



Title	ラット腸管虚血再灌流障害に対するGlucagon-like Peptide-2の投与効果
Author(s)	清水, 義之
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45246">https://hdl.handle.net/11094/45246</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	し 清 水 よし 義 ゆき 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 8 5 0 5 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	ラット腸管虚血再灌流障害に対する Glucagon-like Peptide-2 の投与効果
論文審査委員	(主査) 教授 福澤 正洋 (副査) 教授 門田 守人 教授 宮崎 純一

#### 論 文 内 容 の 要 旨

##### [目的]

腸管虚血再灌流 (ischemia-reperfusion, I/R) 障害は、絞扼性イレウス、出血性ショック、壊死性腸炎などで認め、しばしば多臓器不全に陥り死亡率の高い臨床的に重要な病態である。Glucagon-like peptide-2 (GLP-2) は腸管内分泌細胞から分泌される 33 基のアミノ酸からなるペプチドで、近年、腸管粘膜上皮細胞の growth factor としての働きが注目されている。私は腸管虚血再灌流障害の新たな治療法としての GLP-2 に着目し、ラット腸管虚血再灌流モデルを用い GLP-2 の投与効果を検討した。

##### [方法]

Wistar 系雄性ラットを用い、以下の 4 群に分けた。単開腹群; sham 群 (n=5)、単開腹+GLP-2 投与群; sham+GLP-2 群 (n=5)、腸管虚血再灌流群; I/R 群 (n=5)、腸管虚血再灌流+GLP-2 投与群; I/R+GLP-2 群 (n=5) である。頸静脈より静脈ルートを確保し、同時に胃瘻造設を行った。開腹後、上腸間膜動脈根部を結紮し、60 分後に血流を再開させ、GLP-2 の持続投与を開始した (200  $\mu$ g/kg/day)。血流再開後 22 時間目に胃瘻より FITC-dextran を注入 (750 mg/kg)、24 時間目に小腸を摘出し、同時に門脈より採血した。トライツ靱帯より肛門側 10 cm の空腸、回盲部より口側に 10 cm の回腸を摘出し、組織像を評価し、粘膜絨毛高、陰窩深、粘膜湿重量、粘膜蛋白量、粘膜グルタチオン量を測定した。粘膜透過性の指標として、門脈血中の FITC-dextran 濃度を測定した。apoptosis 細胞の検出には、TUNEL 染色を用いた。また再灌流後 24 時間後の粘膜組織像に加え再灌流直後および 2 時間後の粘膜組織像の検討を行った。統計は ANOVA、Turkey の多重比較検定法を用い p value 0.05 以下を有意とした。

##### [成績]

粘膜組織像において、I/R 群の空腸および回腸粘膜は、Sham 群に比し著明な粘膜萎縮及び筋層の皮薄化を認めた。I/R+GLP-2 群では、空腸および回腸のいずれにおいても粘膜萎縮及び筋層の皮薄化を認めず、sham 群と同程度の粘膜構造を呈した。

絨毛高および陰窩深は、I/R 群では sham 群と比し空腸、回腸ともに有意に低値であったのに対し、I/R+GLP-2 群

は I/R 群に比し有意に高値を呈した。粘膜湿重量、粘膜蛋白量、粘膜グルタチオン量は、I/R 群では sham 群と比し空腸、回腸ともに有意に低値であったのに対し、I/R+GLP-2 群は I/R 群に比し有意に高値を呈した。

門脈血中の FITC-dextran 濃度は、I/R 群において sham 群と比し有意に高値を呈した。I/R+GLP-2 群では、単開腹群との間に差を認めなかった。TUNEL 染色では、回腸において I/R 群で多数の TUNEL 染色陽性細胞を認めたが、I/R+GLP-2 群では染色陽性細胞をほとんど認めなかった。これに対し空腸では I/R 群、I/R+GLP-2 群のいずれにおいても陰窩部分に同程度に TUNEL 染色陽性細胞を認めた。

再灌流後の経時的粘膜組織像では、空腸では再灌流後 2 時間後、24 時間後に、粘膜の萎縮と絨毛の破綻を認めた。I/R+GLP-2 群では、2 時間後の粘膜組織像では粘膜の萎縮を認めたが、24 時間後には sham 群と同程度に回復していた。回腸では、I/R 群では 2 時間後では著明な粘膜の萎縮を認めたが、I/R+GLP-2 群では 2 時間後、24 時間後ともに自由摂取群と同程度に粘膜構造は保たれた。

#### [総括]

GLP-2 の投与により、腸管粘膜構造、粘膜湿重量、粘膜蛋白量、粘膜グルタチオン量が単開腹群と同様に保たれた。また門脈血中 FITC-dextran は単開腹群と同レベルに保たれ、GLP-2 投与によって腸管粘膜透過性亢進を抑制することが示された。組織像の経時的変化より見て、GLP-2 の投与効果が、粘膜修復の効果および粘膜障害に対する防御効果という 2 つの作用により発揮されるものと考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

私は、ラット腸管虚血再灌流障害モデルにおいて Glucagon-like Peptide-2 (GLP-2) の投与効果を検討した。Wistar 系雄性ラットを開腹し、上腸間膜動脈根部を結紮した。60 分後に血流を再開させ GLP-2 の持続投与 (200  $\mu$ g/kg/day) を開始し、再灌流より 24 時間後に空腸および回腸を摘出した。虚血再灌流により、空腸および回腸の絨毛高、粘膜重量および蛋白量は低下し腸管粘膜透過性の亢進を認めたが、GLP-2 投与群ではこれらの粘膜障害は認めなかった。また、GLP-2 投与群では粘膜グルタチオン量およびアポトーシスの発現も単開腹群と同程度に維持された。これらの結果より、ラット腸管虚血再灌流障害における GLP-2 の投与効果が明らかとなり、本病態における GLP-2 の臨床応用への可能性が示された。以上より、本論文の内容は学位に値するものとする。