

論文の内容の要旨

論文題目 腸管虚血再灌流による遠隔臓器障害のメカニズムおよびリコンビナント・トロンボモジュリンによる治療効果の検討

氏名 早瀬 直樹

【序論】腸管虚血再灌流 (ischemia-reperfusion, IR) 障害は、血管外科や移植外科の周術期、またはショック患者の致死性の合併症の一つである。近年の基礎研究から、虚血腸管の再灌流によって肝臓、肺、腎臓に遠隔臓器障害が惹起されることが明らかになってきた。また、細胞外ヒストンは、それ自身、細胞毒性を発揮するとともに damage-associated molecular patterns (DAMPs) の一つで、遠隔臓器障害のメディエーターと考えられており、組織破壊のみならず、neutrophil extracellular traps (NET) 形成により増幅される。更に DIC 治療薬である recombinant thrombomodulin (rTM) は DAMPs との相互作用により抗炎症作用を発揮することが注目されており、近年、ヒストンと結合し、その作用を抑止する可能性も示されてきた。そこで、マウス腸管 IR モデルを用いて、「腸管 IR による遠隔臓器障害の発生には細胞外ヒストンや NET 形成が重要な役割を果たしている」、「rTM は腸管 IR によってもたらされる遠隔臓器障害を抑制し、生存率を改善させる」という仮説の証明を行った。

【方法】C57BL/6J 雄マウスを用いて上腸間膜動脈をクランプ、30 分または 45 分、60 分後にクランプを解除して腸管 IR モデルを作製した。生理食塩水または rTM (5, 10, 20 mg/kg) を閉腹時に腹腔内投与し、生存時間解析を実施したほか、特に 30 分腸管虚血モデルに 10 mg/kg の rTM を投与した場合について、再灌流 3 時間後に臓器 (空腸、肝臓、肺、腎臓) を摘出し、組織学的評価、炎症性サイトカインの発現 (reverse transcription-polymerase chain reaction)、血管透過性評価 (Evans blue dye)、組織中のヒストン含有量計測 (enzyme-linked immunosorbent assay) を実施した。さらに、各臓器の蛍光免疫染色を実施し、NET 形成を評価した。

【結果】45 分腸管虚血モデルに 10 mg/kg、20 mg/kg の rTM を投与したところ、生理食塩水群に対して生存率が有意に改善した。次に致死性の低い 30 分虚血モデルを用いて、rTM の作用点を明らかにすべく空腸、肝臓、肺、腎臓の炎症性サイトカイン (tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, keratinocyte-derived chemokine) 発現、血管透過性を評価したところ、腸管 IR により空腸以外に遠隔臓器にも炎症性サイトカイン発現および血管透過性亢進をみとめ、特に肝臓では rTM 投与によって、これらの改善が認められた。さらに各臓器のヒストン含有量を評価したところ、空腸、肝臓で強いヒストン集積を認めた。rTM は空腸のヒストン集積には効果が乏しかったが、肝臓におけるヒストン量を有意に低下させた。これに一致して蛍光免疫染色では空腸、肝臓では盛んな NET 形成が確認され、rTM によって肝臓でのみ NET 形成が抑制されていた。

【結語】細胞外ヒストン及び NET 形成は腸管 IR 後の遠隔臓器障害の発生に強く関与している。rTM は細胞外ヒストンや NET 形成を抑制することで、遠隔臓器の中でも特に肝障害を軽減し、生存率改善に寄与した可能性が示唆された。