



## 肝切除術後のエンドトキシン血症における血小板活性化因子の関与とその拮抗剤の効果に関する実験的研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大貫, 義則 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1467">http://hdl.handle.net/10271/1467</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 190号	学位授与年月日	平成 6年12月16日
氏名	大貫義則		
論文題目	肝切除術後のエンドトキシン血症における血小板活性化因子の関与とその拮抗剤の効果に関する実験的研究		

博士(医学) 大 貫 義 則

## 論文題目

肝切除術後のエンドトキシン血症における血小板活性化因子の関与とその拮抗剤の効果に関する実験的研究

## 論文の内容の要旨

### I. はじめに

ラットの大量肝切除後、致死量以下のエンドトキシン（以下 ET）血症で高率に死亡する。しかし、この病態において血小板活性化因子（以下 PAF）が関与するという報告はない。そこで、実験的にラットの肝切除術後に PAF 拮抗剤（以下 PAF-A）の前投与を行い、ET 血症に対する PAF-A の効果を観察することにより肝切除術後の ET 血症における PAF の関与について検討した。

### II. 実験

1. 対象及び方法：体重約200 g の Wistar 系雄性クリーンラットを用い、エーテル麻酔下に肝切除を行った。

#### 2. 薬物の投与量と投与時期

ET は、E.coli0111:B4 由来の lipopolysaccharide を生理食塩水に溶解して用い、34% 肝切除において100% 生存する ET 量 1 mg / kg 体重を致死量以下の量とした。PAF-A として CV6209 を用いた。CV6209 は生理食塩水に溶解して 1 mg / ml にし、ET 投与10分前に 1 mg / kg 体重を尾静脈から投与した。

#### 3. 実験 A: PAF-A の肝切除後 ET 血症に対する救命効果

ラットに70% および84% 肝切除後、経静脈的に、ET のみ投与群と PAF-A の前投与群とを比較した。ET は肝切除後1、3、5日目に（1回/匹）投与し、PAF-A は ET 投与10分前に投与して、ET 投与1週間後の生存率を求めた。

#### 4. 実験 B: PAF-A の肝切除術後 ET 血症の病態に及ぼす影響

投与薬物により分けられた次の4群を用い、PAF-A 投与群と非投与群における病態について比較検討した。B-1群：生理食塩水 1 ml / kg 体重を投与。B-2群：ET 1 mg / kg 体重のみを投与。B-3群：CV6209 1 mg / kg 体重で前処置後、ET 1 mg / kg 体重を投与。B-4群：CV6209 1 mg / kg 体重のみを投与。

##### 4-1) 循環動態及び血液生化学的検索

収縮期血圧を投与6時間後まで連続的に測定し、採血して屠殺した。測定項目は GOT、GPT、プロトロンビン時間、フィブリノーゲン、血小板数。また血糖値を B-2 群と B-3 群は ET 投与後1時間毎に、B-1 群、B-4 群は1、6時間目に測定した。

##### 4-2) 病理組織学的検索

組織のヘマトキシリンエオジン染色とリンタンゲステン酸ヘマトキシリン (PTAH) 染色を行った。特に肝細胞壊死と腎糸球体血栓の有無により分類し、比較した。

### III. 結果

実験 A. 肝切除術後 ET を投与し、1週間後の生存率は、70% 肝切除術後 ET のみ投与群では1日目67%、3日目80%の生存率であったが、PAF-A を投与した群ではすべて100% 生存した。84% 肝切除術後 ET のみの投与群は1日目50%の生存率であったが、PAF-A の前投与により生存率は83%に改

善した。特に84%肝切除後3日目ET投与群は生存率20%と最も低かったが、PAF-Aの前投与により生存率は80%に有意に改善した( $P<0.01$ )。

実験 B.GOT、GPT、血糖値の変動に有意差はなく、プロトロンビン時間はET群で有意に延長し( $P<0.01$ )、フィブリノーゲンはET群においてPAF-A群より有意に低値を示した( $P<0.05$ )。血小板は減少したが有意差はみられなかった。B-2群で死亡したものは、ET投与後4-6時間に急に血圧が低下して死亡し、血性腹水を認めたが、B-3群では血圧下降を認めず血性腹水も認めなかった。病理組織学的に、B-2群は肝細胞壊死と腎糸球体にフィブリン血栓を認めDICの所見を呈していた。肺には死亡例でうっ血および肺水腫を認めた。B-3群は、肝細胞壊死の発生は抑制されていたが、腎糸球体にはフィブリン血栓を認め、DIC所見の軽減はわずかであった。肺のうっ血は軽度に認めるのみであった。

#### IV. 考察

ET血症が関与するメディエーターの一つにPAFが注目されている。PAFは初めて生理活性が明らかにされたリン脂質で、多彩な生物活性を示す。大量肝切除では種々の合併症を引き起こす可能性が高く、肝切除術後や肝硬変患者では感染症やET血症の発生が他の消化器外科手術後に比べ頻度は高い。本実験で、ラットの大量肝切除術後3日目、致死量以下のET血症により高い死亡率を示したのに対し、PAF-Aの前投与が生存率を著明に改善したことから、肝切除術後、致死量以下のET血症でPAFが産生、放出された可能性が高い。組織学的には、ET投与でDICが発生しているが、PAF-A投与で血液凝固系は有意に改善をみた。PAFを静脈投与すると心機能異常を起こすといわれ、本実験でもET投与後4-6時間に起こる急激な血圧下降が、PAF-Aの投与により予防されていることから、肝切除後のET血症によってPAFの産生がおり、ショックとなって死亡したと考えられる。

#### V. 結論

ラットの大量肝切除術後、PAF-Aを投与することにより肝細胞壊死とDICを軽減し、循環不全や血性腹水を防止して有意に生存率を改善することができた。これらのことから、ET血症においてPAFが関与した病態が発生すると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

肝切除術後に発生するエンドトキシン(ET)血症は比較的高率にみられる術後合併症であり、また重篤な経過をたどるため手術の予後を左右し、その治療法の確立が望まれている。

申請者は本症の病態を明らかにするためラット肝切除術後ET血症モデルを作製し、本モデルにおける血小板活性化因子(PAF)の関与、PAF拮抗剤(PAF-A、CV6209)の予防効果、循環動態の観察、血液生化学的検索(肝機能、血液凝固学的検査、血糖)、病理組織学的検索(肝細胞壊死、腎糸球体血栓の有無)を行った。本モデル作製は肝切除術後にETを尾静脈より静注して行った。静注したET量は34%肝切除術後静注にて100%生存し得た量(1mg/kg体重)とし、70%、及び84%肝切除後に静注して作製した。

その結果、70%、84%肝切除のいずれの場合でも、ET単独静注群に比しPAF-Aを前投与した群では生存率が有意に改善した。またET単独投与群では血液凝固学的にも病理学的にもDICの所見を呈したが、PAF-Aの前投与により改善が認められた。また、ET投与後4-6時間後に起こる急激な血圧下降がPAF-Aの投与により予防された。

本研究によりラットの大量肝切除術後ET血症にみられる肝細胞壊死、DIC、循環不全などが

PAF-A を投与しておくことにより軽減することが明らかになった。敗血症患者や ET 投与動物では血中に高濃度の PAF が存在し、ショックの発生に関与していること、また或る種の PAF-A によりこれらが抑制されることは既に知られている。本研究によって肝切除術後に発生する ET 血症においても同様に PAF の関与と PAF-A により抑制されることがはじめて明らかにされた。

審査委員会では本研究は肝切除術後の合併症であるエンドトキシン血症が PAF-A の投与により予防可能であることを示し、今後の臨床応用への道を拓くものと高く評価した。

本論文の審査過程で次のような質疑が行われた。

- 1) 血中 PAF 濃度の測定は可能か
- 2) アセチルヒドラーゼは測定したか
- 3) PAF-A にはどのようなものがあるか
- 4) 本モデルにおけるショック（血圧下降）発生機序
- 5) PAF の作用機序
- 6) 肝切除術後 ET 血症が発症し易い理由
- 7) 生存曲線が 3 日目より 5 日の方が良くなる理由
- 8) 血小板 PAF receptor について
- 9) PAF-A 投与によりショックは著明に抑制されたが、DIC の抑制は比較的軽微であった理由
- 10) 肝切除の程度を 34%、70%、84% と決めた理由

これらの質問に対する申請者の解答はほぼ明確であり、本論文が博士（医学）の学位授与に値する内容を備えていると全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 寺 尾 俊 彦

副査 教授 金 子 榮 藏 副査 教授 高 田 明 和

副査 助教授 青 木 克 憲 副査 助教授 小 出 幸 夫