

氏 名 石川 ゆうこ

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 博士甲第 868 号

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項

学位授与年月日 令和 2 年 3 月 1 0 日

学位論文題目 Deuterium oxide protects against myocardial injury induced by ischemia and reperfusion in rats

(重水はラット心臓において虚血再灌流傷害保護作用を有する)

審査委員 主査 教授 中川 義久

副査 教授 松浦 博

副査 教授 芦原 貴司

論文内容要旨

※整理番号	877	(ふりがな) 氏名	石川 ゆうこ
学位論文題目	Deuterium oxide protects against myocardial injury induced by ischemia and reperfusion in rats		
<p>【目的】</p> <p>動物実験において重水を加えた臓器保存液が従来の保存液に比してより強い保護効果を有することが近年報告された。このメカニズムとして重水の細胞内 ATP 減少抑制や酸素消費減少、細胞膜および細胞骨格の安定化作用などが示唆されている。こうした作用は in vivo でも in vitro 同様に低酸素や虚血再灌流による細胞傷害に保護的に働くと推察される。しかしながら高濃度重水を in vivo 標的臓器のみに投与し、同時にその効果を解析できる手法が限られていることから今まで十分な検討がなされていなかった。</p> <p>今回 in vivo 心筋における虚血再灌流時や低酸素時の細胞傷害に対する重水の効果について心臓マイクロダイアリシス法を用いて検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>心拍動化ラット左室心筋にダイアリシスファイバーを植え込み、一方からリンゲル液あるいは重水加リンゲル液を灌流し反対側から心筋透析液を採取した。30 分間の冠動脈閉塞と解除後 30 分間の透析液を 15 分毎に採取し、その透析液中のミオグロビン濃度を細胞傷害の指標として測定し以下の実験を行った。protocol 1: 重水の虚血心筋傷害に及ぼす影響を調べるためにリンゲル液 (vehicle 群) と重水加リンゲル液 (重水 20, 60, 80, 100%群) を灌流し 30 分間の冠動脈閉塞中の透析液ミオグロビン濃度を測定した。protocol 2: 虚血再灌流による心筋傷害に対する影響を調べる目的でリンゲル液と 60%重水加リンゲル液 (60%重水群) を灌流し 30 分間の冠動脈閉塞とその解除後 30 分間の透析液ミオグロビン濃度を測定した。protocol 3: 重水投与のタイミングによる影響を調べる目的で冠動脈閉塞解除直前に灌流液を 60%重水加リンゲル液に変更してミオグロビン濃度を測定した。Protocol 4: シアン化ナトリウム (NaCN) 投与による透析液ミオグロビン濃度応答に対する重水の影響を調べるために 60%重水加リンゲル液で灌流した際のミオグロビン濃度を測定した。</p> <p>【結果】</p> <p>Protocol 1: vehicle 群において 30 分間の冠動脈閉塞により 2516 ± 667 ng/mL</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

(閉塞 15-30 分) まで上昇した。このミオグロビン濃度上昇は 60%, 80%, 100% 重水群において濃度依存性に抑制された。protocol 2: 30 分間の冠動脈閉塞により透析液ミオグロビン濃度は上昇し、その後の冠動脈閉塞の解除でさらに急峻に上昇した (177 ± 45 (baseline), 3030 ± 1523 (閉塞 15-30 分)、 8588 ± 1684 ng/ml (解除後 0-15 分))。これらの上昇は 60% 重水群で有意に抑制された (197 ± 87 (baseline)、 1648 ± 345 (閉塞 15-30 分)、 4989 ± 987 ng/mL (解除後 0-15 分))。protocol 3: 冠動脈閉塞解除直前に 60% 重水を投与しても解除後のミオグロビン濃度上昇は抑制され冠動脈閉塞直前より投与した群と同程度であった。protocol 4: NaCN 投与により vehicle 群のミオグロビン濃度は 221 ± 68 ng/ml (baseline) から 1214 ± 279 ng/ml (投与後 30-45 分) まで上昇した。この濃度上昇は 60% 重水群において有意に抑制された (245 ± 36 ng/ml (baseline), 478 ± 129 ng/ml (投与後 30-45 分))。

【考察】

本研究では虚血再灌流や低酸素がもたらす心筋傷害に対する重水の効果を *in vivo* 心臓マイクロダイアリス法を用いて初めて検証した。30 分間の冠動脈閉塞によりベースラインの約 10 倍のミオグロビン濃度上昇が見られ、この上昇は重水により濃度依存性に抑制された。この透析液ミオグロビン濃度上昇は虚血中に起こった心筋線維膜傷害によって生じた不可逆的損傷により心筋間質へ逸脱した結果であり、重水は冠動脈閉塞 15-30 分における細胞膜傷害を抑制したと考えられる。

冠動脈閉塞により血流が途絶えると虚血傷害が生じ、再度血流が回復する場合にはエネルギー供給が再開されるにも関わらず臓器障害が惹起される。本研究では重水を虚血前から投与しておくことで虚血のみならず再灌流時のミオグロビン濃度上昇も抑制した。さらに再灌流直前の重水投与であっても抑制効果に差は認められなかった。再灌流傷害は先行する虚血の影響を受けるため虚血時から重水を投与することで再灌流時のミオグロビン濃度上昇を抑制すると考えていたが、本結果では再灌流傷害そのものにも重水は有効であった。こうした効果は心筋梗塞に対する経皮的冠動脈形成術後や人工心肺下心臓手術後などの血流再開時点の投与にも応用できると考えられる。

また、NaCN の局所投与により透析液ミオグロビン濃度は上昇し、この上昇は重水により抑制された。NaCN はミトコンドリアのチトクロム C を阻害し ATP 産生を減少することで細胞傷害を誘引することから、重水の心筋保護効果には ATP 減少抑制が関与している可能性がある。

【結論】

In vivo ラット心筋において重水は虚血傷害、再灌流傷害、化学的低酸素による傷害に対して保護効果を有することが示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	877	氏名	石川 ゆうこ
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) ※明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと</p> <p>本論文は、in vivo ラット左室心筋における虚血再灌流時や低酸素時の心筋細胞傷害に対して、重水のもつ心筋保護作用について検討したものである。マイクロダイアリス法を用いて心筋間質内ミオグロビン濃度を測定し、虚血・再灌流・シアン化ナトリウムによる化学的低酸素に対する重水の効果について実験・解析を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none">1) 重水は虚血時の透析液ミオグロビン濃度上昇を抑制する。これは、重水は虚血による細胞傷害を抑制することを示唆する。2) 重水は虚血直前から投与しても、再灌流直前に投与しても、透析液ミオグロビン濃度上昇を抑制する。これは、重水は虚血による再灌流傷害を抑制することを示唆する。3) 重水はシアン化ナトリウム局所投与による透析液ミオグロビン濃度上昇を抑制する。これは、化学的低酸素による細胞傷害を抑制することを示唆する。4) 以上から、重水はラット心臓での虚血再灌流モデルにおいて保護効果を有する可能性があり、心臓手術中の心筋保護などの臨床面への展開の可能性があることが考察された。 <p>本論文は、重水によるラット心臓での虚血再灌流障害保護作用について新たな知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 553 字)</p> <p style="text-align: right;">(令和2年 1月27日)</p>			