

論文内容の要旨

氏 名 うえはら けいし
 上原 圭司

学位の種類 博士(医学)

学位記番号 医第1050号

学位授与の日付 平成23年3月22日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 洗浄回収処理血への各種血液保存液添加の効果

論文審査委員 (主査) 教授 中尾 慎一

(副主査) 教授 松尾 理

(副主査) 教授 松村 到

【目的】
 術中回収式自己血輸血法において、回収処理後の血液の保存法の確立は急務である。本研究では、回収された血液に各種の血液保存液を添加し、その経時変化について検討した。

【方法】
 回収された血液に各種血液保存液を規定量投与し、直後、6時間後、24時間後におけるそれぞれの血清電解質濃度測定、ATP測定、2,3-DPG測定、形態学的観察を行い、その経時変化を測定した。

【結果】
 回収処理後の血液に血液保存液を添加したどの群においても血清カリウムイオン濃度の有意な上昇を抑制した。また、どの血液添加群においても2,3-DPG値の経時的な低下を抑制した。MAP液添加群およびAIS液添加群においてATPを高値に維持できた。特にAIS液添加群では全血群に匹敵するATP値の維持が認められた。形態学的変化では回収処理群と比較すると各種血液保存液添加群において有意にEchinocyteやSperocyteの出現を抑えることができた。

【考察】
 各種の血液保存液には解糖系の基質としてグルコースが添加されており、これにより、解糖系が進展することでエネルギー産生が行われ、回収処理血の経時的な劣化を抑制することができたと考えられる。また、赤血球はペントースリン酸回路などヌクレオチド系が発達しているため、これらの基質となるアデニンやイノシン、リン酸などが含まれたMAP液や、AIS液において、赤血球の劣化を有意に抑制することが判明した。これらの添加液において回収処理操作や長時間保存という赤血球においては過酷な環境においても、エネルギー供給が行われることで赤血球形態の維持が可能である。

しかし、AIS液やMAP液は作成が煩雑である上に、AIS液はその投与量に応じて副作用が出現する可能性が高く、より簡便なグルコースの添加が最も合理的であると考えられた。

【結論】
 回収処理血において経時的な赤血球の劣化が確認できた。AIS液の添加が最も回収処理血の機能維持に有用であったが、その副作用と作成の煩雑さを考慮すると、グルコースの添加が最も簡便であると考えられる。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	平成22年12月 日 公表予定	出版物名 近畿大学医学雑誌 第36巻 第1号
	公 表 内 容	平成23年3月 日 発行予定
	全 文	

論文審査結果の要旨

【目的】

術中回収式自己血輸血法において、赤血球機能を保つため、回収処理後の血液の保存法の確立は重要である。本研究では、回収された血液に各種の血液保存液を添加し、その経時変化について検討した。

【方法】

回収された血液（回収処理群）に血液保存液である ACDA (Acid-Citrate-Dextrose) 液、CPD (Citrate-Phosphate-Dextrose) 液、MAP (Mannitol-Adenine-Phosphate) 液、AIS (Adenine-Inosine-Sucrose) 液、ブドウ糖液を規定量投与し、直後、6 時間後、24 時間後における検体中の電解質濃度測定、ATP 測定、2,3-DPG 測定、形態学的観察を行い、その経時変化を調べた。

【結果】

回収処理後の血液に血液保存液を添加した全ての群において、回収処理群に比べてカリウムイオン濃度の有意な上昇と 2,3-DPG 値の低下は抑制された。しかし、MAP 液添加群および AIS 液添加群においてのみ、ATP を高値に維持することができた。すべての血液保存液添加群において、形態変化は有意に軽度であった。

【考察】

各種の血液保存液には解糖系の基質としてグルコースが添加されており、解糖系が進展することでエネルギー産生が行われ、回収処理血の経時的な劣化を抑制することができたと考えられる。また、赤血球はヌクレオシド経路が発達しているため、これらの基質となるアデニン、イノシンやリン酸などが含まれた MAP 液や AIS 液において、赤血球の劣化が有意に抑制されることが判明した。しかし、AIS 液や MAP 液は作成が煩雑である上に、AIS 液はその投与量に応じてイノシンによる副作用が出現する可能性が高く、より簡便なグルコースの添加が最も有用であると考えられた。

【結論】

回収処理血において経時的な赤血球の劣化が確認できた。AIS 液の添加が最も回収処理血の機能維持に有用であったが、その副作用と作成の煩雑さを考慮すると、グルコースの添加が最も簡便であると考えられる。

【最終試験の結果】

この研究内容を公聴会にて口頭発表を行い、以下の質疑応答が行われた。

1. 健康人から採血したものを使用しているが、実際は術野から回収した血液であり、臓器に接触したための contact inhibition 活性化など、条件が異なっていないか？
どちらの条件においても洗浄処理の過程で破砕赤血球や凝固因子などは 99% 除去されるため、作成された回収処理血間に大差はないと考えられますが、術野や術野からの吸引により細胞の形態や情報変化などが引き起こされている可能性は完全には否定できません。今後、実際の術野からの血液を調べることも必要かと思えます。
2. 術野から吸引後にヘパリン化して、一回の洗浄でヘパリンは完全に除去できるのか？
洗浄回収処理の過程でヘパリンは 99% 除去されます。
3. 回収処理操作においてどの程度の遠心処理が加えられるのか？
洗浄処理中は遠心分離速度は 1500~5600 rpm で 25~1000 ml/min の処理量です。
4. カリウムイオンの上昇は溶血によるものか？
カリウムイオンの上昇は溶血によるものではなく、ATP の低下に伴う Na-K ATPase の活性の低下によるものと思われれます。実際に回収処理血および各種血液保存液添加群で溶血の程度を測定しましたが、溶血は確認されませんでした。
5. チューブによる吸引で赤血球の破砕は来さないか？
術野からの吸引は 100~150 mmHg の低圧で設定されており、吸引操作による赤血球の損傷は軽微であると報告されています。また、破砕した赤血球は洗浄処理の過程においてほぼ完全に除去されます。
6. 各群の赤血球の酸素解離曲線は測定したか？
今回の実験では測定しておりませんが、各群における 2,3-DPG 値はその変化の指標となりうらうと思えます。
7. 回収処理血に血液保存液を添加する場合と、全血に血液保存液を添加する場合とは条件が異なるのではないかと？
確かに回収処理血は生理食塩水の赤血球浮遊液であり、全血とは条件が異なります。回収処理血はヘマトクリット値も約 60~70% と高値であるため、添加する血液保存液の量は基本的には日赤の投与量を基準にしていますが、ヘマトクリット値に換算して投与量を調整しました。
8. 実際に spherocyte は投与された場合にどうなるのか？
脾臓でトラップされるため、人体に直接害を及ぼすことは少ないと考えられます。しかし、赤血球機能は果たしません。

9. ブドウ糖液の添加は問題ないのか？

通常の血液製剤の糖液との混和は日赤より慣例的に禁止されていますが、本研究では 5%ブドウ糖液を用いて最終濃度 0.1% (100 mg/dl) になるように調整しました。さらに 10 mg/dl から 500 mg/dl の範囲でブドウ糖液添加による溶血を測定しましたが、有意な溶血は認めませんでした。また、各ブドウ糖液濃度における浸透圧をそれぞれ測定しましたが、有意な差は認められませんでした。他のパラメーターは測定しておりません。

10. イノシンの毒性があるならば濃度を下げてみてはどうか？

イノシン濃度を下げることでヌクレオシド経路の活性化が低下する可能性があるため、ATP 産生が低下すると考えられます。実際、イノシン濃度を 50%にすると ATP、2,3-DPG 共に半減したため、濃度を下げるのは難しいと考えます。

その結果、麻酔科学一般および血液学について、学位授与に相当する十分な学識を有していることが認められ最終試験に合格した。

氏 名

あお まつ けい いち
青 松 圭 一

学位の種類

博 士 (医学)

学位記番号

医 第 1 0 5 1 号

学位授与の日付

平 成 2 3 年 3 月 2 2 日

学位授与の要件

学位規則第 4 条第 1 項該当

学位論文題目

TGF- β induces sustained up-regulation of SNAIL and SNAI2 through Smad and non-Smad pathways in a human corneal epithelial cell line (TGF- β は角膜上皮細胞に対して Smad および non-Smad 経路を介して SNAIL と SNAI2 の持続的発現上昇を誘導する)

論文審査委員 (主 査)

教 授 下 村 嘉 一

(副主査)

教 授 福 田 寛 二

(副主査)

教 授 宮 澤 正 顯