

医論136

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論文題目

Beneficial effect of tetrahydrobiopterin on ischemia-reperfusion injury in isolated perfused rat hearts

(摘出灌流ラット心での虚血-再灌流傷害に対するテトラヒドロ
ピオプテリンの良好な効果)

氏名 山根 聡



(目的) 近年、一酸化窒素 (NO) 合成酵素は、その cofactor である tetrahydrobiopterin (BH_4) が不足すると、NO 産生の代わりに superoxide などの活性酸素の産生を引き起こすことが示されており、このような現象が様々な循環器疾患、例えば高血圧症、糖尿病、高コレステロール血症などの血管内皮機能障害の発現に関与すると考えられている。しかしながら、心筋の虚血-再灌流時に BH_4 がどのような役割を有するのかについては調べられていない。そこで、虚血-再灌流心筋傷害に対する BH_4 の影響を明らかにするため、本研究では摘出ラット灌流心を用いて検討を加えた。

(方法) 雄性 Sprague-Dawley ラット摘出灌流心を $37^{\circ}C$ 、30 分間の虚血後 30 分間再灌流した虚血群と、虚血を行わない非虚血群の 2 群に分け、それぞれの群に BH_4 (0.6 あるいは 1.25 mg/ml) あるいは溶媒 (Krebs-Henseleit 液) を虚血前 5 分間及び再灌流後 5

分間投与してその効果を観察した。さらに、虚血群では、対照薬として既知の抗酸化薬である superoxide dismutase(SOD)と catalase の混合溶液、及び今回用いた BH₄ と同程度の抗酸化作用を示す量のアスコルビン酸を投与してそれぞれの効果を検討した。なお、心機能の指標としては左室圧、左室拡張末期圧、左室圧一次微分、冠灌流量を測定し、心筋エネルギー代謝及び心筋組織傷害の指標としては心筋組織中の ATP、クレアチンリン酸、無機リン、心筋過酸化脂質量、及び灌流液中乳酸脱水素酵素(LDH)量を測定した。また、NOの指標として灌流液中の NO_x 量を測定した。




(結果) 虚血溶媒投与群において、心機能は虚血直後著明に低下し、再灌流後もほとんど改善しなかった。このような再灌流後の心機能障害に対して BH₄ は濃度依存的に有意な改善効果を示した。また、BH₄ は虚血-再灌流による心筋 ATP 及びクレアチンリン酸

量の低下、ならびに心筋過酸化脂質量と灌流液中 LDH 量の増加を抑制した。同様な改善効果が SOD/catalase 群でも認められたが、アスコルビン酸群では認められなかった。さらに、BH₄により、虚血後の灌流液中 NO_x 量の減少が抑制されたのに対し、SOD/catalase 群及びアスコルビン酸群では NO_x 量に対する BH₄ 投与の影響はみられなかった。なお、非虚血心では今回用いた量の BH₄ ではいずれのパラメータにも全く影響しなかった。

(結論) BH₄ は、非虚血心に対して明らかな作用を示さない濃度で摘出ラット灌流心の虚血-再灌流傷害を有意に軽減させた。この結果から、BH₄ は虚血性心疾患や心移植時の心筋保護に有効である可能性が考えられた。

論文審査結果の要旨

(1)

報告番号	課程博 * 論文博	第 号	氏名	山城 聡
論文審査委員	平成 14年 4月 23日			
	主査教授	高須 信行		印
	副査教授	龍 下 修一		印 
	副査教授	小杉 忠誠		印 

(論文題目)

Beneficial effect of tetrahydrobiopterin on ischemia-reperfusion injury in isolated perfused rat hearts

(論文審査結果の要旨)

上記論文に対し、研究の背景と目的、論文の内容とその学術的水準、研究成果の意義について慎重に審査し、次のような審査結果を得た。

1. 研究の背景と目的

一酸化窒素 (NO) 合成酵素は、その必須 cofactor である tetrahydrobiopterin (BH₄) の不足時には、NO 産生の減少だけでなく superoxide 産生の増加を引き起こすことが知られている。最近、このような BH₄ 欠乏に起因する NO 合成酵素の異常が、種々の循環器疾患や虚血-再灌流に伴ってみられる血管内皮細胞機能障害に関与することが示唆されている。しかし、心筋の虚血再灌流時における BH₄ の役割については未だ調べられていない。本研究は、虚血-再灌流心筋傷害に対して BH₄ がどのような影響を与えるのかについて摘出ラット灌流心を用いて検討したものである。

2. 論文の内容とその学術的水準

- 1) 非虚血心においては、BH₄ 投与群及び溶媒投与群の両群間で測定した心機能、心筋エネルギー代謝及び灌流液中の NO_x 量のいずれにも有意な差を認めなかった。
- 2) 虚血心の溶媒投与群では、心機能が虚血直後著明に低下し、再灌流後もほとんど改善しなかった。さらに、虚血-再灌流により、心筋 ATP 量とクレアチンリン酸量の低下、心筋過酸化脂質量の著明な増加と灌流液中の乳酸脱水素酵素 (LDH) 量の増加が認められた。また、虚血後の灌流液中 NO_x 量は著明に減少した。
- 3) 一方、虚血心の BH₄ 投与群では冠灌流量を除き濃度依存的に再灌流 30 分後の心機能が著明に改善した。さらに、BH₄ は虚血-再灌流による心筋 ATP 量とクレアチン

論文審査結果の要旨

(2)

リン酸量の低下、心筋過酸化脂質量の増加を抑制し、再灌流後の灌流液中の LDH 量増加も有意に抑制した。また、BH₄ 投与は、虚血後の NOx 量の減少を有意に抑制した。

- 4) SOD/catalase (superoxide dismutase と catalase を混合したもの) は虚血-再灌流による心機能障害を改善し、心筋 ATP 量とクレアチンリン酸量の低下および心筋過酸化脂質量の増加を抑制した。再灌流後の灌流液中の LDH 量の増加も有意に抑制したが、虚血後の灌流液中 NOx 量の減少は抑制しなかった。
- 5) 今回使用した量の BH₄ と同程度のラジカル消去能を有する量のアスコルビン酸は虚血-再灌流による変化に対し有意な効果を示さなかった。

以上の内容は、BH₄ が虚血-再灌流心筋傷害に対して改善効果を発揮することを実験的に立証したものであり、その研究成果は学術的に高水準にあるものと判断される。

3. 研究成果の意義

開心術では cardioplegia による心停止の後、再灌流が必ず行われる。近年、虚血領域で産生されるフリーラジカルが心筋細胞や内皮細胞の脂質過酸化反応を惹起し、心筋細胞傷害や微小循環不全を増悪させることで、心筋壊死の成立に関与する可能性が示唆されている。これらの知見から、心臓外科手術においても、虚血-再灌流傷害を軽減することは重要な意義をもつと考えられる。

今回の実験より、BH₄ は、摘出ラット灌流心において非虚血心への明らかな作用を示さない濃度で、虚血-再灌流傷害を軽減させることが立証された。

本論文において著者らは、この BH₄ の虚血-再灌流傷害抑制効果の機序として、BH₄ 自体のフリーラジカル消去作用は重要ではなく、NO 合成酵素を介した NO 産生増加作用、あるいは活性酸素産生の抑制が関与する可能性を示唆している。

本研究は、BH₄ という NO 合成酵素の cofactor に注目して虚血-再灌流心筋傷害における改善効果を明らかにしており、この研究成果は基礎医学的のみならず臨床医学的にも意義あるものとなっている。

以上の結果から、本研究は学位授与に十分値する内容であると判断した。