OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	アルコール性肝障害の発生機序に関する検討 : エンドセリンとnitric oxideによる肝微小循環の制御
Author(s)	尾下, 正秀
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38669
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名　尾下正秀（おしたまさひで）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第 10993 号

学位授与年月日　平成 5 年 12 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　**アルコール性肝障害の発生機序に関する検討**
－エンドセリンと nitric oxide による肝微小循環の制御－

論文審査委員　（主査）
教　授　鎌田　武信
（副査）
教　授　志賀　健　　教　授　松沢　佑次

論　文　内　容　の　要　旨

［目　的］

アルコール性肝障害の病態は，脂肪化・壊死・線維化など多彩であり，多くの病因が多様な病態の成立に関与している。その一因に肝微小循環障害に伴う低酸素状態が従来より指摘されてきた。すなわち，肝血流が門脈より中心静脈域に流れるため，下流にあたる中心静脈域において酸素分圧が低いこと，アルコール代謝に伴う肝酸素消費の増大が低酸素状態を助長すること，また，肝細胞の風船化・肝組織の線維化による肝類洞の狭小化が血流障害をきたすことなどが報告されてきた。しかしながら，アルコール自体の肝血管床に及ぼす影響を病因とする報告はこれまで認められない。本研究では，アルコールが肝血管床において収縮を惹起することを報告し，このアルコールによる肝血管収縮が，（a）アルコールによる肝障害の病因になりうるのか，また，（b）いかなる機序により生じるのか（内皮細胞由来血管作動性物質の役割），について灌流肝システムを用い検討した。

［方　法］

（1）摘出灌流肝：Sprague-Dawley 雄性飽食ラット（250～300g）を pentobarbital（45mg/kg体重，i.p.）で麻酔後，肝を摘出し，95％O_2/ 5 ％CO_2の混合ガスで飽和した Krebs-Henseleit 緩衝液（pH7.4，37℃，hemoglobin-free）を用い，門脈より注入し下大静脈より排出させる開放系回路・定流量（36ml/分，3.5-4.5ml/g liver）で灌流した。

（2）門脈圧の測定：肝血管収縮の指標として，門脈流入部に設置した水柱（内径 2 ㎜）にて経時的に測定した。

（3）酸素消費の測定：灌流肝全体の酸素消費は，Clark 型白金酸素電極を用い流入ならびに流出灌流液中の酸素濃度を測定し，その濃度較差，灌流流量及び肝湿重量から算出した。

（4）肝障害の検討：肝細胞障害の指標として，流出灌流液中の LDH 活性を測定し，組織学的には trypan blue(0.2 mM）添加 Krebs-Henseleit 緩衝液にて10分間灌流後，paraformaldehyde（1％）にて潅流固定し，eosin 染色にて trypan blue の取り込みより壊死肝細胞を判定した。

［成　績］

＜A．肝血管収縮の肝細胞障害に及ぼす役割＞

(1) ethanol（25～200mM）を60分間門脈より持続的に注入すると，門脈圧は濃度依存性に上昇し，注入開始2～5分後に peak 値に達し，門脈圧はその後ゆるやかに低下した（escape 現象）が，ethanol 投与中の門脈圧は注入前値に比し有意に上昇していた。流出灌流液中の LDH 活性は，ethanol 注入20～40分後より上昇しはじめ60分まで上昇し続け，ethanol 注入60分後には対照群（8±3 IU/L）に比し有意に上昇した（25mM: 19±5 IU/L, 50mM: 51±11IU/L, 100mM: 60±7 IU/L, 200mM: 120±7 IU/L)。組織像では，trypan blue 陽性の壊死肝細胞が小葉中間域から中心静脈域にかけて focal に認められた。

(2) 肝血管収縮を抑えるため，血管拡張剤 sodium nitroprusside（100 μM）を ethanol 注入10分前より注入終了後5分まで持続して注入すると，ethanol による門脈圧の上昇と LDH 活性の上昇は有意に抑制され（25mM: 7±1 IU/L, 50mM: 37±5 IU/L, 100mM: 33±7 IU/L, 200mM: 78±13IU/L)，組織学的にも細胞壊死は減少した。また，sodium nitroprusside の添加により，肝酸素消費量は増大した。

(3) ethanol 注入60分間の門脈圧上昇の平均値と60分後の流出灌流液中の LDH 活性との間には有意な相関関係が認められた（$r=0.82$, $p<0.01$)。

＜B．肝血管収縮の機序－内皮細胞由来血管作動性物質の役割＞

(1) ethanol（25～100mM）と同時に endothelin（ET)-1 抗血清を10分間注入すると，ET-1 抗血清はその濃度依存性に ethanol による門脈圧上昇を抑制し，ethanol 単独注入群に比し，門脈圧上昇の peak 値を70%以上，ethanol 注入10分間の平均門脈圧の上昇を80%以上抑制した。

(2) ethanol（10～100mM）と同時に nitric oxide 合成阻害剤である N^G-monomethyl-L-arginine（L-NMMA）を注入すると，L-NMMA は，ethanol（100mM）による門脈圧の上昇に対し，その peak 値は変化させず，その後生じる escape 現象を有意に抑制し，門脈圧上昇をより増強させた。一方，低濃度 ethanol（10mM）単独では門脈圧は変化しなかったが，L-NMMA を同時に注入すると門脈圧を有意に上昇させた。

［総　括］

ethanol 存在下では，内皮細胞由来の endothelin と nitric oxide の2つの相反する作用を有する mediator により肝血管 tone は制御されており，高濃度 ethanol では血管収縮が生じ，初期の収縮相は主として endothelin-1 の作用によりもたらされ，門脈圧 peak 後の escape 現象の成立には nitric oxide が関与し，一方，低濃度 ethanol では nitric oxide の作用により血管収縮を抑えていることが示された。これらの2つの血管作動性物質の balance の破綻が生じ肝血管収縮が惹起された際，肝微小循環障害を介し，肝機能障害・肝細胞壊死が生じ，ethanol による肝血管収縮が肝細胞障害の一因であることが示された。

論文審査の結果の要旨

アルコール性肝障害の病因に微小循環障害の関与が従来より指摘されているが，これまで肝臓自体に血流の調節機構が存在しないと考えられてきたことから，アルコール存在下での肝臓自体が血行動態にあたえる影響を病因とする報告は認められなかった。今回灌流肝システムを用いて，アルコールが濃度依存性に肝血管収縮を惹起し，肝血管収縮の程度と肝障害が相関し，血管収縮を抑えることで肝障害が抑制されることからこの肝血管収縮が肝細胞障害をきたす一因になり，さらに，この肝血管収縮が内皮細胞由来血管作動性物質である endothelin と nitric oxide により制御され，肝臓自体に血流の自己調節機構が存在することが明かにされた。このことはアルコール性肝障害における細胞障害発生機序を明らかにすると共に，肝臓自体の血管 tone を調節することが障害発生抑制に有用であることを示唆している。

本研究は，アルコール性肝障害の発生機序において，肝臓自体の血流調節機構から解明した点で独創的であり，加えて臨床的な示唆にも富むことから，学位の授与に値すると考えられる。