

学位論文の内容の要旨

氏 名

宗 内 巖

論文題目

The rare sugar D-allose has a reducing effect against ischemia-reperfusion injury on the rat abdominal skin island flap model

(論文要旨)

【目 的】

自然界に微量にしか存在しない希少糖は、希少糖誘導酵素 D-tagatose-3-epimelase の発見を契機としてその全てが体系化され(イズモリング)、これを設計図として応用し、D-プシコースや D-アロースなど一部の希少糖の大量生産技術が確立されている。その結果、希少糖研究が進み、様々な生理活性があることが報告された。今回実験に使用した D-アロースには、抗酸化作用があることが他臓器(脳や肝臓など)での実験で判明し、実用化が待たれる状態となっている。ただし、皮膚外科領域への効能は実証されていない。今回、ラットの腹部皮弁虚血再還流障害モデルで、その効果の検証を試みた。

【方 法】

[実験①] 皮弁虚血再還流障害抑制効果の確認とその発現濃度の検証

280-300g の健常 Wistar ラット腹部に下腹壁動静脈を茎とする島状皮弁 (3×5cm) を作成し、虚血開始 15 分前に種々の濃度の D-アロース (0.05, 0.1, 0.2, 0.5 mg/g 体重)、D-グルコース 0.2 mg/g、または生理食塩水を経静脈投与した。虚血は下腹壁動脈をクランプすることにより行い、8 時間の虚血を実施した。8 時間後に再還流を開始し、1 週間後における皮弁の生存面積を測定した (各グループ: n=15)。

[実験②] ヘマトキシリン染色および生化学的実証

0.2 mg/g の D-アロースまたは生理食塩水の前投与後、再還流させて 8 時間後に組織採取を行った。皮弁中央より皮膚切片 (1.5×1.5cm) を採取し、ヘマトキシリン染色による病理組織学的解析を行った。また、酸化ストレスマーカーとして、単球/マクロファージのマーカーであり酸化ストレスにより増加する ectodermal dysplasia-1 (ED-1) の免疫染色を行って陽性細胞の計測を行うとともに、好中球の myeloperoxidase (MPO) 活性を測定した (各アッセイ: n=10)。

【結果】

[実験①] 皮弁生存率（全皮弁面積に対する生存面積の割合）の各群間比較

D-アロース 0.1 mg/g : $75.87 \pm 5.90\%$, 0.2 mg/g : $79.27 \pm 7.81\%$, 0.5 mg/g : $77.87 \pm 6.20\%$ であり、0.2 mg/g D-グルコースの $53.73 \pm 10.57\%$ や生理食塩水の $50.53 \pm 9.66\%$ の生存率と比較して有意に高く、虚血再還流障害に対する D-アロースの抑制効果が確認された ($p < 0.05$)。一方、D-アロース 0.05mg/g では $62.47 \pm 0.12\%$ で、有意な差が見られなかった。

[実験②] HE 染色および酸化ストレスマーカー (ED-1 陽性細胞と MPO 活性) の 2 群間比較

HE 染色による病理組織学的解析では、D-アロースを投与した皮膚切片においては、生理食塩水のものに比べて白血球の数が少ない傾向にあった。ED-1 陽性細胞については、D-アロース投与群では 1 フラップあたり 78 ± 25.7 個が、生理食塩水投与群では 124 ± 15.8 個が確認され、D-アロース投与により減少傾向が認められた ($p = 0.08$)。また、MPO 測定については、D-アロース投与群で $0.40 \pm 0.04 \text{ mU/mg protein}$ の活性が、生理食塩水投与群では $0.72 \pm 0.12 \text{ mU/mg protein}$ の活性があり、D-アロースにより MPO の活性が有意に低下していた ($p < 0.05$)。

【考察】

D-アロースは、ラットの腹部皮弁を用いた虚血再還流障害モデルにおける組織障害を軽減し、生存面積の割合を高める働きがあることが証明された。その効果発現には、0.1 mg/g 以上の投与が必要と考えられた。抗酸化作用の機序としては、好中球活性の抑制と関係していることが示唆された。他の抗酸化剤と比べ、生体への安全性が高く環境にも優しいと言え、皮膚外科領域へも実用化（例えば、切断指や遊離皮弁などの組織保存液）が期待される。

掲載誌名	Journal of Surgical Research		第 183 巻, 第 2 号
(公表予定) 掲載年月	2013 年 8 月	出版社(等)名	ELSEVIER
Peer Review	有		無

(備考) 論文要旨は、日本語で 1,500 字以内にまとめてください。