

京都大学	博士 (医学)	氏名	山中 健也
論文題目	Olprinone Attenuates Excessive Shear Stress Through Up-Regulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase in a Rat Excessive Hepatectomy Model (オルプリノンはendothelial Nitric Oxide Synthaseを誘導し、ラット大量肝切除モデルにおける過度のシェアストレスを軽減する)		
(論文内容の要旨)			
<p>肝癌に対する肝切除術は根治的治療として有効であるが、高度進行癌に対して拡大肝切除を行った場合の残肝容積不足による不可逆的な術後肝不全を経験する。残肝への過度のシェアストレスが術後肝不全の原因の一つと考えられ、これまで残肝への過度のシェアストレスを軽減するために門脈静脈シャントや脾摘術など手術的手法が試されてきたが、薬物的手法はほとんど臨床応用されていない。一方、オルプリノンは、選択的 phosphodiesterase III 阻害剤の一つで心不全の治療薬として臨床応用されており、また微小循環の改善や炎症を軽減すると報告されている。そこで、オルプリノンが大量肝切除による残肝への過度のシェアストレスに対して肝臓を保護する効果があるかどうかについて、ラット大量肝切除モデルを用いて検証した。</p> <p>本研究では、9～10 週齢の Lewis ラットを用い、左右のグリソン鞘をほぼ同時に結紮した後にラット尾状葉のみを残すラット 90%肝切除モデルを用いた。オルプリノンまたは生食を充填した浸透圧ポンプを肝切除術 48 時間前に腹腔内投与し、前者をオルプリノン群、後者をコントロール群とした。シェアストレスを評価するために、術中門脈圧を測定した。また、類洞内皮細胞障害を評価するために、rat endothelial cell antigen (RECA)-1 抗体を用いた免疫染色と電子顕微鏡を用いた。さらに、terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate (TUNEL) 染色陽性細胞にて肝細胞死を評価した。肝血流流入路結紮後、コントロール群では門脈圧は 5 mm Hg から最大 14.7 mm Hg に上昇したが、オルプリノン群ではその上昇が 13 mm Hg 以下に抑制され、コントロール群に比べ門脈圧上昇はグリソン鞘結紮後 30 分間抑制された。残肝の類洞内皮細胞障害は、オルプリノン投与群で術 1 時間後の RECA-1 免疫染色による内皮細胞染色範囲が温存され、電子顕微鏡像でも類洞内皮細胞の構造は維持されていた。さらに、オルプリノン群では術後 1 時間、3 時間後の TUNEL 陽性細胞数もコントロール群に比較し抑制された。生存実験において、オルプリノン群の 10 日生存割合は 33.3%、コントロール群は 13.3%であり、有意にオルプリノン群で良好であった。</p> <p>オルプリノン群では、肝臓組織中の endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) タンパクの発現が増加し、免疫組織染色で、eNOS タンパクは内皮細胞のみではなく、肝細胞においても発現を認めた。肝臓組織での eNOS タンパクの効果を評価するために、術前後の eNOS 酵素活性を測定したところ、オルプリノン群で術後の eNOS 酵素活性が上昇していた。また、NOS 阻害薬である Nω-nitro-L-arginine methyl ester を用いたところ、オルプリノンによる門脈圧上昇の抑制効果およびオルプリノンによる生存割合の改善は消失した。</p> <p>これらの結果から、オルプリノンは肝臓において eNOS タンパクを強発現し、残肝への過度のシェアストレスに対する肝臓保護作用を有すると考えられた。オルプリノンの持つ肝保護作用の臨床応用が期待された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

肝癌に対する肝切除術は根治的治療として有効である。しかし高度進行癌に対して拡大肝切除術を行った場合、残肝への過度のシェアストレスによる術後肝不全を発症する。これに対し、門脈静脈シャントや脾摘術など手術的手法は試されてきたが、薬物的手法はほとんど臨床応用されていない。一方、オルプリノン (OLP) は選択的 phosphodiesterase III 阻害剤の一つで心不全の治療薬として臨床応用されており、また微小循環の改善や炎症を軽減すると報告されている。OLP が大量肝切除による残肝への過度のシェアストレスに対して肝臓保護する効果を有するかについて、ラット大量肝切除モデルを用いて検証した。OLP または生食を充填した浸透圧ポンプを肝切除術 48 時間前に腹腔内投与した。OLP 群では門脈圧上昇がグリソン鞘結紮後 30 分間抑制された。術後早期の類洞内皮細胞障害、TUNEL 陽性細胞数も有意に抑制され、生存期間は延長した。また、OLP 群では、肝臓組織中の endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) タンパクの発現が増加し、術後 eNOS 酵素活性が上昇していた。NOS 阻害薬である N ω -nitro-L-arginine methyl ester を用いたところ、OLP による門脈圧上昇の抑制効果および OLP による生存の改善は消失した。OLP による肝保護機構に eNOS が関与することが示唆された。

以上の研究は肝臓外科術後肝不全の解明に貢献し、術後肝不全の薬物的治療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られる。

なお、本学位授与申請者は、平成 24 年 2 月 1 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降