

報告番号	香大医博乙 第 267号
------	--------------

学位論文審査の結果の要旨

平成 25 年 11 月 15 日

審査委員	主査	堀井 泰浩
	副主査	横見 瀬 裕保
	副主査	西山 成
申請者	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	
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 <input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)	

〔 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-epimerase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±5.90%, 0.2 mg/g : 79.27±7.81%, 0.5 mg/g : 77.87±6.20%であり、0.2 mg/g D-グルコースの53.73±10.57%や生理食塩水の50.53±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±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)。MPO測定については、D-アロース投与群で0.40±0.04mU/mg proteinの活性が、生理食塩水投与群では0.72±0.12 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。

指定論者から①レーザードップラー血流計による定量について②D-アロースの投与方法、審査員から③皮弁の壊死範囲④壊死細胞⑤酸化ストレスマーカー⑥経時的变化⑦臨床応用に際しての人体への投与量⑧細胞虚血プレコンディショニングなどについて質問があり、各々につき適切な回答が得られた。

本論文は、形成外科臨床における重要課題の一つである切断指の再接着から出発し、希少糖による細胞障害軽減に関する研究で、今後の臨床応用に向けて有意義で合格に値するものと判断した。

よって審査員は一致して本論文が医学博士の称号を授与するに相応しいものと認めた。

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

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。