

|          |   |
|----------|---|
| 氏 名      | 久 米 真 <sup>まこと</sup>  |
| 学位(専攻分野) | 博 士 (医 学)   |
| 学位記番号    | 医 博 第 2072 号  |
| 学位授与の日付  | 平 成 11 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   | Ischemic preconditioning of the liver in rats: Implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury<br>(ラット肝臓の虚血前処置：肝虚血再灌流障害に対する耐性増強における熱ショックタンパク質誘導の効果に関する研究)<br>(主査) |
| 論文調査委員   | 教 授 田 中 紘 一 教 授 今 村 正 之 教 授 山 岡 義 生   |

### 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】 血行再建を伴う肝臓の拡大手術において術後肝機能障害を回避し手術の安全性を確保するためには、一時的な血流遮断に伴う肝臓の虚血再灌流障害を克服する積極的な肝保護法の開発が必要である。我々は全身熱ショック前処置によって正常肝のみならず、脂肪肝、硬変肝においても温阻血再灌流障害を軽減し肝機能を保護し得ることを見いだした。この虚血耐性の獲得機序は未だ充分に解明されていないが、生体が本来内在している自己防御能のひとつとして前処置後肝臓に誘導される熱ショック蛋白質HSP72の関与が示唆されている。そこで、熱ショックとは全く異なるストレス（肝臓の短時間虚血前処置）が肝組織のHSP72発現誘導、肝臓の温阻血耐性誘導に与える効果を明らかにすることによって、肝臓選択的に誘導されたHSP72と虚血耐性誘導効果との関連を検討した。

【方法】 Wistar系雄性ラット（200-300g）を前処置をしない対照群（C）、短時間虚血前処置群（I）、熱ショック前処置群（H）の3群に分けた。短時間虚血前処置は、ネンブタール40mg/kg体重の全身麻酔下に開腹し血管鉗子にて肝十二指腸間膜を15分間クランプして肝流入血行を遮断（Pringle氏法）した後クランプを解除し、閉腹後48時間回復させる方法にて施行した。熱ショック前処置では、全身を恒温槽に浸し直腸温を15分間42℃に保った後、室温にて48時間回復させた。組織内HSP72は抗HSP72モノクローナル抗体を用いたWestern blotting法にて検討した。虚血再灌流障害に対する効果は、全群のラットを開腹しPringle氏法による30分間の全肝虚血を負荷し、虚血前、後、再灌流10分後、40分後の肝組織中ATP濃度、肝Energy Charge（EC）、血中肝逸脱酵素濃度（ALT、LDH）を測定すると共に、再灌流7日後の各群の生存率を比較検討した。

【結果】 肝、腎、心臓における誘導型HSP72の発現はストレスの無い状態では認められず、熱ショック前処置48時間後にはいずれの臓器にも強く認められた。肝臓の短時間虚血前処置施行48時間後には、肝組織にのみ熱ショックと同等のHSP72の発現が認められた。一方、30分の全肝虚血は対照群にとって致命的（生存率：8/16）であったが、前処置施行群の生存率は有意に高い値を示した（I群（16/16）、H群（15/16）、 $p < 0.001$ ）。ATP、ECは虚血前及び虚血終了時には3群間に有意差を認めなかったが、虚血によって低下したATP、EC値は再灌流後10分、40分経過後もC群では低値に留まるのに対し、I群、H群では速やかに回復傾向を示し、C群に比べて有意に高値を示した（ $p < 0.001$ 、10分後のECのみ $p < 0.01$ ）。ALT、LDH値は虚血終了時までにはいずれの群も正常値を示したが、再灌流後にC群では急激に高値を示したのに対しI群、H群では再灌流10分、40分経過後においても有意に低く保たれた（ $p < 0.001$ ）。

【考察】 短時間虚血前処置によって肝臓選択的に熱ショックと同程度のHSP72の誘導が認められた。この短時間虚血前処置によって熱ショック前処置と同等の虚血耐性が肝臓にもたらされることが明らかとなった。獲得された虚血耐性におけるHSP72の作用機序の詳細は不明であるが、肝組織に誘導されたHSP72蛋白がその効果発現に強い因果関係を持つこ

とが示唆された。これらの結果は、熱ショックに限らずHSP72誘導効果をもつ前処置法が手術侵襲に伴う肝臓の虚血再灌流障害を回避するために有効な治療戦略となることを示唆する。

#### 論文審査の結果の要旨

肝臓の短時間虚血前処置が肝組織の誘導型ストレス蛋白質（HSP72）発現に与える効果、及び術前に与えた虚血前処置がその48時間後の肝温阻血再灌流に伴う肝機能障害、生存率に与える影響を検討した。肝組織におけるHSP72は、肝臓の短時間虚血処置によって全身熱ショックと同程度に誘導されたが、その発現はより肝臓選択的であった。このHSP72誘導は肝流入血行の完全遮断に伴う鬱滞門脈血の肝への再灌流によって増強された。Pringle氏法による30分間の全肝虚血を負荷すると、無処置対照群ラットの50%（8/16）が死に至るが、前処置施行群の生存率は90%以上に改善した。再灌流後の肝ATP、Energy Charge Potentialは虚血によって一旦低下するが、前処置施行群では再灌流後40分以内に回復し肝機能が維持された。再灌流後の血中ALT、LDH値は対照群では急激に高値を示したのに対し前処置群では有意に低く保たれ、肝障害が軽減された。

以上の研究は、肝虚血前処置による肝臓の温阻血耐性誘導効果の解明に貢献し、肝臓外科学の発展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10年12月28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。