

氏名(本籍)	まつ い ひろ ふみ (新潟県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第1018号		
学位授与年月日	平成4年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	自家蛍光と消化管病変 ——新しい診断法開発への基礎的検討—— (Dissertation形式)		
主査	筑波大学教授	医学博士	大塚 藤 男
副査	筑波大学教授	工学博士	大島 宣 雄
副査	筑波大学教授	医学博士	小形 岳三郎
副査	筑波大学教授	医学博士	添田 周 吾
副査	筑波大学助教授	理学博士	牧野 誠 夫

論 文 の 要 旨

〈目的〉

内視鏡の発達と普及に伴い消化管病変の診断と治療は近年格段の進歩を遂げている。しかし、早期胃粘膜病変の診断は必ずしも容易でなく、現在のところいまだ臨床的に確立された方法はない。一方、胃粘膜病変は自家蛍光を発することが知られている。さらに、近年、本邦における光学技術の進歩は著しく、鋭敏な微弱光側光装置が開発されている。そこで本研究では、ラット胃粘膜およびラット胃粘膜上皮由来培養細胞を傷害し、その発する微少蛍光を高度感知装置を用いて測定し、自家蛍光による胃粘膜病変早期診断の実験的基礎を確立すること、並びに蛍光発光機序を解析することを目的とした。

〈方法と結果〉

虚血再灌流ストレス、即ち虚血に伴う低血圧状態をある時期維持した後、血液を再灌流して血圧を正常に復帰させると、胃粘膜傷害が起こる。この動物実験で生じた急性胃粘膜病変はヒト胃粘膜病変のモデルとして現在広く用いられている。本研究では、新しく開発した実体蛍光顕微鏡システムを用い、虚血再灌流ストレスによって形成されたラット急性胃粘膜病変の発する微少自家蛍光を経時的に測定した。胃粘膜は虚血のみストレスでは自家蛍光を発しなかったが、再灌流後速やかに蛍光量が増加した。組織学的検討を併せ行くと、自家蛍光は傷害された胃粘膜組織に一致して存在すること、また、びらん、潰瘍に至らない軽度な粘膜傷害でも観察されることが明らかとなった。この自家蛍光発光現象はSOD (super oxide dismutase) 投与や、胃腔内酸環境を中性に保つことに

より抑制できた。また、病変部のメタノール抽出物の薄層クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー、蛍光分光解析法を用いた分析によって、蛍光物質にポルフィリン体およびフラビン類が含まれることを確認した。

次に、培養細胞を用いたin vitroの実験系において以下の実験を行った。まず、ラット胃粘膜上皮由来の培養細胞系(RGM1)を樹立し、この細胞にxanthineとxanthine oxidaseの反応後に生じる活性酸素によって細胞傷害を惹起し、発する自家蛍光について観察した。この結果、活性酸素障害によって培養細胞が自家蛍光を発すること、その自家蛍光は乳酸脱水素酵素が細胞外に逸脱する時期より早期に認められることを明らかにした。 H_2O_2 消去酵素であるcatalase投与によって、細胞傷害、自家蛍光発生ともに抑制された。これに対し O_2^- 消去酵素であるSOD投与は細胞傷害を抑制したが、自家蛍光をむしろ増加させた。

〈結 語〉

ラット胃粘膜病変の蛍光測光実験は胃粘膜早期病変を本方法が捉え得ることを示している。本方法が胃粘膜傷害の早期診断に応用できる可能性が示唆された。さらに、胃粘膜組織傷害に活性酸素が重要な役割を果たすこと、活性酸素による胃粘膜傷害は実験の胃腔内と同様の酸度の環境でないと起こらないことを確認した。

ラット胃粘膜上皮培養細胞傷害実験でも、傷害早期から蛍光を発することが確認され、動物実験と同様、本方法が細胞傷害度を測定する方法としても有用であることが明らかとなった。活性酸素による細胞傷害、自家蛍光の発生機序に H_2O_2 の代謝が関与する可能性が考えられた。

審 査 の 要 旨

本論文研究は、ラット胃粘膜およびラット胃粘膜上皮由来培養細胞を傷害し、その発する微少蛍光を高度感知装置を用いて測定し、自家蛍光による胃粘膜病変の早期診断の可能性と蛍光発光機序を解析したものである。本研究では、活性酸素によって傷害された胃上皮細胞が、その早期に微少蛍光を発することを示した点で高く評価できる。このことは微少蛍光を測定できる人体での測光システムを確立することによって、その臨床への応用が期待される。また、本研究で得られた次の2点、即ち、蛍光発光はhemeからFeの離脱、flavinの酸化によることを強く示唆する所見や、過酸化水素代謝が胃粘膜組織傷害に重要な役割を果たす所見も、胃粘膜病変の蛍光発光機序を考える上で重要なものである。これらの所見を得るため、付随する研究も充分行われており、本論文は博士(医学)学位に相当する論文と結論した。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。