

氏 名	うえ だ みつ ひろ 植 田 充 宏
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1756 号
学位授与の日付	平 成 13 年 7 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	Effects of dibutylrlyl cyclic adenosine monophosphate on the ultrastructure of endothelial cells in rat lungs cold preserved for 15 hours (15時間冷所保存ラット肺の血管内皮細胞超微形態に対する dibutylrlyl cyclic adenosine monophosphate の効果)
論文調査委員	(主 査) 教 授 井 出 千 束 教 授 米 田 正 始 教 授 和 田 洋 巳

論 文 内 容 の 要 旨

〔背景〕ドナー肺の保存方法は移植後の肺機能に大きな影響を及ぼすが、再灌流前の保存肺の質的評価方法は未だ確立されていない。保存肺の質的評価は、再灌流後臓器不全の予防と長時間保存を可能にする保存液の開発に役立つと考えられる。一方, dibutylrlyl cyclic adenosine monophosphate (db-cAMP) は、細胞内 cAMP 濃度を増加させることにより血管内皮細胞保護効果を示すことが知られている。今回の研究では、肺保存における db-cAMP の効果が透過型電子顕微鏡を用いて超微形態学的に分析され、この超微形態分析が保存肺の質的評価として有用か検討された。〔方法〕Lewis ラットは、肺動脈フラッシュに用いられた灌流液と虚血時間により 3 に分類された。fresh 群 (n=6) では ET-Kyoto 液でフラッシュされ、直ちに再灌流, control 群 (n=6) と db-cAMP 群 (n=5) では ET-Kyoto 液及び 2 mM db-cAMP を含む ET-Kyoto 液でそれぞれフラッシュされ、4°C で 15 時間保存後に 37°C で再灌流された。再灌流前に組織が右肺から採取され、透過型電子顕微鏡を用いて小血管内皮細胞の protrusion, basal lamina からの detachment, microvillus formation と、capillary の血管内皮細胞及び肺胞の I 型肺胞上皮細胞の basal lamina からの detachment, microvillus formation が評価された。保存肺再灌流後の平均肺動脈圧、シャント率及び湿乾重量比が測定され、保存肺の超微形態学的変化との相関が求められた。〔結果〕小血管内皮細胞の protrusion の頻度は、fresh 群で $17.8 \pm 2.8\%$, db-cAMP 群で $8.0 \pm 3.3\%$ であり、control 群の $34.5 \pm 5.0\%$ と比較して有意に低値であった (fresh vs control, $p < 0.05$; db-cAMP vs control, $p < 0.01$)。severe detachment の頻度は、fresh 群 ($1.1 \pm 1.1\%$) と db-cAMP 群 (0%) が control 群 ($54.5 \pm 5.3\%$) より有意に低値であった ($p < 0.01$)。severe microvillus formation の頻度は、fresh 群 (0%) と db-cAMP 群 ($28.0 \pm 3.9\%$) が control 群 ($25.6 \pm 6.3\%$) より有意に低値であり ($p < 0.01$)、fresh 群と db-cAMP 群との間にも有意差を認めた ($p < 0.01$)。capillary の血管内皮細胞の detachment 及び microvillus formation の頻度は、fresh 群が db-cAMP 群と control 群より有意に低値 ($p < 0.01$) であった。I 型肺胞上皮細胞の detachment の頻度は、fresh 群が db-cAMP 群と control 群より有意に低値 ($p < 0.05$) であった。I 型肺胞上皮細胞の micro villus formation の頻度は、全群で低値であり 3 群間に有意差を認めなかった。肺シャント率は、fresh 群 ($4.5 \pm 0.5\%$) と db-cAMP 群 ($3.2 \pm 0.5\%$) が control 群 ($56.2 \pm 14.7\%$) より有意に低値であった ($p < 0.01$)。平均肺動脈圧に 3 群間で有意差を認めなかった。湿乾重量比は、fresh 群 ($5.5 \pm 0.1\%$) と db-cAMP 群 ($5.4 \pm 0.3\%$) が control 群 ($14.2 \pm 1.4\%$) より有意に低値であった ($p < 0.01$)。小血管内皮細胞の protrusion の頻度とシャント率、小血管内皮細胞の severe detachment の頻度とシャント率及び湿乾重量比、小血管内皮細胞の severe microvillus formation と湿乾重量比との間に各々正の相関を認めた (相関係数は各々 0.792, 0.769, 0.857, 0.708; すべて $p < 0.01$)。〔結論〕db-cAMP は、冷所保存と虚血再灌流障害に伴う肺障害を軽減した。保存肺小血管内皮細胞の超微形態変化と再灌流後肺機能の間に正の相関を認めた。db-cAMP の保護効果の一部は、肺保存中の小血管内皮細胞の形態変化亢進を抑制することによる可能性が示唆された。超微形態学的検討は、保存肺の質的評価に貢献すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

〔背景〕保存肺の質的評価方法は未だ確立されていない。一方, dibutyl cyclic adenosine monophosphate (db-cAMP) は, 血管内皮細胞保護効果を有することが知られている。今回の研究では, 肺保存における db-cAMP の効果が透過型電子顕微鏡を用いて超微形態学的に検討された。〔方法〕ラット肺は, 肺動脈フラッシュに用いられた灌流液と虚血時間 (4°C) により, fresh 群 (n=6): ET-Kyoto 液, 20分, control 群 (n=6): ET-Kyoto 液, 15時間, db-cAMP 群 (n=5): ET-Kyoto 液+2mM db-cAMP, 15時間に分類され, 37°C で再灌流された。再灌流前に組織が採取され, 透過型電子顕微鏡を用いて保存肺の超微形態変化が評価された。〔結果〕小血管内皮細胞の protrusion, severe detachment 及び severe microvillus formation の頻度は, fresh 群と db-cAMP 群が control 群より有意に低値であった ($p<0.05$)。capillary の血管内皮細胞及び I 型肺胞上皮細胞の超微形態変化では control 群と db-cAMP 群間に有意差を認めなかった。再灌流後肺シャント率及び湿乾重量比は, fresh 群と db-cAMP 群が control 群より有意に低値であった ($p<0.01$)。小血管内皮細胞の超微形態変化と再灌流後肺機能との間に正の相関を認めた。〔結論〕db-cAMP は, 冷所保存と虚血再灌流障害に伴う肺障害を軽減した。保存肺小血管内皮細胞の超微形態変化と再灌流後肺機能の間に正の相関を認めた。超微形態学的検討は, 保存肺の質的評価に貢献すると考えられた。

以上の研究は肺の虚血再灌流障害のメカニズムの解明に貢献し, 肺移植における肺保存法の進歩に貢献するところが多い。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13年4月23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試問を受け, 合格と認められたものである。