

|          |                                                                                                                                                                                                        |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名      | なか やま ひろ ゆき<br>中 山 裕 行                                                                                                                                                                                 |
| 学位(専攻分野) | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                              |
| 学位記番号    | 論 医 博 第 1734 号                                                                                                                                                                                         |
| 学位授与の日付  | 平 成 13 年 1 月 23 日                                                                                                                                                                                      |
| 学位授与の要件  | 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当                                                                                                                                                                                |
| 学位論文題目   | Pharmacological stimulation of adenosine A2 receptor supplants ischemic preconditioning in providing ischemic tolerance in the rat liver.<br>(虚血前処置によって肝臓にもたらされる虚血耐性にアデノシン A2 レセプターを介した薬物刺激の関与を示唆した研究) |
| 論文調査委員   | (主 査)<br>教 授 田 中 紘 一      教 授 乾      顕 一      教 授 山 岡 義 生                                                                                                                                              |

### 論 文 内 容 の 要 旨

(背景) 虚血直前に施行した短時間虚血前処置が、消化器外科以外の分野において臓器虚血耐性をもたらす処置手段として注目されつつある。この要因にアデノシンをはじめ様々な物質が検討されているが詳細は未だ不明である。これまで肝切除時に出血をコントロールする方法として、肝門部の血流を間歇的に短時間遮断するプリングル氏法が用いられてきた。この方法を応用した短時間虚血前処置により肝臓に虚血耐性を付与できれば、大血管置換を伴う肝切除や肝移植など強度の温阻血にさらされる症例に対し、肝障害を軽減し手術成績を向上させ得ると考える。今回、短時間虚血前処置を施行した直後の肝臓に虚血耐性が誘導されるか否かを検討し、さらにこのプロセスにおける組織内アデノシンの動向に注目して、肝虚血再灌流障害に対する保護効果について検討を加えた。

(方法) 雄性 Lewis ラットを用い以下の実験を行った。肝虚血障害として、45分間の致死的全肝温阻血を負荷した(コントロール群: C 群)。これに対し虚血前処置群(IPC 群)には、前処置としてプリングル氏法を用い10分間の肝阻血と10分間の再灌流を付加した。温阻血前、再灌流直前並びに再灌流後経時的に血漿中肝逸脱酵素 (AST, ALT, LDH), 肝組織内高エネルギーリン酸化合物 (ATP, EC) を両群で比較した。再灌流 6 時間及び24時間時の肝組織を H. E. 染色にて比較検討した。さらに温阻血負荷後 7 日目の生存率を両群にて比較した。特に各群における肝組織内アデノシン濃度変化を詳細に調べ、さらにアデノシン (Ado) A1-, A2, レセプターのアゴニストやアンタゴニストを使用し、前処置効果に対するアデノシンの関与を検討した。

(結果) 肝逸脱酵素を比較したところ有意に IPC 群で肝障害が抑制された。肝組織内高エネルギーリン酸化合物量を測定したところ IPC 群で有意に回復が速かった (C 群:  $1.11 \pm 0.27$ , IPC 群:  $2.04 \pm 0.33 \mu\text{mol/gm wet tissue}$ ,  $p < 0.01$ )。肝組織 H. E. 染色は C 群で鬱血、肝細胞の spotty necrosis を認めたしかし、IPC 群ではこれらの変化は抑制されていた。術後 7 日目の生存率も IPC 群は C 群に比して有意に良好であった (C 群: 8/15, IPC 群: 13/15,  $p < 0.05$ )。肝組織内アデノシン濃度は、虚血前処置により著しく上昇し ( $1555 \pm 299 \text{ pmol/gm wet tissue}$ )、肝虚血障害中もその濃度が高値に維持された。前処置により惹起された虚血耐性効果は、虚血直前のアデノシン A2 レセプターアゴニスト投与によっても発現した。一方、アデノシン A2 レセプターアンタゴニストの前処置直前投与により虚血耐性効果は抑制された。

|                | AST(IU/L)              | ALT(IU/L)              | LDH(IU/L)                |
|----------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| C              | $2935 \pm 1177$        | $3240 \pm 715$         | $20252 \pm 6461$         |
| IPC            | $1331 \pm 197^*$       | $1660 \pm 318^*$       | $8589 \pm 850^*$         |
| Ado-Alago      | $2290 \pm 504^\dagger$ | $2497 \pm 47^\dagger$  | $22928 \pm 2718^\dagger$ |
| Ado-A2 ago     | $701 \pm 276^*$        | $627 \pm 241^*$        | $9960 \pm 3514^{**}$     |
| Ado-Alant+IPC  | $870 \pm 199^*$        | $862 \pm 277^*$        | $15144 \pm 9787$         |
| Ado-A2 ant+IPC | $2394 \pm 438^\dagger$ | $2384 \pm 515^\dagger$ | $26267 \pm 4894^\dagger$ |

(\* :  $p < 0.005$  v. s. C, \*\* :  $p < 0.05$  v. s. C, † :  $p < 0.01$  v. s. IPC, †† :  $p < 0.05$  v. s. IPC,  $n = 6$  each)

(考察) プリングル氏法を利用した短時間虚血前処置により早期の虚血耐性を付与することで、肝臓外科における温阻血再灌流障害という困難な問題を解決する方策が見い出された。この虚血前処置がもたらす肝保護効果は、前処置により肝組織内のアデノシン濃度が上昇したことにより得られたものと考えられた。しかもアデノシン A2 レセプターにおける薬理的な反応が一連の効果発現過程に関与していることも確かめられた。

## 論文審査の結果の要旨

術後の肝機能不全の誘発因子となる温阻血再灌流障害に対し、肝臓に耐性を獲得する手段を得ることは有効な治療戦略となり得る。

本研究は短時間の虚血ストレスを用いた前処置 (Ischemic Preconditioning) を行うことが直後の肝臓に温阻血再灌流障害に対する耐性を誘導できることを動物実験により示したものである。

Preconditioning により肝に虚血耐性が獲得されることは再灌流時の肝逸脱酵素の上昇が抑えられること、肝組織の ATP 量の回復がすみやかになること、動物の生存率が改善されることにより示された。Preconditioning を行うと肝組織中アデノシン濃度が著しく上昇することが判明し、これが虚血耐性の獲得に関与していることが推測された。そこで、アデノシンの A1 および A2 レセプターに対する agonist と antagonist を用いて検討したところ、アデノシン A2 レセプターを刺激すると Preconditioning と同程度の阻血耐性が誘導され、一方、アデノシン A2 レセプターをブロックすると Preconditioning による耐性獲得効果が消失した。以上のことから虚血前処置における温阻血再灌流障害に対する耐性獲得にはアデノシンとアデノシン A2 レセプターが関与していることが証明された。

以上の研究は肝臓における短時間虚血前処置後の温阻血再灌流障害に対する耐性獲得とその機序の解明に貢献し、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12年12月22日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための諮問を受け、合格と認められたものである。