

望月 響子 論文内容の要旨

主 論 文

Possible Protection of Sinusoidal Endothelial Cells by Endothelin B Receptor during Hepatic Warm Ischemia-Reperfusion

(肝温虚血再灌流障害におけるエンドセリンB受容体による類洞内皮細胞保護効果の検討)

望月響子、大野康治、兼松隆之、山下康子、丹羽正美、菱川善隆、小路武彦

Surgery Today (印刷中)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻  
(主任指導教員：兼松隆之教授)

緒 言

肝虚血再灌流(以下 I/R)障害は未だその機序が明らかでなく多面的とされている。その中で微小循環障害においてはエンドセリン(以下 ET)が重要な役割を果たしているといわれている。ET-1 は強力な血管収縮因子でその作用は ETA 受容体(以下 ETA-R)、ETB 受容体(以下 ETB -R)を介している。ETA-R は血管平滑筋に存在し血管収縮作用をもつ。ETB-R には二種類の亜型があり、一つは内皮細胞に存在し一酸化窒素(以下 NO)合成を促進、血管拡張作用をもつ。もう一つは血管平滑筋に存在し ETA-R と同様の作用をもつ。これまでに ETB-R の agonist、antagonist を用いて肝微小循環における ETB-R の役割が報告されているが、結果は様々であり、ETB-R の肝微小循環における直接的な作用は明らかにされていない。また、agonist や antagonist を用いずに検討した報告は存在しない。そこで我々は、ETB-R 欠損ラットである spotting lethal rat を用いて肝温 I/R 障害における ETB-R の役割を検討した。

対象と方法

対象:実験動物として生後4週の spotting lethal rat の homo(sl/sl; ETB-R 欠損群)、wild (+/+; 対照群)を用いた。

方法:1. 全身麻酔下に開腹し肝右、中、左葉のグリソンを遮断。尾状葉の血流は保持したままで60分間虚血、その後再灌流と共に尾状葉を切除することによる肝不全モデルを用いた。

2. 実験群は sl/sl、+/+共に以下の6群とした。

I: 虚血前群 (n=3) II: 2時間後屠殺群 (n=10) III: 6時間後屠殺群 (n=10)

IV: 24時間後屠殺群 (n=10) V: 3日間後屠殺群 (n=3) VI: 7日間後屠殺群 (n=3)

3. 検討項目

(1)生化学的検討:血清 ALT、血清ヒアルロン酸、肝組織中 ET-1 発現量、肝組織中 (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>+NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)発現量、肝組織中 ET-1/(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>+NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)比

(2)組織学的検討:HE 染色、 factor VIII related antigen(以下 FVIIIIRAg)染色

## 結 果

### 1. 生化学的検討

(1)血清 ALT : sl/sl、 ++共に再灌流 6 時間で最高値を呈したが、 両群間に有意差はなかった。また、 両群共に 3、 7 日間では正常値まで回復した。

(2)血清ヒアルロン酸 : sl/sl、 ++共に 24 時間で最高値を呈した。 sl/sl では 2、 6、 24 時間で有意に高値を呈した。 3、 7 日間では両群共に改善を認めた。

(3)肝組織 ET-1 : sl/sl は全ての群で ++より高値を呈し、 特に 2、 6、 24 時間においては、 有意に高値を呈した。

(4)肝組織( $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ) : ++は 24 時間を除く全ての群で sl/sl より高値を呈したが、 有意差はなかった。

(5)ET-1/ ( $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ )比 : 全ての群で sl/sl でより高値を呈しており、 特に 24 時間では有意差を認めた。

### 2. 組織学的検討

(1)HE 染色 : 肝は sl/sl、 ++共にわずかに壊死を認めるのみであった。 肺、 脾臓、 腎臓では異常所見は認められなかった。

(2)FVIIIIRAg 染色 : 24 時間において sl/sl でより多くの陽性類洞内皮細胞(以下 SEC)を認めた。

## 考 察

本研究において sl/sl で SEC 障害が有意となったことから ETB-R 欠損下では肝温 I/R 時に SEC が障害を受けやすいことが明らかとなった。しかしこの障害はヒアルロン酸が再灌流 3 日で正常値まで回復したことから可逆性であるものと判断され、結果的に肝細胞障害には有意差を認めなかったと考えられる。ET-1 は I/R で増加し、ETB-R は ET-1 の血管収縮作用を妨げると共に、循環血中 ET-1 を除去する役割をもつ。本実験で、虚血前 ET-1 値が sl/sl で高値を呈したのは、ETB-R 欠損状態が ET-1 を十分に除去できなかったためであると推測された。また、2、6、24 時間で sl/sl で有意に高値を呈したのは、sl/sl が ET-1 を除去できないと同時に、ET-1 の放出が増加したためであると考えられた。一方、NO は血管拡張物質で NO 合成は ETB-R により促進されるが、本実験では( $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ )値に有意差は認めず、また、ET-1/ ( $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ )比は 24 時間で sl/sl で有意に高値であった。ET-1 は SEC への直接的効果により微小循環に影響を与え、本実験では ET-1 増加、加えて ET-1/NO 比不均衡が ETB-R 欠損下での肝温 I/R 後の SEC 障害を引き起こしたと考えられた。

結論として、肝温 I/R では対照群と比較して ETB-R 欠損群の方が SEC 障害を起こしやすいことが明らかであり、この事実は ETB-R が SEC に保護的な作用を有することを示唆しているものと考えられる。