

氏 名	いけ だ ふさ お 池 田 房 夫
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2717 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	Reduction of hepatic ischemia/reperfusion-induced injury by a specific ROCK/Rho kinase inhibitor Y-27632 (選択的 ROCK/Rho キナーゼ阻害薬 Y-27632 による肝虚血再灌流障害の軽減効果)
論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 成 宮 周 教 授 田 中 紘 一

論 文 内 容 の 要 旨

【背景】肝臓外科領域では、Pringle 氏法を代表とする一時的な肝血流遮断がしばしば行われるが、この際に生じる虚血再灌流障害は、術後合併症の大きな原因となっている。これまでも様々な研究が行われてはいるが、未だ有効に制御する方法は確立されていない。種々の臓器障害時には、しばしば微小循環障害を伴うことが知られ、障害抑制の治療戦略を考える上で、この面から検討を行うことは重要な意義を持っている。

低分子量 GTP 蛋白の Rho は、ROCK を始めとする下流のエフェクターを活性化することで様々なシグナル伝達を制御する分子スイッチとして働く。Rho により活性化された ROCK は、ミオシン軽鎖をリン酸化することで細胞骨格依存性の細胞機能を発揮する。具体的には、リン酸化ミオシン軽鎖はアクチン・ミオシンの収縮性を増し、平滑筋収縮をきたす。加えて、インテグリンの凝集やアクチンの束状化を形成し、細胞接着と細胞移動に影響を与える。近年、合成化合物である Y-27632 が ROCK の選択的な阻害作用を持つことが報告された。ROCK 阻害の薬理効果を鑑み、Y-27632 が虚血後の血管収縮と血管内皮への白血球の膠着を抑制するとの仮説をたて、Y-27632 が虚血後肝微小循環障害を軽減し、虚血再灌流障害に保護効果を持つかどうかを検討した。

【方法】雄性 S.D. ラットの肝左葉及び中葉への流入血管を 90 分間遮断、2 時間の再灌流を行った。虚血前に、1 mg/kgBW の Y-27632 (治療群) もしくは同量の生理食塩水 (虚血群) を 15 分間で持続投与した。コントロール群には虚血操作以外全ての手術操作を加えた (各 n=6)。肝微小循環は、生体顕微鏡を用いて検討を行った。この時、観察領域を完全に無作為に選択することは不可能であるが、コンピューター制御の電動手術台を導入し、虚血前に観察領域を無作為に選択し、その座標をコンピューターに登録、同一領域を繰り返し観察することで、客観的な評価ができるようにした。肝微小循環は①類洞灌流率 ②類洞径 ③類洞内・白血球膠着数 ④中心静脈径 ⑤中心静脈内・白血球膠着数 の 5 項目について、虚血前、虚血後 1, 2 時間の 3 点で評価を行った。肝逸脱酵素値、病理組織学的検討は、顕微鏡観察に伴う処置を排除し、同様の肝虚血・再灌流を行い測定した。

【結果】虚血群の類洞灌流率はコントロール群と比較して、再灌流 1 時間後で有意に減少し、2 時間後に若干回復した。一方、治療群ではこの灌流障害が有意に軽減した。類洞径及び中心静脈径に関しては、虚血群では再灌流後に減少し、2 時間の再灌流によっても基礎値に回復することはなかった。これに対し、Y-27632 の前投与により、虚血後収縮は有意に抑制された。更に虚血群では類洞内及び中心静脈内・膠着白血球数は再灌流 2 時間後に有意に増加したが、治療群では虚血群と比し、有意に抑制された。肝逸脱酵素値は、虚血群と比べ治療群で、再灌流 2 時間後も 6 時間後でも有意に抑制された。病理学的には、虚血群で著明な肝細胞の浮腫と腺房構造の破壊をきたしたが、Y-27632 の投与によって、ほぼ正常の肝構築が維持された。

【結語】Y-27632 は、微小循環障害を軽減させることで肝虚血再灌流障害を抑制した。この肝微小循環障害に対する Y-27632 の保護効果は、血管拡張作用による灌流改善と、白血球・血管内皮相互作用の抑制効果によるものと考えられる。

ROCK 阻害は肝虚血再灌流障害に対し、新しい治療戦略になり得ると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、選択的 ROCK 阻害薬 Y-27632 が肝虚血再灌流障害モデルに対し保護効果を持つことを、特に微小循環の側面から証明したものである。

本申請者は、Y-27632 がアクチン・ミオシン依存性の平滑筋収縮を抑制すること、更にインテグリンを介する細胞接着を抑制することに着目した。70%・90分・部分肝虚血再灌流障害モデルに対し、Y-27632 の前投与による障害抑制効果を検討した。肝微小循環は、生体蛍光顕微鏡を用いて、in vivo のまま、客観的に、微細な経時的变化を検討した。再灌流後 2 時間の検討において、再灌流早期の微小循環障害として、類洞の灌流低下と肝微小脈管の狭小化を示した。更に、再灌流後期相の障害として、白血球・血管内皮相互作用の亢進を示した。一方、Y-27632 を前治療として用いることで、これらの微小循環障害を包括的に抑制できることを証明した。その結果、肝逸脱酵素値の軽減や、病理組織学的な障害抑制といった。肝細胞障害を軽減することを示した。

以上の研究は、ROCK・Rho シグナル伝達系が、肝虚血再灌流障害に対し、新たな治療ターゲットとなりうる可能性を示したものであり、消化器外科学の発展に寄与するものと思われる。

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3日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格したものである。