

氏 名	はた 秦 浩一郎
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	医博第 2710 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Induction of heme oxygenase-1 and dilatation of hepatic sinusoids by an administration of pyrrolidine dithiocarbamate in rat livers (PDTC 投与による肝への HO-1 誘導とその類洞拡張効果に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 鍋島陽一 教授 千葉勉 教授 田中紘一

### 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】 heme oxygenase-1 (HO-1) 誘導が、その抗酸化作用や微小循環の改善効果により肝の虚血耐性獲得において重要な役割を果たすことが知られている。pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) は in vitro で HO-1 を誘導することが証明されており、肝虚血耐性を強化する薬剤として期待できる。本研究では、より低侵襲かつ簡便な虚血耐性獲得に向けて、PDTC の in vivo での HO-1 誘導効果につき検討し、さらにその肝微小循環に与える影響を探究する事により保護機構解明への一助とする事を目的とした。

【方法】 雄性ラットに PDTC (0~200mg/kg) を単回筋肉内投与し、各主要臓器 (心, 肺, 肝, 腎, 脾) に対する HO-1 誘導効果を、また肝での発現の経時的変化、容量依存効果を Western-blot 法, RT-PCR 法にて検討した。誘導部位について免疫組織染色により評価し、さらに生体顕微鏡を用いて肝類洞の拡張効果と、HO 阻害剤 zinc-protoporphyrin-IX (ZnPP) 投与による拡張阻害効果についても検討した。

【結果】 PDTC 投与により HO-1 は肝に比較的特異的に誘導され、その誘導効果は溶媒投与の control 肝に比して蛋白量で約 11 倍に達した ( $p < 0.0005$ )。経時的変化は mRNA レベルで投与後 3 時間、蛋白レベルで 24-48 時間後にその発現は最大となり、発現量は PDTC に対して用量依存的であった。また、低用量 ( $< 100\text{mg/kg}$ ) での発現部位は Kupffer 細胞のみであったが、高用量 ( $\geq 100\text{mg/kg}$ ) では中心静脈周囲を中心とした肝細胞にも誘導された。さらに生体顕微鏡により、肝細胞への HO-1 誘導部位に一致した mid-zonal から pericentral area にかけての著明な類洞拡張効果を認め、その効果は類洞径にして約 2 倍に達した ( $21.94 \pm 1.29$  vs.  $11.14 \pm 0.28 \mu\text{m}$ ,  $< 0.0001$ )。この拡張効果は、ZnPP 投与により完全に阻害され ( $10.95 \pm 0.37 \mu\text{m}$ ,  $< 0.0001$ )、誘導された HO-1 に起因していることが示された。

【結論】 PDTC は in vivo においてもその単回筋肉投与のみで肝に HO-1 を用量依存的に誘導し、結果著明な類洞拡張効果をもたらすことが示された。肝虚血耐性獲得の是非についてはさらなる検討を要するが、有用な前処置法と成りうる可能性が強く示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、より低侵襲かつ簡便な肝虚血耐性獲得に向けて、新たな薬理学的前処置法の開発をその目的とした。

本申請者は、pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) をラットに単回筋肉内投与するだけで、用量依存的に、かつ比較的肝に特異的に heme oxygenase-1 (HO-1) を誘導しうることを、蛋白レベルでも mRNA レベルでも証明した。また免疫組織染色を用いて、Kupffer 細胞のみならず、中心静脈周囲を中心とした肝細胞にも HO-1 が誘導されることを示した。さらには、生体顕微鏡を用いた評価により、肝細胞への HO-1 誘導部位に一致した血管径にして約 2 倍に達する著明な類洞拡張効果をもたらされること、及びこの類洞拡張が誘導した HO-1 によるものであることを HO-1 阻害実験により証明した。このことは、heme oxygenase-carbon monoxide pathway が、肝微小循環における肝内での血流調節機構として非常に大き

な potentiality を持つことを解明するものである。

以上の研究は、PDTC前処置法が肝虚血再灌流障害の軽減に向けた新たな前処置法として有用である可能性を示唆するばかりでなく、肝へのHO-1誘導がその微小循環に与える影響を *in vivo* の生理的条件下で示した点で有意義であり、新たな治療戦略の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成16年2月5日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。