




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第305号	氏名	日下淳也
審査委員会委員	主査氏名	三股浩光	
	副査氏名	宮本伸二	
	副査氏名	小野克重	
論文題目	Cepharanthine improves renal ischemia-reperfusion injury in rats (セファランチンはラットにおける腎虚血再灌流傷害を抑制する)		
論文掲載誌名	Journal of Surgical Research, 2010 (Epub)		
要旨	<p>緒言 急性腎傷害は多くの原因から生じるが、虚血再灌流傷害はその原因の一つである。虚血再灌流傷害において reactive oxygen species (ROS)は重要な役割を果たしており、再灌流によって産生された過剰なROSがDNAやミトコンドリア、脂質等を傷害し、炎症を惹起して臓器傷害を来す。一方、セファランチンはタマサキツゾラフジから抽出した天然アルカロイドで、生体膜の安定化や抗アレルギー作用、脂質過酸化の抑制、フリーラジカルからの防御など様々な薬理作用が報告されている。本研究ではセファランチンが腎虚血再灌流傷害を抑制できるかどうかを検討した。</p> <p>対象と方法 雄性Wistarラットを用いて、無作為にセファランチン(10 mg/kg)または生理食塩水を皮下注射した後、吸入麻酔薬であるセボフレンを用いた全身麻酔下に右腎を摘出し、左腎動静脈をクランプした。60分後にクリップを除去して虚血再灌流モデルを作成した。再灌流開始24時間後に全身麻酔下に犠死させ、血中BUN、Cre値を測定した。再灌流24時間後の組織学的変化をHE染色と透過型電子顕微鏡にて検討した。HE染色標本ではErdogan法にて腎の組織傷害を半定量的に評価した。またROS由来脂質過酸化の指標であるマロンジアルデヒド (MDA) の腎組織内濃度をELISA法で測定し、さらにRAW264.7マクロファージ様細胞株を2',7'-dichlorodihydro-fluorescein diacetateにて処理し、セファランチンのROS産生阻害能をflow cytometryにて測定した。</p> <p>結果 ①血中BUN及びCre値は虚血再灌流後6時間でそれぞれ171.5±50.6 mg/dl及び4.36±0.60 mg/dlと著明に増加したが、セファランチン前投与群ではそれぞれ87.3±46.9 mg/dl及び2.99±1.44 mg/dlと有意に低下していた。②虚血再灌流後24時間で、腎には尿細管壊死、細胞内空胞形成、出血、尿細管拡張等の傷害が観察されたが、セファランチン前投与群では、これらの傷害は有意に軽減していた。③透過型電子顕微鏡においても虚血再灌流群ではミトコンドリアの膨張や微絨毛の破壊がみられたが、セファランチン前投与群ではこれらの傷害は軽微であった。④腎組織内のMDA濃度は虚血再灌流にて増加するが、セファランチン前投与群では有意に低下していた。⑤RAW264.7マクロファージ様細胞株に antimycin Aを投与すると著明にROSが産生されるが、セファランチンによってROS産生は有意に抑制された。</p> <p>考察 腎の虚血再灌流によって組織傷害が生じ、再灌流後6時間で血中BUN及びCre値が上昇するが、これらはセファランチンの前投与によって抑制された。一般に腎虚血再灌流ではROSが細胞傷害の原因の一つとされており、今回の研究においてもROSによるミトコンドリアの膨張や脂質二重膜傷害の結果とされるMDAの増加が観察され、これらのROSによる傷害もセファランチン前投与によって軽減されていた。</p> <p>以上より、セファランチンは各種腎虚血再灌流傷害における病態改善の新たな治療薬となる可能性が示唆された。</p> <p>本研究は、虚血再灌流による腎傷害は、再灌流によって産生されたROSがミトコンドリアや脂質二重膜を傷害すること、さらにセファランチンはROSの産生を抑制することによって虚血再灌流における臓器保護効果を有することを示しており、審査員の合議により、本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>		

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 目下淳也

論 文 題 目

Cepharanthine Improves Renal Ischemia-reperfusion Injury in Rats
(セファランチンはラットにおける腎虚血再灌流傷害を抑制する)

要 旨

(緒言) 急性腎傷害は集中治療領域で頻繁に認められる病態の一つであるが、その代表的な原因として腎虚血再灌流傷害が挙げられる。一方セファランチンは、タマサキツヅラフジから抽出した天然アルカロイドであるが、最近の研究から、膜安定化や抗アレルギー作用など様々な薬理作用を有することが証明されている。今回我々は、セファランチンの投与により、腎虚血再灌流傷害を抑制できるか否かを検討した。

(研究対象及び方法) 雄性 Wistar ラット(体重 250 から 300g)を使用し、無作為にセファランチン(10mg/kg)または生理食塩水を皮下注射した後、吸入麻酔薬であるセボフレンを用いた全身麻酔下に右腎を摘出、更に左腎動・静脈を血管用クリップでクランプした。60 分間経過した後にクリップを除去することで虚血再灌流モデルを作成した。再灌流開始 24 時間後に全身麻酔下に犠死させ、血液中 BUN, Cr の測定を行った。さらに、再灌流 24 時間後の組織学的変化を HE 染色ならびに電子顕微鏡を使用して

検討した。またセファランチンの腎傷害改善メカニズムを明らかにするために、脂質が活性酸素種(ROS)により障害されることによって生じ、虚血再灌流傷害時の ROS の指標として用いられるマロンジアルデヒド(MDA)の腎組織中濃度測定も併せて行った。

(結果) 腎虚血再灌流傷害に伴う BUN, Cr の上昇はセファランチン投与群において有意に抑制されていた。また、腎虚血再灌流傷害による腎組織の出血や尿細管細胞の脱落、ミトコンドリアの膨化等の破壊性変化がセファランチン投与群で抑制された。これらの事実より、セファランチンは虚血再灌流後の腎傷害を軽減できることが証明された。さらに、腎虚血再灌流傷害による腎組織中の MDA は傷害を受けなかったシャム手術群に比べて有意に上昇したが、セファランチン投与群においては有意に抑制できた。

(考察と結語) 今回の研究において、セファランチンには腎虚血再灌流傷害後の腎組織傷害が軽減できることが示唆された。更に、腎機能の指標として一般的に用いられている BUN や Cr が腎虚血再灌流後に上昇するのを有意に抑制することができた。これらの事実より、セファランチンには虚血再灌流後の腎傷害に対する改善効果があることが示された。一般的に、腎虚血再灌流傷害における細胞傷害ノメカニズムの一つに、再灌流後に発生する多量の ROS の関与が推定されている。ROS による傷害の結果としてミトコンドリアの形態変化や、細胞の脂質二重膜が傷害されることにより上昇する MDA の存在が報告されている。実際に、今回の研究においても腎虚血再灌流後の組織を検討すると、ミトコンドリアの形態変化や腎組織中の MDA 上昇を認めた。一方、セファランチン投与群では、このようなミトコンドリアの形態変化や MDA の上昇が抑制されていた。これらの結果から、セファランチンの腎虚血再灌流傷害軽減効果におけるメカニズムの一つとして、ROS の抑制を介した臓器保護効果を有する可能性が示唆された。以上のことから、セファランチンは各種腎虚血再灌流傷害における病態改善の新たな治療薬剤となる可能性が示唆された。