



Title	電子スピン共鳴(ESR)を用いた肝の虚血・再灌流傷害の研究
Author(s)	請井, 敏定
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38574
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名 ^{うけ}請 ^い井 ^{とし}敏 ^{さだ}定

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 1 1 6 0 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 6 年 3 月 15 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 2 項該当

学 位 論 文 名 電子スピン共鳴 (ESR) を用いた肝の虚血・再灌流傷害の研究

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 森 武貞

(副査)
教 授 志賀 健 教 授 鎌田 武信

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

肝臓は虚血に非常に弱い臓器の一つである。虚血直後より肝機能障害は進行するが、早期に再灌流されればその障害は可逆的で機能は容易に回復する。しかし、虚血時間が長時間にわたるとその障害は不可逆となる。臨床的には、起きている変化が可逆的であるか否かを再灌流前に判定することが必要である。現在までにいくつか肝障害の程度を推測する方法が報告されているが、これらは再灌流後に測定されるもので、再灌流前に肝の状態を知る簡便な方法はない。本研究ではラット虚血肝を用いて、肝の虚血・再灌流傷害の指標としての電子スピン共鳴 (ESR) の有用性を明らかにすることを目的とした。

【方法】

250から300 g の Wistar ラットをエーテル麻酔下に開腹し、全身ヘパリン化の後、肝左葉及び内側葉へ流入する肝動脈、門脈を部分的にクランプして、部分虚血肝モデルを作製した。15, 30, 60, 90, 120分間のクランプの後、これを解除し30分間の再灌流を行った。対照には、開腹のみ行ったラットを用いた。30分間の再灌流終了後に下大静脈より採血し、これを用いて血清 GOT 値を測定した。虚血終了時と再灌流後に肝組織を採取、その一部を凍結乾燥し、H PLC を用いて adenine nucleotides を測定した。同時に約0.8ml の肝組織を採取し、速やかに内径 3 mm の石英管に注入、それを液体窒素で凍結し ESR の測定用資料とした。これを ESR スペクトロメーターを用いて測定温度140K、さらに以下の条件下でそのシグナルを分析した (microwave power, 10 mW; modulation amplitude, 100 kc, 6.3 G; scan time, 8 min; response time, 1.0 sec; field, 3200 ± 500 G.)。記録されたシグナルの高さをシグナルの強度とした。

【成績と考察】

血清の GOT 値を30, 60, 90, 120分の虚血時間で測定したところ、それぞれ 653 ± 124 , 2273 ± 1167 , 7317 ± 2476 , 5958 ± 817 Karmen unit と虚血時間の延長とともに増加し、90分ではばプラトーに達した。また、虚血時の ATP 量は虚血時間が30, 60, 90分の3群ともほとんど消費され $0.5 \mu \text{mole/g dry weight liver}$ 以下まで低下していた。30分の再灌流後では、虚血時間が30, 60, 90分の時の値は、各々 4.52 ± 0.67 , 2.80 ± 1.08 , 0.48 ± 0.16 であり、その回復は虚血時間の延長とともに不良になった。Energy charge (EC) も同様な傾向を示した。

140K の条件下で新鮮肝の ESR を測定したところ、g 値が2.0と1.96の2種類のシグナルを得ることができた。前者は CoQ, フラビン, 琥珀酸ラジカルの混合と考えられているが、このシグナル強度は虚血時より再灌流までを通じて

ほとんど変化しなかった。後者はミトコンドリア内の非ヘム鉄と報告されている。このシグナル強度は虚血時間が15, 30, 60, 90分の時、正常肝のそれに対する比率は、各々 0.69 ± 0.19 , 0.22 ± 0.08 , 0.20 ± 0.05 , 0.18 ± 0.09 と虚血時間の延長とともに急速に低下した。また、再灌流後の値は 0.95 ± 0.12 , 0.77 ± 0.06 , 0.56 ± 0.15 , 0.37 ± 0.20 に回復した。このことより、虚血中は、ESR スペクトロメーターを用いて検出可能なFe(II)–Fe(III)が減少し、検出できない還元型が増加、再灌流後は逆に後者が減少し、前者が回復してきたと考えられる。このシグナル強度の変化はATPやECの変化と同様な傾向が認められ、非ヘム鉄のシグナル強度とECとの間には、正の相関関係($y = 0.73x \pm 0.32$, $r = 0.78$, $p < 0.001$)が認められた。したがって、このシグナルの変化は、酸化型、還元型のバランス、いわゆる細胞の

redox stateの変化を表現していると考えられた。

【総括】

この実験により、ESR スペクトロメーターを用いて測定した非ヘム鉄のシグナルは、虚血および再灌流肝のredox stateの良き指標となりうることが推定された。この測定方法は、簡便で時間もかからず、臨床的には、虚血肝の状態把握等に利用できるものと期待される。

論文審査の結果の要旨

肝虚血・再灌流傷害の程度を定量する簡便な指標は今までに報告されていない。本研究は、電子スピン共鳴装置を用いて虚血・再灌流時における電子伝達系の非ヘム鉄のシグナルの変化を捉え、このシグナルの変化が再灌流時のATPやenergy chargeと相関することを示し、このシグナルを測定することにより肝ミトコンドリア機能の評価が可能であることを明らかにしたものである。本法は簡便で短時間での測定が可能であり、臨床においては温阻血肝や保存肝の細胞傷害の指標として応用できるものと考えられ、本論文は学位の授与に値すると思われる。