

Title	Prostacyclin Analog-Suppressed Ischemia-Reperfusion Injury of the Rat Liver : Evaluation by Calpain μ Activation
Author(s)	王, 蒙
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41184
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	おう 王 蒙
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 1 1 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 9 月 17 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	Prostacyclin Analog-Suppressed Ischemia-Reperfusion Injury of the Rat Liver: Evaluation by Calpain μ Activation (プロスタグランディン I_2 誘導体による肝虚血再灌流障害の抑制—Calpain μ の活性化からみた検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 門 田 守 人 (副査) 教 授 堀 正 二 教 授 白 倉 良 太

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】 肝切除，肝移植などの肝臓外科において，肝の血流遮断に伴う虚血再灌流障害は避けることが出来ない問題である。肝細胞が hypoxia や oxidative stress に曝されると，細胞内カルシウム濃度が上昇し，細胞膜に bleb が形成され，最終的に細胞死に至る。この細胞内カルシウム濃度の上昇に伴ってカルシウム依存性蛋白分解酵素 calpain μ が活性化され，talins, α -actinin などの細胞骨格蛋白を分解するなど，細胞傷害の過程で重要な役割を果たすと考えられている。一方，プロスタグランディン I_2 (PGI $_2$) とその誘導体が，hypoxia, TXA $_2$, superoxide など様々な原因による肝細胞傷害を抑制することが報告されているが，その細胞内メカニズムは未だ解明されていない。本研究では，肝虚血再灌流障害に対する PGI $_2$ の保護効果を calpain μ の活性化から検討した。

【方法・成績】 8～9 週齢の雄性 Wistar ラットを用い，全身麻酔下に開腹し，ヘパリンを投与した後，左外側葉と内側葉に流入する血流を遮断した。60 分間の血流遮断を行いクランプ解除後に非虚血肝葉に流入する脈管を結紮することにより，68% 部分肝虚血モデルを作製した。PGI $_2$ 誘導体は OP2507 を用い，血流遮断 20 分前より再灌流後 120 分まで，0.1, 0.32 又は 1.0 μ g/kg/min を尾静脈より投与した。対照群は，生理食塩水のみを投与した。胆汁は，血流遮断前，血流遮断中，および血流再開後定期的に採取し，毎分当たりの胆汁産生量を求めた。また，血流再開後 120 分の時点で採血し，血清 AST, ALT を測定した。肝細胞の形態変化を検討するため，門脈から灌流固定した組織標本を光学顕微鏡および電子顕微鏡にて観察した。また，calpain μ の活性化は，肝組織を EDTA の存在下でホモジナイズし，その遠沈上清を calpain μ の前活性型 (80 K)，あるいは活性型 (78 K) に対する抗体を用いた Western blotting にて検討した。さらに，calpain の基質である talin の分解も Western blotting にて検討した。

血流再開後の胆汁産生量は，OP2507 投与群 (0.32 と 1.0 μ g/kg/min) では，再開後 60, 120 分において対照群に比較し有意に増加していた。血流再開後 120 分の血清 AST, ALT の値は OP2507 投与群 (0.32 と 1.0 μ g/kg/min) において有意に低値であった。組織学的には，対照群では 60 分の血流遮断で類洞内に bleb の形成を認め，再灌流後 120 分では肝細胞膜の bleb 形成の増強を認めた。OP2507 投与群 (1.0 μ g/kg/min) では虚血中及び再灌流後の bleb 形成が抑制されていた。活性型 calpain μ は対照群ではクランプ開始 30 分から再灌流 120 分まで認めたが，OP2507 投与群 (0.32 と

1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) では再灌流後120分まで認めなかった。しかし、OP2507 を0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 投与した群では、calpain μ の僅かな出現を認めた。Talin は対照群では虚血30分から再灌流120分まで分解を認めたが、OP2507 投与群(1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) ではどの時点でも分解を認めなかった。

【総括】 ラットの68%部分肝虚血・再灌流の実験モデルにおいて、 PGI_2 誘導体の投与は濃度依存性に再灌流後の胆汁産生量を増加させ、血清逸脱酵素を低下させ、組織学的な bleb の形成を抑えるなど、著明な肝保護効果を示した。また、 PGI_2 誘導体により、カルシウム依存性蛋白分解酵素 calpain μ の活性化が抑えられ、さらに calpain μ の基質である talin の分解も抑制されることが確認された。以上の事実より、 PGI_2 誘導体による肝虚血再灌流障害の抑制には calpain μ の活性化の抑制が関連すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

プロスタグランジン I_2 (PGI_2) は細胞保護作用を有することが知られ、虚血再灌流障害に対してもその有効性が示されている。そのメカニズムとしては血管拡張、血小板凝集抑制、血流の増加など血管系への作用が主に知られているが、細胞への直接作用についてはライソゾーム膜の安定化を除き明らかにされていない。本研究では、細胞質に存在するカルシウム依存性蛋白分解酵素 calpain μ に着目し、 PGI_2 の細胞保護作用のメカニズムを検討した。まず、ラットの部分肝虚血・再灌流の実験モデルにおいて、 PGI_2 誘導体 OP2507 が濃度依存性に再灌流後の胆汁産生量を増加させ、血清逸脱酵素を低下させ、組織学的な bleb の形成を抑え、肝保護効果を有することを確認した。次に、calpain μ の前活性型および活性型を特異的に認識する抗体を用いた Immunoblot により、虚血中および再灌流後に肝内で calpain μ の活性化がおこり、 PGI_2 誘導体はこの活性化を抑制することを証明した。また、 PGI_2 誘導体により、虚血中・再灌流後の talin の分解が抑制されることが確認された。以上の結果より、 PGI_2 誘導体は calpain μ の活性化を抑制することにより、その基質である細胞骨格蛋白の分解を抑制し、肝障害を抑えることが示された。本研究は、 PGI_2 の作用の細胞内機構に calpain μ の活性化抑制が関与することを初めて明らかにしたものであり、博士(医学)の学位授与に値すると考えられる。