

氏 名	やま ざき かず ひろ 山 崎 和 裕
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 3123 号
学位授与の日付	平 成 19 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Prevention of myocardial reperfusion injury by poly (ADP-ribose) synthetase inhibitor, 3-aminobenzamide, in cardioplegic solution: in vitro study of isolated rat heart model (ポリ (ADP-リボース) シンテターゼ阻害薬 (3-aminobenzamide) 添加心筋保護液の心筋虚血再灌流障害抑制効果の研究) (主 査)
論文調査委員	教 授 淀 井 淳 司 教 授 野 間 昭 典 教 授 横 出 正 之

### 論 文 内 容 の 要 旨

背景) 心臓手術では心筋保護液を心臓に灌流させ、人為的に心停止させることで行われている。この間心筋は虚血状態となっており酸素不足から心機能低下を招くことが多い。また心筋保護液を間歇的に投与する場合、かならず虚血再灌流障害が発生する。Poly (ADP-ribose) synthetase inhibitor (以下 PARS 阻害薬) は虚血再灌流傷害を軽減し、その機序として酸化傷害に関連したエネルギー損失抑制にあると考えられている。今回 PARS 阻害薬の一つである 3-aminobenzamide (以下 3-AB) を心筋保護液に添加することで、心停止後の再灌流傷害を抑えられるか検討を行なった。

方法) 雄 SD ラットの心臓を麻酔下に摘出し、速やかにランゲンドルフ灌流をおこなった。20 分間の平衡化の後、心筋保護液として 3-AB (100  $\mu$ mol/l: 3-AB (+) 群, n=8) 添加 St.Thomas 液、と St.Thomas 液 (3-AB (-) 群, n=8) にて灌流させ心停止を得た。以後 30 分毎に追加投与を行い 90 分の心停止の後、再灌流を開始した。この間心停止直前と再灌流後 5 分、20 分に左心機能を測定し比較した。同時に心灌流液を採取し心筋逸脱酵素測定を行なった。再灌流終了後、心筋細胞内 NAD<sup>+</sup>濃度測定を行い、酸化ストレスについて 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) に対する抗体を用いて、またアポトーシスについても TUNEL 法を用いて、免疫組織学的検討を行った。また麻酔後摘出した心臓に対して心筋細胞内 NAD<sup>+</sup>濃度と 8-OHdG の測定を、虚血再灌流傷害を受けていない対照 (NC 群) として比較検討した。

結果) 再灌流後の左室機能は心拍数、冠血流量には 2 群間に差は認めなかったが、+dp/dt は 3-AB (+) 群が 3-AB (-) 群に比べ有意に高く (3-AB (+) vs. 3-AB (-) : 5min; 2083 $\pm$ 419 vs. 1274 $\pm$ 404, p<0.01, 20min; 1484 $\pm$ 335 vs. 1114 $\pm$ 276, p<0.05, mmHg/sec) 心収縮力は保たれていた。心筋逸脱酵素では、GOT 値は再灌流 5 分値が 3-AB (+) 群において低かった。CPK 値も再灌流時を通して有意に 3-AB (+) 群が低値であり (3-AB (+) vs. 3-AB (-) : 5min; 1.34 $\pm$ 0.66 vs. 2.10 $\pm$ 0.78, p<0.05, 20min; 0.17 $\pm$ 0.05 vs. 0.55 $\pm$ 0.28, p<0.01, IU/min)、細胞傷害は抑えられていた。再灌流後の NAD<sup>+</sup>濃度は 3-AB (-) 群で NC 群の約 26% に低下 (3-AB (-) vs. NC: 0.21 $\pm$ 0.05 vs. 0.80 $\pm$ 0.02, p<0.001,  $\mu$  Mol/g) していたが、3-AB (+) 群では有意に保持していた (3-AB (+) vs. 3-AB (-) : 0.72 $\pm$ 0.11 vs. 0.21 $\pm$ 0.05, p<0.01)。組織学的検討では、核の酸化障害の指標である 8-OHdG index において 3-AB (-) 群が 3-AB (+) 群や NC 群と比較して有意に高く (3-AB (+) vs. 3-AB (-) vs. NC: 36.3 $\pm$ 7.2 vs. 91.2 $\pm$ 25.0 vs. 7.6 $\pm$ 1.6, p<0.01)、3-AB (+) 群は酸化傷害抑制効果を認めた。TUNEL 法では 3-AB (-) 群に多くのアポトーシス細胞を認めた。

結語) PARS 阻害薬添加心筋保護液は、虚血再灌流時の酸化ストレスから心筋を保護し、心筋内エネルギーを温存することで、再灌流後の良好な心機能を維持することが認められた。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

心臓外科手術は主に心筋保護液により心停止を得ておこなわれる。従来的心筋保護液では虚血再灌流障害により心筋保護

が十分でない症例も認めるため、より保護効果の高い心筋保護液が期待されている。

本論文ではポリ（ADP-リボース）合成酵素阻害薬 3-アミノベンザマイド（3-AB）添加心筋保護液を作成しラット摘出心ランゲンドルフ灌流モデルに投与し虚血-再灌流に対する心筋保護効果を解析したところ、3-AB 添加群で従来の心筋保護液のみの群に比べ  $dp/dt$  改善、心筋逸脱酵素減少、再灌流後標本の酸化障害軽減、心筋 NAD<sup>+</sup>の保存（何れも有意）、アポトーシスの抑制を認めた。

3-AB の心筋保護作用の分子機構としては、DNA 修復阻害による細胞内 NAD<sup>+</sup>を保存することで発揮されると考えられたが、それだけでは本実験における現象を十分には説明できない事も認識され、酵素阻害による他の作用機序存在の可能性が示唆された。その後ポリ（ADP-リボース）合成酵素に関する研究では、酵素活性がミトコンドリアを介してアポトーシスに関与している事も明らかになってきており、この新しい知見は本研究の結果を支持している。

本論文は酵素阻害薬を用いた心筋保護液研究として最初に発表されたものであり、開心術における心筋保護の有効性を提示するものである。

したがって、本論文は、博士（医学）の学位論文として、学術的価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は平成 19 年 1 月 29 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。