

Title	TNF suppression and microcirculatory disturbance amelioration in ischemia/reperfusion injury of rat liver after ischemic preconditioning.
Sub Title	ラット肝虚血再灌流障害におけるイスキミックプレコンディショニングのティーエヌエフ産生と微小循環障害抑制効果
Author	篠田, 昌宏 (Shinoda, Masahiro)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.1 (2003. 3) ,p.4-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030303-0004

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

TNF suppression and microcirculatory disturbance amelioration in ischemia/reperfusion injury of rat liver after ischemic preconditioning.

(ラット肝虚血再灌流障害におけるイスケミックプレコンディショニングの
ティーエヌエフ産生と微小循環障害抑制効果)

篠田 昌宏

内容の要旨

【緒言】短時間の虚血が、その後の長時間の虚血による再灌流障害を軽減する、すなわち虚血耐性を誘導するという現象があり、ischemic preconditioning (以下IPC) と呼ばれる。今回ラット肝を用いてIPCの肝虚血再灌流障害に対する効果を、TNF- α 産生と微小循環障害に着目して検討した。

【材料、方法】Wistar系雄性ラット(200~250g)を使用。開腹10分後に30分間全肝虚血するcontrol群と、開腹直後より5分間全肝虚血し一旦再灌流して5分後再び30分間虚血するIPC群の2群を作成した。このモデルにおいて、肝障害、微小循環障害、TNF- α の産生、mRNA発現を比較検討した。肝障害の評価としては、肝逸脱酵素、肝組織光顕像、アポトーシス(TUNEL染色)、生体顕微鏡下propidium iodide陽性細胞の観察を行った。微小循環障害の評価としては、ICAM-1免疫染色、生体顕微鏡下接着白血球の観察を行った。TNF- α の評価としては、血漿中と組織中TNF- α を測定し、組織中TNF- α のmRNAをRT-PCR法にて半定量した。

【結果】肝障害の指標はいずれも、control群に比べIPC群で障害が軽度であることを示していた。ICAM-1免疫染色は、再灌流360分後においてcontrol群で多数の陽性細胞を類洞沿いに認めたのに対して、IPC群ではcontrol群ほど多くは認めなかった。接着白血球数は、再灌流180分後においてcontrol群で著明な上昇を認め、IPC群で有意な上昇の抑制を認めた。血中、組織中TNF- α は、再灌流60分後においてcontrol群で著明な上昇を認め、IPC群で有意な上昇の抑制を認めた。再灌流60分後の組織中TNF- α のmRNAの発現は、control群に比べIPC群で減弱していた。

【考察】肝障害の評価は様々な方向からなされ、そのいずれもがIPCが肝虚血再灌流障害に抑制的に働くことを示していた。微小循環の指標は、IPC群における微小循環障害が軽度であったこと、TNF- α の解析は、IPC群において血中、組織中蛋白産生、さらに肝組織中mRNA発現が抑制されていたことを示した。肝虚血再灌流障害の機序にはTNF- α などの炎症性サイトカインの産生やそれに引き続く微小循環障害が重要な役割を担っているという報告が多く見られるが、こうした報告と今回のわれわれの結果は、IPCの肝虚血再灌流障害抑制効果の機序には、TNF- α のmRNA転写抑制によるTNF- α 蛋白産生低下、それによってもたらされる微小循環障害の抑制が関与しているということを示唆するものである。

【結論】ラット肝虚血再灌流後のIPCによる障害抑制効果が認められた。その作用機序のひとつとして、微小循環障害の抑制、さらにTNF- α のmRNA転写抑制によるTNF- α 産生低下が示唆された。

論文審査の要旨

薬物を用いず短時間のシンプルな手技によって施行可能なIschemic Preconditioning (IPC) は、外科手術への応用の有用性が非常に高いものと期待されている一方メカニズムの解明は十分とは言えず、これまでadenosineやnitric oxideを因子とする報告が散見されるのみであった。本研究は、肝虚血再灌流障害において中心的役割を担っているとされる微小循環動態やpro-inflammatory cytokineであるTNF- α に着目してIPCのメカニズムの究明を行うことを目的とした。

審査では、TNF- α に関する質問が多くなされた。TNF- α の転写抑制がいかなる機序で引き起こされるのかという質問に対しては、短時間のストレスが細胞に不応期をもたらすという概念が提唱されていることや、TNF- α の上流で働いているといわれるnuclear factor- κ Bやmitogen-activated protein kinaseなども今後の研究対象として興味深いという展望が述べられた。次に、TNF- α がどの程度IPCのメカニズムに関与しているのかという質問がなされたが、adenosineやnitric oxideの役割を報告した文献があること、さらには他の炎症性サイトカインの関与の可能性が示唆されていることから、TNF- α がIPCメカニズムの単一の因子ではないという点が強調された。さらに、膜型TNF- α が分泌型になる際に作用する酵素TACE (TNF-alpha converting enzyme) への着目も興味深いとの指摘や、TNF- α がIPCのメカニズムに実際に関わっているか否かの検証のためにはKupffer細胞を薬物によって肝臓から除去したモデルでの実験が有用であろうとの指摘がなされた。次に、微小循環障害の評価に関し、生体顕微鏡下に観察された接着白血球の分布は一様であるが、酸素供給の少ないとされる小葉内Zone3に集中する可能性はないのかという質問がなされた。接着している白血球は非灌流類洞内に停滞しているだけである可能性があること、生体顕微鏡による肝表面からの観察は門脈域の観察が困難であり、HE染色標本等による切除断面の所見との比較が必要であると指摘され、今後、小葉内Zone別の比較解析をより適切な方法で行うことが期待された。最後に、実験モデルに関して、全肝虚血モデルでは腸管うっ血の影響が無視出来ないのではないかという質問がなされた。腸管うっ血の影響を無視出来る部分肝虚血モデルが実験初期に試行されたが、手術手技の複雑さからデータのばらつきが大きく、より簡便なモデルを選択した経緯が説明された。

以上のように、本研究はなお検討すべき点を残しているものの、これまでのIPCに関する研究とは異なったメカニズム、すなわち微小循環障害やTNF- α に焦点を当てIPCの作用機序を究明した点で有意義であると評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹
内科学 石井 裕正 医化学 末松 誠
解剖学 相磯 貞和 病理学 岡田 保典

学力確認担当者：
審査委員長：石井 裕正

試問日：平成14年10月15日