

氏 名 石 川 順 英
 学位(専攻分野) 博 士 (医 学)
 学位記番号 医 博 第 2216 号
 学位授与の日付 平 成 12 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 Heat Shock Preconditioning on Mitochondria during Warm Ischemia in Rat Livers.
 (ラットの肝臓の温阻血中のミトコンドリアに対する熱ショックプレコンディショニング効果に関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 田 中 紘 一 教 授 山 邊 博 彦 教 授 山 岡 義 生

論 文 内 容 の 要 旨

(背景)

肝臓外科に於いては、術中に出血をコントロールするため肝十二指腸靱帯を一時的に遮断するプリングル氏法を使用することがあるが、この手技によって虚血再灌流障害による肝不全が発症する懸念がある。そこで、熱ショック前処置により虚血再灌流障害から肝臓を保護する研究が進められてきた。虚血再灌流による肝不全の原因としてミトコンドリア機能障害を指摘する報告も多く、熱ショック前処置においてもミトコンドリアの機能維持は重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、熱ショック前処置を受けた肝臓で再灌流時の ATP 量が素早く回復することがわかっているが、in vivo においてミトコンドリアの機能を詳細に報告した例はない。そこで、熱ショック前処置が虚血再灌流時の肝ミトコンドリア機能に与える影響を明らかにし、ミトコンドリアの機能維持が虚血耐性獲得に関与しているかどうか検討するため今回の研究を行った。

(方法)

Wistar 系雄性ラットを熱ショック群 (HS) とコントロール群 (C) の 2 群に分けた。HS 群では、肝阻血再灌流の 48 時間前に熱ショック前処置を行った。熱ショック前処置は麻酔下にラットを恒温槽に浸漬し、体温を 42 度に 15 分間維持して行った。C 群では同様の処置を 42 度の代わりに 37 度で行った。すべてのラットにプリングル氏法による 30 分間の肝温阻血と 60 分間の再灌流を行い、温阻血前 (n = 5) と温阻血後再灌流前 (n = 10)、再灌流後 (n = 10) に肝組織を採取した。採取した組織から組織内 ATP 濃度を測定するとともに、単離したミトコンドリア分画を用いてミトコンドリア機能を評価した。ミトコンドリア機能としては呼吸調節率 (RCR) と、膜電位 (MPM) を測定した。Unpaired t test と Mann-Whitney U test を用い、危険率 5% 未満をもって統計学的に有意と判定した。

(結果)

C 群ではミトコンドリアの膜電位 (normal: 247.11 ± 9.75 mV) が、30 分間の肝温阻血後にはすでに有意に低下し (230 ± 12.49 mV)、これは再灌流後も回復しなかった (231.87 ± 9.87 mV)。一方、HS 群では肝温阻血後 (244.88 ± 6.80 mV) も再灌流後 (242.37 ± 7.75 mV) もほぼ正常に保たれていた。ミトコンドリアの RCR (normal: 7.04 ± 0.82) も C 群では 30 分間の肝温阻血後に有意に低下し (5.06 ± 0.72)、再灌流後も低値のままであったが、HS 群では肝阻血前と同程度の値に保たれていた。肝温阻血前の ATP 濃度は C 群と HS 群で有意差はなく、温阻血後は両群ともに低値となった。しかし再灌流 60 分後では ATP 濃度は HS 群の方が有意に高値に回復した。 (0.97 ± 0.10 vs. 1.95 ± 0.20 μ mol/g 湿組織重量: C vs. HS, $P < 0.05$)

(結語)

熱ショック前処置は肝阻血再灌流によるミトコンドリア機能障害を防ぐことが示された。このミトコンドリアに対する機能保護効果は再灌流前の阻血の段階ですでに認められた。熱ショック蛋白や Mn-SOD による再灌流障害時の障害に対する保

護効果はこれまでも報告されているが、本研究では熱ショック前処置の効果が再灌流前の肝阻血の段階ですでに発揮されていることが明らかになった。肝臓の熱ショック前処置は虚血の間のミトコンドリアの膜の正常性を維持し、これにより再灌流時のエネルギー産生能の維持に貢献していると思われる。このミトコンドリアの機能保護は熱ショック前処置が肝臓に虚血再灌流障害への耐性を与える上での重要なメカニズムの一つと考えられる。

論文審査の結果の要旨

熱ショック前処置により肝臓虚血再灌流障害にミトコンドリアの機能が維持されているかどうか検討した。

Wistar系ラットを用い、熱ショック群とコントロール群の2群に分けた。熱ショック前処置は、体温42度に15分間維持して行い、コントロール群では37度で行った。前処置から48時間後に30分間の致死的な肝温阻血を負荷し、60分間の再灌流を行い、ミトコンドリア機能と組織内ATP濃度を測定した。

ミトコンドリアの呼吸調整率、膜電位は、コントロール群では阻血後から低下し、再灌流後も低下したままであるのに対し、熱ショック群では阻血後から正常値と同じ程度に保たれていた。ミトコンドリアの保護効果は再灌流前の阻血の段階ですでにみとめられた。ATP濃度の再灌流後の回復は、熱ショック群の方が良好であり、これはミトコンドリア機能が保たれていることを示唆する。

本研究はin vivoにおいて熱ショック前処置が肝阻血再灌流によるミトコンドリア機能障害を防ぐことを初めて明らかにし、またその保護作用は従来報告されてきたような酸化ストレスに対する保護効果だけでなく、虚血障害そのものにも保護作用を持つことを明らかにした。

以上の研究は、熱ショック前処置により得られる肝臓の虚血耐性のメカニズムの解明に貢献し、温阻血を回避できないような肝切除術の侵襲を軽減する方法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12年2月9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。