±3.2 日と延長し、I 群と比較して II 群では有意の差は認めなかったものの、III 群および IV 群では I 群と比較して有意に生着期間が延長した (表 1)。

しかし、DSG の投与量が増加するのに伴って、食欲不振、嘔吐、下痢等の消化器症状を中心とした副作用も著明となり、IV 群では移植脾が生着しているにもか

Table 1. Effect of 15-deoxyspergualin (DSG) on canine pancreas allotransplantation^a

Group	Treatment	n	Graft survival time (days)	Mean±SD	P value ^b
I	Control	5	5, 5, 7, 7, 7	6.2±1.2	
II	DSG 1.0 mg/kg/day	5	6, 6, 12, 12, 16	10.4±3.9	NS ^c
III	DSG 3.0 mg/kg/day	5	8, 12, 12, 14, 16	12.4±2.7	P<0.05
IV	DSG 5.0 mg/kg/day	5	12 ^d , 14 ^d , 18, 20, 20	16.8±3.2	P<0.05

^a DSG was intra-venously administered on the 4th, 5th, 6th, and 7th days.

^b Mean comparison vs. group I by one way analysis of variance with Scheffe's multiple comparisons.

^c Not significant.

^d Died on day indicated with normoglycemia.

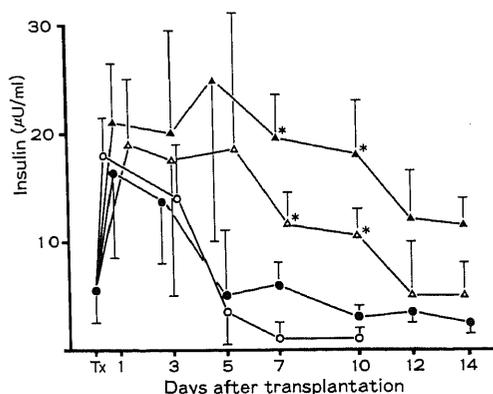


Fig. 1. Changes in serum insulin levels after transplantation (Tx). Each point represents the mean and S.D. respectively. ○—○, Control (group I, n=5); ●—●, DSG 1.0mg/kg/day (group II, n=5); △—△, DSG 3.0mg/kg/day (group III, n=5); ▲—▲, DSG 5.0mg/kg/day (group IV, n=5). *P<0.05 vs. group I.

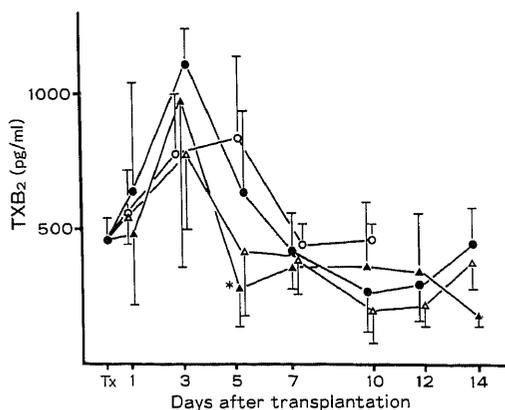


Fig. 2. Changes in plasma thromboxane B₂ levels after Tx. Abbreviations and symbols are the same as those in Fig. 1.

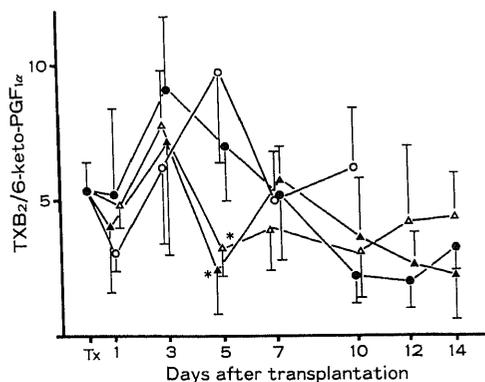


Fig. 3. Changes in plasma thromboxane B₂/plasma 6-keto-prostaglandin F₁ alpha levels after Tx. Abbreviations and symbols are the same as those in Fig. 1.

かわらず副作用のために5頭中2頭(40%)が死亡した。

II. 血清インスリン

血清インスリンは移植後第1日目において、各群とも20 μ U/ml前後と著明な上昇を認め、I群では3日目以降急激に低下し、7日目で測定感度以下となった。それに対して4日目よりDSGの投与を開始したII群、III群およびIV群ではI群に比較して血清インスリンは高値を示していた。II群では3日目よりの血清インスリン値は下降し、10日目で3.1±0.3 μ U/mlまで低下したのに対し、III群では7日目および10日目でも10~12 μ U/mlとI群およびII群に比べて有意に高値を示し、さらにIV群では同時期において18~20 μ U/mlとI群、II群およびIII群よりも有意に良好なインスリン分泌を示していた(図1)。

III. 血清 PGs

I 群における血中 TXB₂ 値は, 前値 $457 \pm 84 \text{ pg/ml}$ に比べ術後 3 日目および 5 日目でそれぞれ $766 \pm 251 \text{ pg/ml}$ および $828 \pm 340 \text{ pg/ml}$ と有意に上昇した. 4 日目より DSG の投与を開始すると TXB₂ 値

は II 群, III 群および IV 群とも 5 日目において I 群より低値となり, II 群 ($670 \pm 326 \text{ pg/ml}$) および III 群 ($433 \pm 234 \text{ pg/ml}$) では I 群に比べて有意の差を認めなかったが, IV 群では $280 \pm 136 \text{ pg/ml}$ と有意に低値を示していた (図 2).

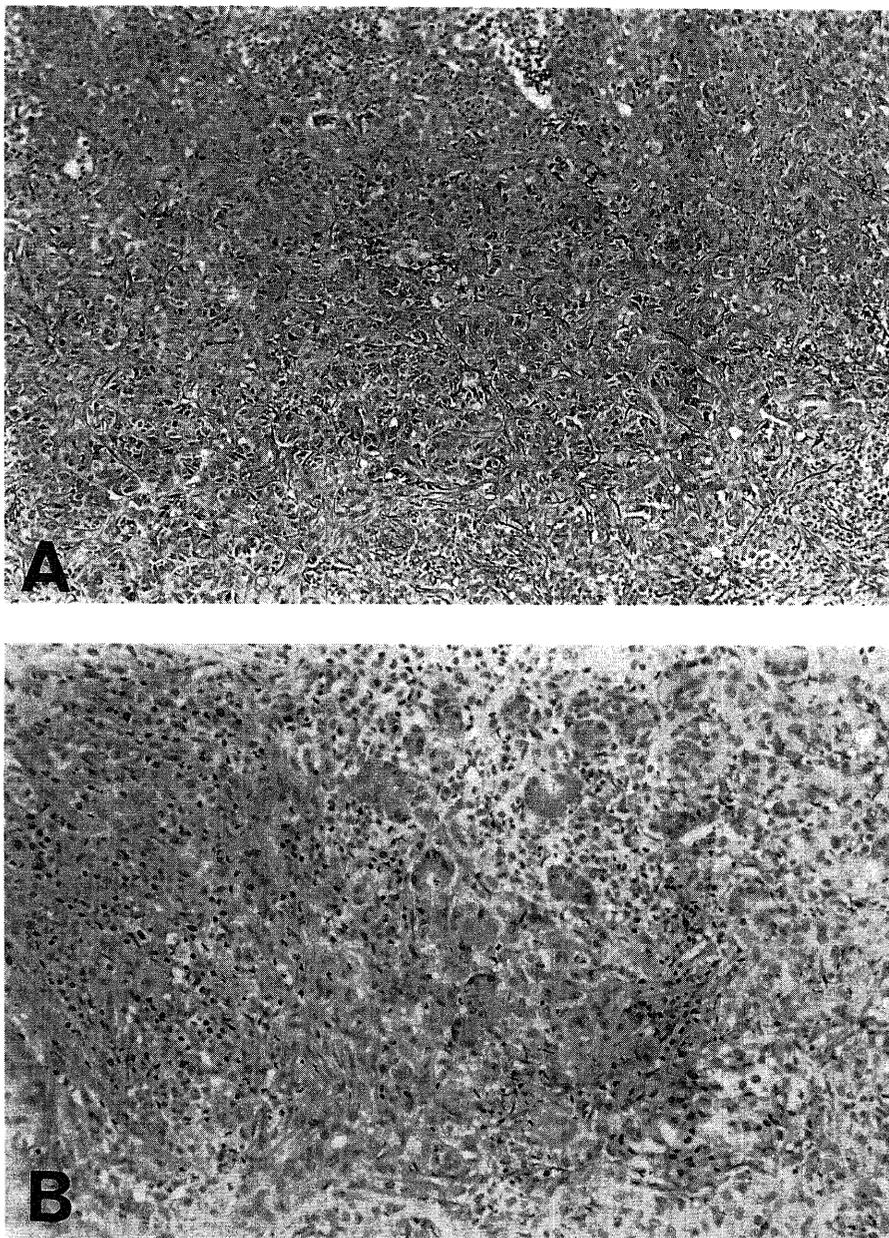


Fig. 4. Photomicrographs of transplanted pancreas on the 14th day in group I. A: Severe infiltration of inflammatory cells and destruction of normal pancreas tissue are observed. (HE stain, $\times 100$) B: Destruction of exocrine glands is apparent. (HE stain, $\times 200$)

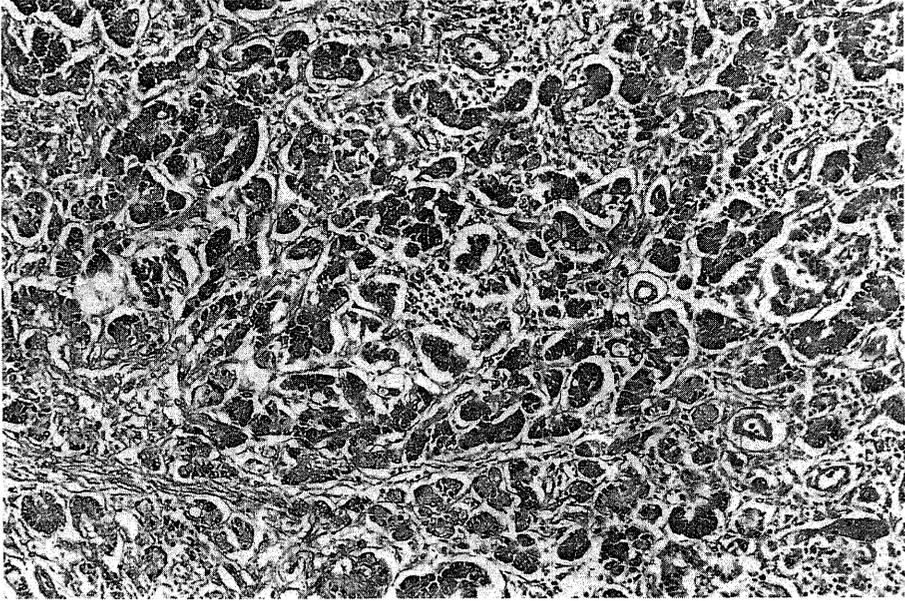


Fig. 5. Photomicrograph of transplanted pancreas on the 14th day in group II. Compared with group I, normal pancreas tissue is preserved in a certain degree. But the density of exocrine gland is low and fibrosis is progressing severely. (HE stain, $\times 100$)

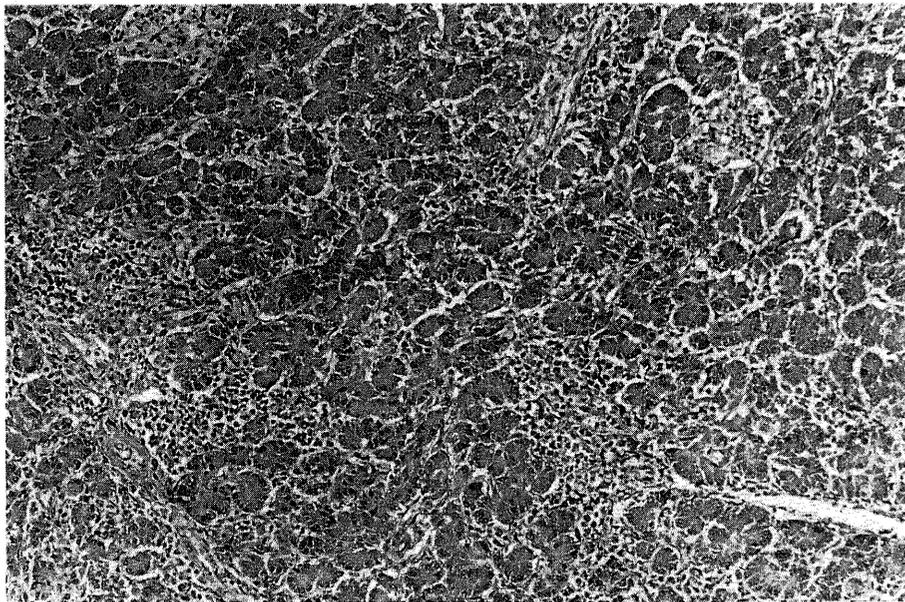


Fig. 6. Photomicrograph of transplanted pancreas on the 14th day in group III. Compared with group I or II, normal pancreas tissue is well preserved. Mild fibrosis and infiltration of inflammatory cells are observed. (HE stain, $\times 100$)

TXB₂/6-keto-PGF_{1α} 値は I 群では前値 5.5±1.0 より 1 日目 3.0±0.8 と一旦低下した後、3 日目 6.5±2.8、5 日目 9.8±4.8 と上昇し、7 日目で 5.0±1.4 とほぼ前値に復した。II 群、III 群および IV 群における TXB₂/6-keto-PGF_{1α} は、4 日目からの DSG の投与ともななって 5 日目で急激に低下し、II 群では有意の差を認めなかったが、III 群 3.1±0.3、IV 群 2.4±1.9 と I 群に比べて有意に低下していた (図 3)。

IV. 移植膵の組織学的検索

1. I 群

膵実質細胞は脱落壊死が著しく、ほとんどがリンパ球と組織球を主体とする炎症細胞浸潤と線維化に置換されていた。特に血管や膵管周囲に炎症は著明であった。また、動脈の内膜肥厚や血栓形成、膵管上皮の破壊を認め、小葉内の小血管はほとんど認めることができなかった (図 4)。

2. II 群

I 群に比べて全体的な膵実質構造は保たれているものの、著明な線維化と炎症細胞浸潤を認めた。また、I 群ではほとんど認めなかった小葉内の小血管は観察された (図 5)。

3. III 群

II 群に比べると、膵実質構造は比較的良好に保たれ

ていた。また、小葉内の線維化は軽度であるが、部分的に炎症細胞浸潤をともなう膵組織構造の破壊が認められた (図 6)。

4. IV 群

小葉内への軽度の炎症細胞浸潤は認められるが、膵組織構造の破壊は軽微であり、内外分泌腺とも 4 群中最もよく保たれていた (図 7)。

考 察

膵移植は 1966 年の Kelly ら¹⁰⁾による臨床での最初の報告以来、欧米では 1988 年末までに既に 1830 例が報告されている¹¹⁾。膵移植の適応疾患はインスリン依存性糖尿病であるが、従来のインスリン療法では腎症、眼症および神経症などの糖尿病性 2 次性病変の進展を防止することは不可能であり、糖尿病患者の多くが重篤な合併症の危険にさらされている。膵移植によってこれらの合併症を予防し、あるいは進行を阻止することによって、患者の延命と良好な生活水準を維持することが可能となる。

一方、臓器移植では免疫抑制の成否が移植成績に占める割合は大きい。免疫抑制剤であるシクロスポリンの登場によって移植成績は向上した。しかし、シクロスポリンには副作用として腎や膵に対する毒性が存在

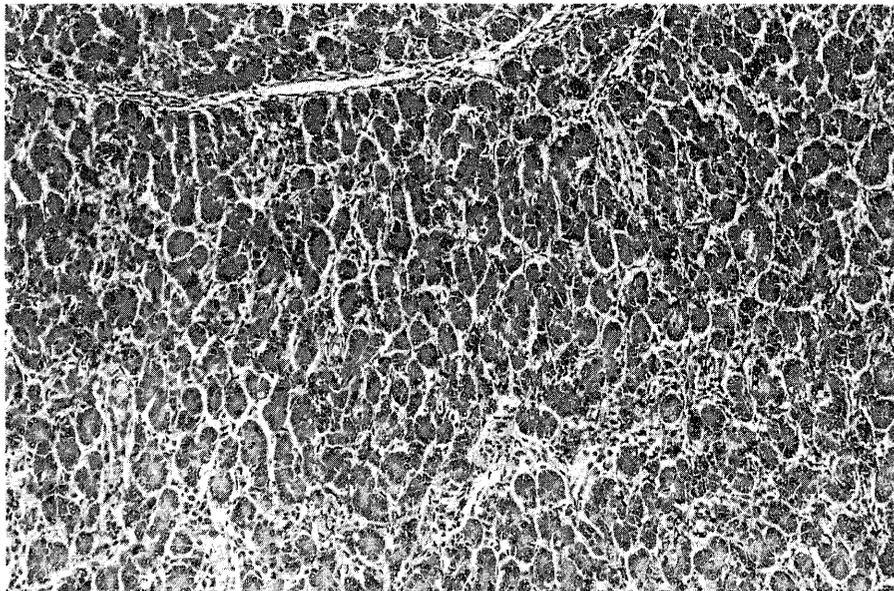


Fig. 7. Photomicrograph of transplanted pancreas on the 14th day in group IV. The structure of pancreas is most completely preserved in the four groups. Infiltration of inflammatory cells or destruction of normal pancreas tissue are little. (HE stain, ×100)

する¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾ため、腎移植や膵移植ではシクロスポリン投与を主体とした予防的免疫抑制療法を必要最小限に維持しながら、拒絶反応を早期に診断して適切な治療を行うことが必要となる。本研究で使用した DSG は 1981年、Takeuchi ら¹³⁾および Umezawa ら¹⁴⁾により *Bacillo laterosporus* の培養濾液より抽出された Spergualin の誘導体であり、強力な免疫抑制作用を有している。DSG の薬理作用として様々な特性が報告されているが、特にラット等の小動物を用いた各種臓器移植において強力な免疫抑制効果のあることが報告されている^{15)~18)}。

本研究では、イヌ同種膵移植モデルにおいて拒絶反応発生時の DSG の治療的投与の有効性について検討した。その結果、グラフト生着期間は DSG 1.0mg/kg/day ではコントロール群に比べて有意の延長を認めなかったが、DSG の投与量を 3.0mg/kg/day および 5.0mg/kg/day と増量することによって有意の延長が認められた。すなわち DSG の 3mg/kg/day 以上の 4日間投与にて拒絶反応を効果的に治療でき、またその効果は投与した DSG の容量に依存してより効果的に発現することが示唆された。組織学的にも DSG の投与量が多いほど移植膵組織に対する拒絶反応はより抑制されていた。

DSG の拒絶反応に対する治療については、Itoh ら¹⁹⁾は、イヌ同種腎移植モデルにおいて血清クレアチニン値を指標として拒絶反応を診断し、DSG を投与することによって拒絶反応を治療することが可能であったと報告している。また、プレドニンやアザチオプリンに抵抗する拒絶反応に対する DSG の治療効果を確認した報告もみられる²⁰⁾²¹⁾。さらに Amemiya ら²²⁾は、臨床での腎移植患者に発生した拒絶反応に対して DSG を投与し、79%の有効率が認められたと報告している。

DSG の免疫抑制作用機序として Dickneite ら²³⁾は、生体より分離したマクロファージに DSG を添加して培養すると活性酸素や脱水素酵素の産生が抑制されること、またマクロファージの class II 抗原発現能が DSG により抑制されることから、DSG がマクロファージの抗原提示能を抑制することにより免疫抑制作用が発現されると推論した。一方、Nemoto ら²⁴⁾は、マクロファージのより直接的な機能であるインターロイキン 1 の産生を DSG は抑制しないことより、DSG のマクロファージに対する抑制効果に否定的な態度を示した。さらに Nishimura ら²⁵⁾は、DSG はヘルパー T 細胞からのインターロイキン 2 産生を抑制しないが、インターフェロン γ の分泌を抑制する

ことによってキラー活性を強力に抑制することを報告した。しかもこの抑制効果は成熟細胞に対しては認められないことより、DSG は細胞障害性 T リンパ球の分化、増殖を抑制することにより免疫抑制作用を発現すると推論した。実際に動物を用いた移植実験では、Suzuki ら²⁶⁾はラット同種心移植実験において、移植後の DSG の投与よりも、拒絶反応の発現がみられた日から DSG を投与したほうが免疫寛容状態が成立しやすかったことより、DSG の作用機序の 1 つとして拒絶反応時に拡張したリンパ球クローンの特異的な抑制について報告した。

DSG の副作用については、小動物ではあまり問題とされていないが、大動物では下痢、嘔吐、食欲不振等の重篤な消化器症状が認められる。Amemiya ら²⁷⁾は、イヌ同種腎移植における DSG の予防的連日投与では至適投与量は 0.6~0.8mg/kg/day であり、0.9 mg/kg/day 以上の連日投与ではかえって生存日数を短縮させる結果となったことを報告し、免疫抑制効果を十分あげるだけの投与量を与えることはできなかったとしている。本研究では術後第 4 日目より 4日間という短期間における DSG の拒絶反応に対する治療的投与方法を行ったが、IV群で 40%に副作用による生着死を認めたことより、5.0mg/kg/day 4日間が投与限界であると考えられた。しかし、DSG の副作用出現には種によって差異があり、ヒト腎移植における拒絶反応に対する DSG の 80~220mg/m²/day 5日間投与では、白血球減少症や血小板減少症、口唇のしびれおよび顔面紅潮などの合併症を認めた²⁸⁾ものはいずれも軽微であり、臨床応用には問題がないと考えられる。

本研究では血清インスリンは、DSG の投与量に応じて良好な分泌が維持された。このことは DSG 投与によるグラフト生着期間の延長によると考えられるが、さらに DSG にはシクロスポリンにみられるような膵毒性は存在せず、インスリン分泌を良好に維持しながら拒絶反応を効果的に治療しうることが推測された。

膵移植成績が肝、腎あるいは心移植等に比べて不良である原因として、血栓が形成され易いこと、膵液処理の問題等があるが、最大の原因として移植膵の拒絶反応を早期に診断することが困難なことがあげられる。血糖値や血清インスリン値が異常値を示した時点では移植膵の荒廃は不可逆性となり、治療に抗することはすでに指摘されている^{29)~31)}。最近でも、膵移植における拒絶反応の早期診断パラメーターとして様々な報告がなされている^{32)~36)}が有効なものは見あたらない。

臓器移植における PGs の役割については腎移植^{37,38)}や心移植^{39,40)}のみならず脾移植においても近年研究が進められている。高橋⁴¹⁾はイヌ同種脾移植モデルを用いて血中およびグラフト組織中の TXB₂および TXB₂/6-keto-PGF_{1α}が、血糖値や血清インスリン値に異常の認められない術後3日目から5日目にかけて有意に上昇し、これら PGs 値が拒絶反応の早期指標となる可能性を示唆した。本研究でも拒絶反応の診断に TXA₂と PGI₂を用いた。TXA₂はおもに血小板で産生され強力な血小板凝集作用と血管平滑筋収縮作用を有しており、血栓形成を促進する因子である。TXA₂は非常に不安定な物質であるため、その安定代謝産物である TXB₂を定量した。一方 PGI₂は血管内皮細胞または血管平滑筋細胞で産生され、血小板凝集抑制作用と血管平滑筋弛緩作用という TXA₂とほぼ拮抗した作用を有している。また、TXA₂と同様に非常に不安定であるため、安定代謝産物である 6-keto-PGF_{1α}を測定した。さらに、本研究では術後3日目で既に拒絶反応が始まっているとする高橋の成績⁴¹⁾に基づき、DSG の投与開始時期を術後4日目とすると同時に、拒絶反応のパラメーターとしての血中 PGs に対する DSG 投与の影響を観察した。

本研究における TXB₂および TXB₂/6-keto-PGF_{1α}の推移を見ると、I 群では高橋の報告⁴¹⁾のごとく第3日から第5日にかけて拒絶反応の進行を反映した有意な上昇を認めた。それに対して第4日目より DSG 1.0mg/kg/day を投与したII群では、第5日目で TXB₂および TXB₂/6-keto-PGF_{1α}が両者とも有意差はないものの低下する傾向を示し、3.0mg/kg/day 投与のIII群では TXB₂は有意差は認めないが TXB₂/6-keto-PGF_{1α}には有意な低下を認め、5.0mg/kg/day 投与のIV群では両者ともに有意な低下を認めた。すなわち、DSG 投与による TXB₂および TXB₂/6-keto-PGF_{1α}の抑制が、グラフト生着期間の延長即ち拒絶反応の有効な抑制と密接に関係しており、さらには TXB₂単独よりも TXB₂/6-keto-PGF_{1α}がより鋭敏に拒絶反応の進行動態を反映することが明かとなった。

臓器移植後の免疫抑制剤投与に伴う血中 PGs の推移を観察した報告^{42,43)}は散見されるものの、DSG 投与による PGs の変動を検討した報告はみられない。CsA 投与下での腎移植における検討では、CsA の投与は PGs 産生に影響するとするもの⁴⁴⁻⁴⁷⁾、しないとするもの^{48,49)}などがあり、意見の一致をみていない。橋本⁵⁰⁾はイヌ同種脾移植モデルに CsA を予防的に投与し、TXB₂および TXB₂/6-keto-PGF_{1α}の有意な低下

を認めたことより、拒絶反応のメディエーターとしての PGs の役割を示唆した。本研究では、DSG の拒絶反応に対する治療薬としての作用機序の1つに、これら PGs の産生が深くかかわっていることが示唆された。さらに最近では、このような拒絶反応における PGs の役割をふまえて、アラキドン酸カスケードにおけるシクロキシゲナーゼ系やリポキシゲナーゼ系の抑制剤を使用することにより移植成績が向上したという報告⁵¹⁻⁵⁶⁾もなされており、将来 PGs 関連製剤が免疫抑制療法の一翼を担うことも十分に推察されるところである。

結 論

イヌ同種脾移植モデルにおいて、急性拒絶反応に対する DSG の治療的投与の有効性を検討するとともに、PGs の変動を観察し以下の結論を得た。

1. 拒絶反応に対して DSG 3.0mg/kg/day 以上4日間の投与により、移植脾の有意な生着延長を得ることができた。

2. DSG の効果は投与した容量に依存性に発現し、インスリン分泌および移植脾組織に関しても投与量に応じて良好な保存が認められたが、5mg/kg/day 4日間で40%に副作用による生着死を認めた。

3. DSG 非投与群では拒絶反応にとまって術後第3日目から第5日目において TXB₂および TXB₂/6-keto-PGF_{1α}は有意に上昇した。第4日目より DSG を投与すると、DSG 1.0mg/kg/day 投与群では第5日目において TXB₂および TXB₂/6-keto-PGF_{1α}は両者ともに低下したが DSG 非投与群と比較して有意差は認めなかった。DSG 3.0mg/kg/day 投与群では第5日目において TXB₂/6-keto-PGF_{1α}は DSG 非投与群と比較して有意に低下したが、TXB₂には有意な低下を認めなかった。DSG 5.0mg/kg/day 投与群では TXB₂および TXB₂/6-keto-PGF_{1α}は両者ともに第5日目において DSG 非投与群と比較して有意に低下した。

以上の結果は DSG が拒絶反応を有効に治療しうると同時に、DSG の作用機序の1つに血中 TXB₂の抑制が関係していることを示唆している。

謝 辞

稿を終るに望み、御指導、御校閲を賜りました恩師宮崎逸夫教授に深甚なる謝意を捧げます。また直接御指導、御助言をいただいた小西孝司博士、泉良平博士、清水康一博士をはじめ、教室の諸兄に深く感謝の意を表します。さらに本研究の統計学的検討ならびに病理学的検索に際し適切な御助言をいただいた本学衛生学橋本和夫教授ならびに第2病理学

細正博士に深謝いたします。

本論文の要旨は第25回日本移植学会(東京)、第1回アジア移植学会(パリ)、第16回膵移植談話会(金沢)にて発表した。

文 献

- 1) Sutherland, D. E. R. & Kendall, D.: Clinical pancreas and islet transplant registry report. *Transplant. Proc.*, **17**, 307-311 (1985).
- 2) Broniatowski, S. G. & Novick, A.: Pancreas transplantation-1985. *Transplant. Proc.*, **18**, 31-39 (1986).
- 3) Cohen, D. J., Loertscher, R., Rubin, M. F., Tilney, N. L., Carpenter, C. B. & Strom, T. B.: Cyclosporine: A new immunosuppressive agent for organ transplantation. *Ann. Intern. Med.*, **101**, 667-682 (1984).
- 4) Myers, B. D., Ross, J., Newton, L., Luetscher, J. & Perlroth, M.: Cyclosporine-associated chronic nephropathy. *N. Engl. J. Med.*, **311**, 699-705 (1984).
- 5) Suzuki, S., Oka, T., Ohkuma, S. & Kuriyama, K.: Biochemical mechanisms underlying cyclosporine-induced nephrotoxicity. *Transplantation*, **44**, 363-368 (1987).
- 6) Hahn, H. J., Laube, F., Lucke, S., Kloting, I., Kohnert, K. D. & Warzock, R.: Toxic effects of cyclosporine on the endocrine pancreas of Wistar rats. *Transplantation*, **41**, 44-47 (1986).
- 7) Sommer, B. G., Henry, M. L. & Ferguson, R. M.: Cyclosporine-associated renal arteriopathy. *Transplant. Proc.*, **18**, 151-154 (1986).
- 8) 中河宏治, 山下隆史, 永井裕司, 大平雅一, 石川哲郎, 朴利教, 矢田克嗣, 梅山馨: Cyclosporin 投与による耐糖能異常に関する実験的研究. *移植*, **25**, 98-104 (1990).
- 9) Eloy, R., Bouchet, P., Clendinnen, G., Daniel, J. & Grenier, J. F.: New technique of total pancreatectomy without duodenectomy in the dog. *Am. J. Surg.*, **140**, 409-412 (1980).
- 10) Kelly, W. D., Lillehei, R. C., Merkel, F. K., Idezuki, Y. & Goetz, F. C.: Allograft transplantation of the pancreas and duodenum along with the kidney in diabetic nephropathy. *Surgery*, **61**, 827-837 (1967).
- 11) Sutherland, D. E. R., Chow, S. & Moudry-Munns, K.: International pancreas transplant registry report-1988. *Clin. Transpl.*, **3**, 124-149 (1989).
- 12) 中井一郎, 岡隆宏, 大森吉弘, 相川一郎, 安村忠樹, 荒川幸平, 吉村了勇, 李哲柱, 大坂芳夫: Cyclosporin 投与腎移植症例の膵内分泌機能. *移植*, **23**, 427-434 (1988).
- 13) Takeuchi, T., Iinuma, H., Kunimoto, S., Masuda, T., Ishizuka, H., Takeuchi, M., Hamada, M., Naganawa, H., Kondo, S. & Umezawa, H.: A new antitumor antibiotic, spargualin: Isolation and antitumor activity. *J. Antibiot.*, **34**, 1619-1621 (1981).
- 14) Umezawa, H., Kondo, S., Iinuma, H., Kunimoto, S., Ikeda, Y., Iwasawa, H., Ikeda, D. & Takeuchi, T.: Structure of an antitumor antibiotic, spargualin. *J. Antibiot.*, **34**, 1622-1624 (1981).
- 15) 堀誠司, 落合武徳, 中島一彰, 永田松夫, 坂本薫, 榎本和夫, 後藤剛貞, 剣持敬, 中郡聡夫, 浅野武秀, 磯野可一: ラット心移植における 15-Deoxyspergualin の免疫抑制効果. *移植*, **22**, 291-294 (1987).
- 16) Walter, P., Dickneite, G., Feifel, G. & Thies, J.: Deoxyspergualin induces tolerance in allogeneic kidney transplantation. *Transplant. Proc.*, **19**, 3980-3981 (1987).
- 17) Walter, P., Bernhard, U., Seitz, G., Dickneite, G. & Sedlacek, H. H.: Xenogeneic heart transplantation with 15-deoxyspergualin. Prolongation of graft survival. *Transplant. Proc.*, **19**, 3993-3994 (1987).
- 18) Engemann, R., Gassel, H. J., Lafrenz, E., Stoffregen, C. & Thiede, A.: Transplantation tolerance after short-term administration of 15-deoxyspergualin in orthotopic rat liver transplantation. *Transplant. Proc.*, **19**, 4241-4243 (1987).
- 19) Itoh, J., Takeuchi, T., Suzuki, S. & Amemiya, H.: Reversal of acute rejection episodes by deoxyspergualin (NKT-01) in dogs receiving renal allografts. *J. Antibiot.*, **41**, 1503-1505 (1988).
- 20) Niiya, S., Suzuki, S., Hayashi, R., Watanabe, H., Itoh, J. & Amemiya, H.: A powerful rescue drug for rejection in canine kidney grafting. *Transplant. Proc.*, **21**, 1076 (1989).
- 21) Fukao, K., Otsuka, M., Iwasaki, H., Yuzawa, K. & Iwasaki, Y.: Immunosuppressive

effect of deoxyspergualin on acute renal allograft rejection in dogs. *Transplant. Proc.*, **21**, 1090-1093 (1989).

22) Amemiya, H., Suzuki, S., Ota, K., Takahashi, K., Sonoda, T., Ishibashi, M., Omoto, R., Koyama, I., Dohi, K., Fukuda, Y. & Fukao, K.: A novel rescue drug, 15-deoxyspergualin. *Transplantation*, **49**, 337-343 (1990).

23) Dickneite, G., Schorlemmer, H. U., Sedlacek, H. H., Falk, W., Ulrichs, K. & Müller-Ruchholtz, W.: Suppression of macrophage function and prolongation of graft survival by the new guanidinic-like structure, 15-deoxyspergualin. *Transplant. Proc.*, **19**, 1301-1304 (1987).

24) Nemoto, K., Abe, F., Nakamura, T., Ishizuka, M., Takeuchi, T. & Umezawa, H.: Blastogenic responses and the release of interleukin 1 and 2 by spleen cells obtained from rat skin allograft recipients administered with 15-deoxyspergualin. *J. Antibiot.*, **40**, 1062-1064 (1987).

25) Nishimura, K. & Tokunaga, T.: Effects of 15-deoxyspergualin on the induction of cytotoxic T lymphocytes and bone marrow suppression. *Transplant. Proc.*, **21**, 1104-1107 (1989).

26) Suzuki, S., Kanashiro, M., Watanabe, H. & Amemiya, H.: Therapeutic effect of 15-deoxyspergualin on acute graft rejection detected by ³¹P nuclear magnetic resonance spectrography, and its effect on rat heart transplantation. *Transplantation*, **46**, 669-672 (1988).

27) Amemiya, H., Suzuki, S., Manabe, H., Fukao, K., Iwasaki, Y., Dohi, K., Isono, K., Orita, K. & Yamanaka, N.: 15-Deoxyspergualin as an immunosuppressive agent in dogs. *Transplant. Proc.*, **20**, 229-232 (1988).

28) 高橋公太, 木田和夫, 田辺一成, 瀧之上昌平, 中沢速和, 寺岡 慧, 東間 紘, 阿岸鉄三: 腎移植の拒絶反応に対する新しい免疫抑制剤 deoxyspergualin の使用経験. 今日の移植, **3**, 64-71 (1990).

29) Sutherland D. E. R.: Selected issues of importance in clinical pancreas transplantation. *Transplant. Proc.*, **16**, 661-670 (1984).

30) Tydén, G., Lundegren, G., Gunnarsson, R., Ostman, J. & Groth, C. G.: Laboratory findings during rejection of segmental pancreatic allograft. *Transplant. Proc.*, **16**, 715-717 (1984).

31) McMaster, P., Michael, J., Adu, D., Gibby, O. M. & Vlassis, T.: Experience in human segmental pancreas transplantation. *W. J. Surg.*, **8**, 253-256 (1984).

32) Secchi, A., Pontiroli, A. E., Traeger, J., Dubernard, J. M., Touraine, J. L., Ruitton, A., Blanc, N. & Pozza, G.: A method for early detection of graft failure in pancreas transplantation. *Transplantation*, **35**, 344-348 (1983).

33) Thomas, F., Bogey, W., Castellani, W., Khazanie, P., Lust, R., Viola, C., Stelzer, D., Sash, C. & Thomas, J.: Diagnosis of pancreatic allograft rejection by measurement of urinary radioimmunoreactive insulin. *Transplantation*, **45**, 370-376 (1988).

34) Ekberg, H., Allen, R. D. M., Greenberg, M. L., Hawthorne, W. J. (Earl, M., Grierson, J. M., Williamson, P., Deane, S. A., Stewart, G. J.) & Little, J. M.: Early diagnosis of rejection of canine pancreas allograft by fine-needle aspiration biopsy. *Transplantation*, **46**, 485-489 (1988).

35) Kuroda, Y., Suzuki, Y., Kawamura, T., Fujiwara, H., Ashida, T., Matsuo, M., Yamamoto, K., Tanaka, T. & Saitoh, Y.: Pancreatic secretory trypsin inhibitor as a marker for early detection of rejection in canine pancreas allotransplantation. *Transplantation*, **46**, 493-495 (1988).

36) Källén, R., Borgström, A. & Fält, K.: Pancreatic enzymes in serum and urine as indicators of pancreatic allograft rejection in the pig. *Transplantation*, **48**, 376-381 (1989).

37) Tannebaum, J. S., Anderson, C. B., Sicard, G. A., McKeel, D. W. & Etheredge, E. E.: Prostaglandin synthesis associated with renal allograft rejection in the dog. *Transplantation*, **37**, 438-443 (1984).

38) Coffman, T. M., Yarger, W. E. & Klotman, P. E.: Functional role of thromboxane production by acutely rejecting renal allografts in rats. *J. Clin. Invest.*, **75**, 1242-1248 (1985).

39) Gibbons, C. P., Wiley, K. N., Lindsey, N. J., Fox, M., Beck, S., Slater, D. N., Preston, F. E., Brown, C. B. & Raftery, A. T.: Cortical and vascular prostaglandin synthesis during renal allograft rejection in the rat. *Transplantation*, **43**,

472-478 (1987).

40) 香川 潔, 桜井義也, 大本一夫, 笠原憲二, 増田 與, 香川輝正: ラット同種移植心拒絶反応における Thromboxane の役割に関する検討. 移植, 22, 302-309 (1987).

41) 高橋信樹: 同種臓移植における急性拒絶反応とプロスタグランジン産生量の推移に関する実験的研究. 移植, 22, 310-319 (1987).

42) Zhang, H., Kaseki, H., Davis, W. B., Whisler, R. L. & Cornwell, D. G.: Mechanisms for the stimulation of prostanoid synthesis by cyclosporine and bacterial lipopolysaccharide. Transplantation, 47, 864-871 (1989).

43) Fan, T. D., Cox, J. H. & Chisholm, P. M.: Mechanism of action of cyclosporine in preventing cardiac allograft rejection. Transplantation, 43, 343-345 (1986).

44) Lindsey, J. A., Morisaki, N., Stitts, J. M., Zager, R. A. & Cornwell, D. G.: Fatty acid metabolism and cell proliferation, IV. effect of prostanoid biosynthesis from endogenous fatty acid release with cyclosporin-A. Lipids, 18, 566-569 (1983).

45) Neild, G. H., Rocchi, G., Imberti, L., Fumagalli, F., Brown, Z., Remuzzi, G. & Williams, D. G.: Effect of cyclosporin A on prostacyclin synthesis by vascular tissue. Thromb. Res., 32, 373-379 (1983).

46) Fan, T. d. & Lewis, G. P.: Mechanism of cyclosporin A induced inhibition of prostacyclin synthesis by macrophages. Prostaglandins, 30, 735-747 (1985).

47) Rigotti, P., Flechner, S. M., Vanburen, C. T., Payne, W. T. & Kahan, B. D.: Increased incidence of renal allograft thrombosis under cyclosporine immunosuppression. Int. Surg., 71, 38-41 (1986).

48) Baxter, C. R., Duggin, G. G., Horvath, J. S., Hall, B. M. & Tiller, D. J.: Cyclosporin A

and renal prostaglandin biosynthesis. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 45, 69-80 (1984).

49) Perico, N., Benigni, A., Basco, E., Rossini, M., Orisio, S., Ghilardi, F., Piccinelli, A. & Remuzzi, G.: Acute cyclosporine A nephrotoxicity in rats: which role for renin-angiotensin system and glomerular prostaglandins. Clin. Nephrol., 25, 83-88 (1986).

50) 橋本哲夫: 同種臓移植における急性拒絶反応とプロスタグランジン産生量の推移に関する実験的研究. 移植, 24, 46-56 (1989).

51) Belldegrün, A., Cohen, I. R., Frenkel, A., Servadio, C. & Zor, U.: Hydrocortisone and inhibitors of prostaglandin synthesis. Transplantation, 31, 407-408 (1981).

52) Kagawa, K., Kasahara, K., Sakurai, Y., Omoto, K., Masuda, A., Nonoyama, A. & Kagawa, T.: Prolongation of rat cardiac allograft survival with arachidonic acid metabolism inhibitor. Transplant. Proc., 19, 1308-1311 (1987).

53) Jordan, M. L., Carlson, A., Hoffman, R. A. & Simmons, R. L.: Lipoxigenase pathway inhibition impairs the allograft response. Surgery, 102, 248-255 (1987).

54) Mangino, M. J., Jendrisak, M. D., Brunt, E. & Anderson, C. B.: Eicosanoid synthesis inhibition and renal allograft function during acute rejection. Transplantation, 45, 902-907 (1988).

55) Perez, R. V., Babcock, G. F. & Alexander, J. W.: Immunoregulation of transfusion-induced immunosuppression with inhibitors of the arachidonic acid metabolism. Transplantation, 48, 85-87 (1989).

56) 桜井義也, 香川 潔, 大谷 肇: トロンボキサン合成酵素阻害剤併用少量サイクロスポリン A の同種心移植後免疫抑制効果およびアザチオプリン, ミゾリピンのトロンボキサン合成酵素阻害作用の実験的検討. 移植, 24, 591-601 (1989).

Experimental Study on the Administrative Mode of 15-Deoxyspergualin in Canine Pancreas Allotransplantation Kazuo Kitabayashi, Department of Surgery (II), School of Medicine, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., **100**, 256—267 (1991)

Key words acute rejection, 15-deoxyspergualin, immunosuppressant, pancreas transplantation, prostaglandins

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of 15-deoxyspergualin (DSG) administration, in preventing acute rejection occurring in canine pancreas allotransplantation. After undergoing partial pancreas allotransplantation, 20 adult mongrel dogs from 8 to 20 kg were divided into four groups and treated with the vehicle, not containing DSG (group I, n=5), containing DSG at 1.0 mg/kg/day (group II, n=5), 3.0 mg/kg/day (group III, n=5), 5.0 mg/kg/day (group IV, n=5) on the 4th, 5th, 6th, and 7th post-operative days respectively. After the operation, blood samples were collected daily to evaluate fasting blood sugar (FBS), serum insulin, plasma thromboxane B₂ (TXB₂) and plasma 6-keto-prostaglandin F₁ alpha (6-keto-PGF₁ α). In addition, microscopic examination of the transplanted pancreas was performed on each group on the 14th day. Graft survival time (FBS<150 mg/dl) was prolonged from 6.2±1.2 days in group I the control to 10.4±3.9 days (N.S. vs. group I) in group II, significantly prolonged to 12.4±2.7 days (P<0.05 vs. group I) in group III and to 16.8±3.2 days (P<0.05 vs. group I) in group IV. Microscopic examination of graft also revealed that the larger dose of DSG the better effect it had in preserving the structure of the transplanted pancreas. It was revealed that the effect of DSG was dose-dependent. However, two dogs in group IV, which were kept normoglycemic, died due to gastrointestinal problems, one of the most serious side effects of DSG. The fact that serum insulin was secreted according to the DSG dose suggested that DSG had no toxic effect on pancreas. In group I, a significant increase of TXB₂ and TXB₂/6-keto-PGF₁ α was observed from the 3rd to 5th day, which was thought to reflect acute rejection. After the administration of DSG from the 4th day, a prompt decrease of both TXB₂ and TXB₂/6-keto-PGF₁ α was observed on the 5th day in groups II, III and IV. Decreases of TXB₂ in group IV and those of TXB₂/6-keto-PGF₁ α in groups III and IV were significant compared with group I. From the above, it is surmised that DSG is an effective therapeutical immunosuppressant and that its suppressive effect against plasma prostaglandins is concerned with its immunosuppressive activity.