



冠動脈結紮後再灌流時における心筋ミトコンドリア内フリーラジカルの変動

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小澤, 一仁 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/915

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	医博第 62号	学位授与年月日	昭和63年 3月25日
氏 名	小 澤 一 仁		
論文題目	冠動脈結紮後再灌流時における心筋ミトコンドリア内フリーラジカルの変動		

論文の内容の要旨

虚血後再灌流により、虚血部心筋の障害が逆に増悪したり、心室細動などの重症不整脈を誘発することが知られている。最近、このような再灌流障害の発生要因の1つとして活性酸素ラジカルの関与が考えられている。しかし従来の報告の多くは種々のラジカル消去剤の効果から間接的に推論されたもので、直接心筋内フリーラジカル(FR)を測定した成績は少ない。そこで、今回我々は、電子スピン共鳴法(ESR)を用い、虚血再灌流後における心筋ミトコンドリア(Mt)内FRの変動を測定し、FRと心室細動発生との関係並びに再灌流不整脈の発生に対するLysosomal Superoxide Dismutase(L-SOD)の予防効果について検討した。

〔方法〕(1) 雑種成犬の左冠動脈前下行枝第1対角枝分岐部直下を結紮し、虚血15分後に再灌流し、30秒、1分、5分後に心摘出したものを虚血再灌流群とした。

(2) 虚血前15分よりL-SOD 3万U/kg/hを左心房内に持続投与し、15分虚血後5分再灌流にて心摘出したものをSOD群とし、生理食塩水を投与したものを非SOD群とした。また再灌流後心室細動を生じたものを心室細動発生群とした。

(3) 虚血部、再灌流部、非虚血部心筋より香川らの方法にてMtを分離、直ちに液体窒素にて凍結し、Mt内FR量を、 -150°C にて日本電子社製ESR装置を用い測定した。なおESR signalのIntensityを蛋白補正したものをRelative Intensity(R.I.)とした。

〔結果〕① 非虚血部、虚血部、再灌流部の心筋Mtにおいて、いずれも $g=2.005$ の位置にESR signalを観察した。② 虚血再灌流群における再灌流部心筋MtのFRは再灌流後30秒で 0.82 ± 0.05 、1分で 0.94 ± 0.11 と虚血群における虚血部心筋MtのFRの 0.48 ± 0.05 に比し有意に高値を示した。③ 心室細動発生群の再灌流部心筋Mt内FRは 1.50 ± 0.18 と非発生群の再灌流後30秒の 0.82 ± 0.05 、再灌流後1分の 0.94 ± 0.11 に比較し有意に高値を示した。④ L-SOD群の心室細動発生率は12例中1例(8%)、非投与群の19例中9例(47%)に比し有意に低値を示した。⑤ L-SOD投与により再灌流30秒後、1分後の心筋Mt内FRのR.I.はそれぞれ 0.35 ± 0.05 、 0.38 ± 0.05 と虚血再灌流群の30秒後の 0.82 ± 0.05 、再灌流1分後の 0.94 ± 0.11 に比しいずれも有意に低値を示した。

〔考察〕本研究において、心室細動発生は全例再灌流後1分以内に発現した。再灌流後30秒及び1分後の再灌流部心筋Mt内FRのR.I.は、15分虚血後の虚血部心筋Mt内FRのR.I.に比し有意に高値を示し、また虚血再灌流後に心室細動の発現をみた心室細動発生群は、心室細動非発生群に比し、FRの有意な増加をみると、ラジカルの増加量と心室細動発生との間に関連性がみとめられた。また、L-SOD投与により再灌流部心筋Mt内FRは再灌流30秒及び1分で非投与群に比し有意に低値を示した。

〔総括〕虚血後再灌流時にみられる不整脈の発生要因としてFR増加の関与が考えられ、虚血/再灌流時の心筋細胞障害、再灌流不整脈の予防、治療にL-SODの有効性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

心臓への血流を冠動脈結紮によって遮断する虚血とそれに引続く血流再開即ち再灌流の過程においてはしばしば組織壊死、再灌流障害としての心筋機能の障害、再灌流不整脈である心室性頻拍、心室細動などの現象が現れる。そしてこの過程は循環器障害の分野における重要な研究対象の一つである。

虚血一再灌流時における心筋障害の原因の一つに活性酸素が挙げられ、その役割について最近広く研究が進められてきているが、現在迄の研究は活性酸素消去剤の利用により間接的に推論されているものが多い。

活性酸素種の多くは不対電子を有しており、これを直接観測できる分光学的手法として電子スピン共鳴(ESR)がある。申請者らは早くから循環器障害研究のためのESR分光学的応用について着目し、疾患に関与する活性種の直接観測を目的として様々な実験を重ねてきた。

本論文で申請者は成犬の虚血、再灌流過程における心筋ミトコンドリア内フリーラジカル種の観測にES

R分光光学を適用し、分画したミトコンドリアの液体窒素温度におけるラジカル種の追跡を行った。更に活性酸素消去剤L-SOD (Liposomal Superoxide Dismutase) の虚血前投与による心筋障害への影響をESRスペクトルに対応させて観察した。

その結果、

- 1 非虚血部、虚血部、再灌流部心筋ミトコンドリアにおいて、強度は異なるが、共通したシグナルが $g = 2.005$ に観測された。
- 2 再灌流後のシグナル強度は虚血部より明らかに増加している。
- 3 心室細動を発生したもののシグナルは更に強度が増加している。
- 4 L-SOD 虚血前投与の場合、再灌流後のシグナルは投与しない場合に比べて明らかに強度が低い。

等の実験結果が得られた。これらの結果から観測に成功した心筋ミトコンドリア内のラジカル種は明らかに酸素の供給、遮断に関係するものであり、虚血、再灌流過程における疾患状況の把握と予防、生体内の活性酸素種の挙動に関する研究に有力な情報を提供するものであることが提示された。

以上の論文内容について次の試問がなされた。

- 1 研究手法の選択、ESR以外の方法との比較について
- 2 虚血時の生体内変化はどのような現象として出現するか
- 3 心筋障害に関係する物質移動の研究について
- 4 観測したラジカル種の帰属について
- 5 ミトコンドリアの分画操作、測定操作とラジカルの寿命について
- 6 虚血時間の影響、再灌流後のラジカルのシグナル強度の変化について
- 7 ミトコンドリアにおける酸化還元、電子移動に関する定量的評価法について
- 8 スーパーオキシドの生成機構との関係について
- 9 過酸化脂質とラジカルについて
- 10 心筋の温度とラジカル種との関係について
- 11 ミトコンドリアにおけるラジカル種の生成、減少の機構について
- 12 臨床への応用について

更に試問の結果に関連し、提出論文の記載事項、体裁等について改善点が指摘され、改訂を今後行い、その過程の終了を待って審査結果を提出することとした。その後、審査員全員が改訂事項を確認した。

試問の諸点に関する申請者の解答は学位授与に値する水準に達しており、その結果、本研究論文を学位授与に値するものと全審査員が判定した。

論文審査担当者	主査	教授	藤	瀬	裕			
	副査	教授	藤	田	道也	副査	教授	南 方 陽
	副査	助教授	原	田	幸雄	副査	助教授	平 光 忠久