



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 肝単純冷却保存におけるエネルギー基質代謝の経時的測定法                                                                                                                     |
| Author(s)    | 臼井, 規明                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1993, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/38158">https://hdl.handle.net/11094/38158</a>                                                             |
| rights       |                                                                                                                                                 |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 <sup>うす</sup> 白 <sup>い</sup> 井 <sup>のり</sup> 規 <sup>あき</sup> 明

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 10670 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 5 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学研究科外科系専攻

学 位 論 文 名 肝単純冷却保存におけるエネルギー基質代謝の経時的測定法

論 文 審 査 委 員 (主査)  
教 授 岡田 正

(副査)  
教 授 田川 邦夫 教 授 鎌田 武信

## 論 文 内 容 の 要 旨

### (目 的)

肝保存法に関する研究や、移植時における保存肝の viability を評価する上で、肝の代謝状態を動的に把握できればその意義は大きい。しかし通常このような代謝産物の測定においては、目標とする組織をその都度採取しなければならないため、移植を目的とするような臨床材料の検索には適さない。このような場合、核磁気共鳴等の非侵襲的測定法が知られているが、現時点では実用に供されるまでには至っていない。

そこで本研究では微小領域を灌流し得る microdialysis 法を用いることにより、保存中の肝の代謝産物を経時的に測定することが可能かどうかを検討した。更に単純浸漬保存肝におけるエネルギー代謝は主として嫌氣的解糖によると考えられることから、内因性解糖基質であるグリコーゲン量の異なった状態を絶食あるいは摂食によって作成し、本法を用いて嫌気性基質代謝の相違を検討した。また、保存液中に外因性解糖基質としての果糖を添加し、同代謝に及ぼす影響を検討した。

### (方 法)

実験は 6～8 週令の Wistar 系雄性ラット 28 匹を用いて行った。実験動物は肝摘出 24 時間の間絶食としその後 6 時間の 4℃単純冷却浸漬保存を行ったもの、および肝摘出前に自由摂食としておき同様の保存を行ったものに分け、それぞれに対して 2 種類の保存液 (Krebs-Henseleit 液, 20mM 果糖添加 Krebs-Henseleit 液) を用い、絶食-非添加群, 絶食-果糖添加群, 摂食-非添加群, 摂食-果糖添加群の 4 群 (各々  $n=7$ ) とした。保存開始時に肝組織を一部採取し、同時に脱酸素化した各々の保存液を用いて肝の microdialysis を行った。以後は灌流液を 30 分毎に分割採取し、保存終了時に肝組織を一部採取した。乳酸およびブドウ糖は固定化酵素を用いて電気化学的に測定した。グリコーゲンはアミログルコシダーゼにより分解しブドウ糖として測定した。ATP および LDH は酵素的定量法を用いて測定した。乳酸およびブドウ糖に関して、保存終了時の灌流液の濃度と実際の肝組織濃度を比較検討した。灌流液の濃度の経時的な推移、保存前後のグリコーゲン量、ATP 量、保存後肝より得られた wash out 液中の LDH 活性について比較検討した。

### (成 績)

1) microdialysis 灌流液の乳酸濃度と実際に測定した肝組織の乳酸濃度との間には  $r=0.88$  の正の相関が得られ、またブドウ糖濃度においても  $r=0.83$  の正の相関が得られた。

2) 灌流液の乳酸濃度の推移：絶食-非添加群においては低値のまま推移し有意な変動を認めなかった。摂食-非添加群においては持続的な上昇を認めた。絶食-果糖添加群においては保存前期にのみ上昇を認めた。摂食-果糖添加群においては保存前期にのみ上昇を認め、保存終了時には摂食-非添加群との有意差を認めなかった。

灌流液のブドウ糖濃度の推移：絶食の2群においては低値のまま推移した。摂食-非添加群においては持続的な上昇を認めた。摂食-果糖添加群では持続的な上昇を認めたが、非添加群に比し低値で経過した。

肝グリコーゲン量：摂食-非添加群で保存後に減少を認めたが、絶食の2群および摂食-果糖添加群で保存後に有意な変動を認めなかった。保存後には摂食-果糖添加群は摂食-非添加群に比し高値であった。

3) 保存後のATP量は絶食の2群では摂食の2群に比し低い傾向があったが、有意な差ではなかった。絶食の2群のLDH活性は摂食の2群に比し高値を示し、それぞれの群に対する果糖添加群は非添加群に比し低値を示した。

(総括)

1) 乳酸およびブドウ糖の microdialysis 灌流液中濃度と組織濃度の間には良好な正の相関が得られ、microdialysis による保存肝中のこれら代謝物質の観察が可能であることが示された。

2) 本法を用いた解析より、単純冷却保存肝におけるグリコーゲンからの持続的な乳酸とブドウ糖の産生が示された。これに対して保存液への果糖の添加は、すみやかに乳酸を産生するとともに、グリコーゲンのブドウ糖への分解を抑制することが示された。

3) 肝摘出前の摂食および保存液への果糖の添加は、保存後の肝より得られた wash out 液中の LDH 活性を減少させたことから、細胞障害に対し有利に働く可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

肝保存に関する研究や、肝移植におけるグラフトの評価を行う上で、肝の代謝状態を動的に把握できればその意義は大きい。本研究では、マイクロダイアリシス法を用いて保存肝の代謝産物を経時的に測定して代謝の動的把握を試み、その有用性を検討したものである。本法を保存肝におけるグリコーゲン分解に応用して、次の結果が明らかになった。肝保存中、内因性グリコーゲンの分解によってすみやかなブドウ糖産生を認めたのに対し、乳酸産生の増加には数時間を要した。保存液に果糖を添加すると、すみやかな乳酸産生とともに、グリコーゲン分解によるブドウ糖産生が抑制された。マイクロダイアリシス法を用いた測定より、浸漬保存肝における代謝解析を簡便に、経時的に行えることが示されたが、この結果は臨床材料の代謝状態を検索する上で有用と考えられ、今後多方面での応用が期待され、学位論文に値するものである。