



学位論文審査の結果の要旨

| | | | | |
|--|-------|-------|---|--|
| 審査区分 課・論 | 第464号 | 氏名 | 増田 崇 | |
| 審査委員会委員 | 主査氏名 | 北野 敬明 | 印 | |
| | 副査氏名 | 西園 晃 |  | |
| | 副査氏名 | 高橋 尚彦 |  | |
| <p>論文題目： Dihydropolyl histidinate zinc complex, a new antioxidant, attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury in rats (新規抗酸化物質DHLHZnはラット肝虚血再灌流モデルにおいて肝障害を軽減する)</p> <p>論文掲載誌名： Journal of Gastroenterology and Hepatology (in press)</p> <p>論文要旨： 【背景・目的】 肝臓外科手術において、肝虚血再灌流障害は最も重大な合併症である。その機序は虚血時の低酸素障害、虚血再開時に活性酸素種(ROS)、TNF-αを含む様々なサイトカインの放出から、好中球の類洞内集積が促進され、更に凝固障害なども加わり肝実質細胞死を惹起することにある。αリポ酸誘導体(Dihydropolyl histidinate zinc complex: DHLHZn)は水溶性で強力な抗酸化能を有する新規開発抗酸化物質である。今回、ラット肝虚血再灌流モデルにおけるDHLHZnの効果およびそのメカニズムについて検討した。【対象・方法】既存のαリポ酸とDHLHZnの抗酸化力を1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activityを測定することで比較した。続いてWistarラットを用い、45分間肝虚血後、6時間再灌流したモデルを作成した。虚血30分前と再灌流直後にDHLHZn(10mg/kg, i.p.)を投与した群(I/R+DHLHZn群)、生理食塩水のみ投与した群(I/R群)、虚血再灌流せず単開腹のみ行なった群(sham群)の3群に分けた(それぞれn=10)。各群において、血清AST、ALT、肝組織中の脂質酸化損傷マーカーであるmalondialdehyde(MDA)、さらに肝障害の程度を組織学的に比較検討した。また<i>in vitro</i>においてRAW264.7細胞(マウスマクロファージ様細胞)を用いたROS発生実験で、DHLHZn(250μM)の効果を検討した。【結果】DPPH radical scavenging activity測定では、DHLHZnがαリポ酸に比べ有意に強い抗酸化力を示した。ラット肝虚血再灌流モデルではI/R+DHLHZn群はI/R群に比べ、有意に血清AST、ALTの低値、肝組織MDAの低値、組織学的肝障害の軽減を認めた。透過型電子顕微鏡所見ではI/R群はミトコンドリアの障害が高度であったのに対し、I/R+DHLHZn群では軽度であった。RAW264.7細胞を用いたROS発生実験ではDHLHZnは有意にROSの発生を抑制した。【考察】肝に虚血再灌流が加わると活性化したKupffer細胞からROSが発生する。過剰に発生したROSは肝細胞のミトコンドリアを障害し、更に細胞障害、アポトーシスを引き起こす。本研究ではI/R+DHLHZn群においてI/R群に比べ、有意に肝虚血再灌流障害の軽減を認めた。またI/R+DHLHZn群においてMDAを改善、ROS発生を抑制したことより、Kupffer細胞からのROSの発生の抑制が虚血再灌流障害軽減のメカニズムの一つとして考えられた。【結語】新規抗酸化物質DHLHZnはラット肝虚血再灌流モデルにおいて、再灌流障害を抑制した。DHLHZnは虚血再灌流障害などの臨床の場面で治療薬として期待できる可能性が示唆された。</p> | | | | |

学 位 論 文 要 旨

氏名 増田 崇

論 文 題 目

Dihydrolipoyl histidinate zinc complex, a new antioxidant, attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury in rats

(新規抗酸化物質 DHLHZn はラット肝虚血再灌流モデルにおいて肝障害を軽減する)

要 旨

ア. 緒言 (目的)

肝臓の外科手術において肝虚血再灌流障害は最も重大な合併症の一つである。肝に虚血が加わると低酸素状態による障害に加え、血流再開時に、Kupffer 細胞が活性化し、活性酸素種 (ROS)、TNF- α を含む様々なサイトカインを放出し、好中球の類洞集積を促進する。更に細胞障害や凝固異常などを引き起こし、最終的に肝実質細胞の細胞死を引き起こす。 α リポ酸誘導体 (dihydrolipoyl histidinate zinc complex: DHLHZn) は新しく開発された抗酸化物質であり、安定かつ強力な抗酸化能が期待される薬剤の一つである。ラット肝虚血再灌流モデルにおける DHLHZn の効果およびそのメカニズムについて検討した。

イ. 研究対象及び方法 (材料を含む)

既存の α リポ酸と DHLHZn の抗酸化力を 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging

activity を測定し比較した。続いて Wister ラットを用い、45 分間肝虚血後、6 時間再灌流モデルを作成し、薬剤の投与を行った。DHLHZn (10mg/kg, i. p.) を投与した群 (I/R+DHLHZn 群)、生理食塩水のみ投与した群 (I/R 群)、虚血再灌流せず単開腹のみ行った群 (sham 群) の 3 群 (n=10) に分けた。各群、血清 AST、ALT、肝組織中の脂質酸化損傷マーカーである MDA (malondialdehyde) を測定した。各群における肝組織を組織学的に比較検討した。また in vitro で RAW264.7 細胞 (マウスマクロファージ様細胞) を用いた ROS 発生実験で、DHLHZn の効果を検討した。

ウ. 結果

DPPH radical scavenging activity の測定では、DHLHZn が α リポ酸に比べ有意に高値であり、より強い抗酸化力を示した。ラット肝虚血再灌流モデルにおいて、I/R+DHLHZn 群は I/R 群に比較し、有意に血清 AST、ALT の低値、肝組織 MDA の低値、組織学的肝組織障害の軽減を認めた。透過型電子顕微鏡所見では I/R 群ではミトコンドリアの障害が高度であったのに対し、I/R+DHLHZn 群では軽度であった。RAW264.7 細胞を用いた ROS 発生実験では DHLHZn は有意に ROS の発生を抑制した。

エ. 考察

肝に虚血再灌流が加わると活性化した Kupffer 細胞から ROS が発生する。過剰に発生した ROS は肝細胞のミトコンドリアを障害し、更に細胞障害、アポトーシスを引き起こす。本研究では I/R+DHLHZn 群において I/R 群に比べ、有意に肝虚血再灌流障害の軽減を認めた。また I/R+DHLHZn 群において MDA を改善、ROS 発生を抑制したことより、Kupffer 細胞からの ROS の発生の抑制が肝虚血再灌流障害軽減のメカニズムの一つとして考えられた。

オ. 結語 (まとめ)

新規抗酸化物質 DHLHZn はラット肝虚血再灌流モデルにおいて、再灌流障害を抑制した。DHLHZn は虚血再灌流障害などの臨床の場面で治療薬として期待できる可能性が示唆された。