

ウサギ虚血心の reperfusion injury に対する superoxide dismutase の抑制効果

城谷 均 井上 知 松本光史

近畿大学医学部心臓外科学教室

Key words: isolated rabbit heart, reperfusion injury, superoxide dismutase, ^{31}P -NMR

緒 言

近年、虚血心筋の保護に関して虚血後の再灌流に伴って細胞障害が増強する現象、いわゆる再灌流障害が注目され、その主因として、酸素由来のラジカルが重要視されている¹。本研究は、oxygen radical のスカベンジャーである superoxide dismutase (SOD) の虚血後再灌流障害の防止に対する有効性とその限界について検討を行ったものである。

材料と方法

pentobarbital 50 mg による全身麻酔下でのウサギの摘出心を ^{31}P -NMR spectrometer 内において O_2 95%, CO_2 5% の混合気を通気した Krebs-Henseleit (K-H) bicarbonate buffer を用いて 37°C , 100 cmH_2O の落差で灌流し、それによって得られた spectrum の面積から inorganic phosphate (Pi), creatine phosphate (CrP), adenosine triphosphate (ATP) の虚血前値に対する相対量を測定した。細胞内 pH は CrP を基準とした Pi の chemical-shift から Jacobus らの式²によって求めた。組織中過酸化脂質の測定はチオバルビツール酸 (TBA) 法³により行い、タンパク含量当たりの過酸化脂質量 (nmol/mg protein) として表した。SOD は N 末端アラニンが非アセチル体である以外は天然型ヒト Cu, Zn-SOD と同一である日本化薬社ヒト・スーパーオキシド・ディスムターゼ (開発記号 NK341) を使用した。データはすべて平均値 \pm 標準誤差で表した。

実験プロトコール: SOD 使用群 5 例, 対照群 (SOD 非使用) 5 例から形成されるグループを、虚血時間によって 4 群に設定した。I 群: 60分, II 群: 45分, III 群: 30分, IV 群: 15分の常温 (37°C) 阻血を行い、阻血の後、対照群では阻血前と同様に K-H buffer による灌流を再開した。SOD 使用群では再灌

流時に SOD 60,000 IU を bolus に注入した後、SOD を 100 IU/ml の濃度で含む K-H buffer で同様に灌流を再開した。再灌流後 15分, 30分, 60分の各群の NMR spectrum を測定した。

結 果

1. Pi は、虚血により著しく増加したのち再灌流とともに減少し、その後緩やかに漸増傾向を示した。SOD 使用の有無において各群間に有意差は認められなかった。

2. CrP は、虚血により、測定不能レベルにまで低下したのち、すべてのグループで再灌流 15分後にはほぼ虚血前値に回復した。以後若干の overshoot を示しながら、その後ほとんど変化なく経過した。SOD 使用の有無において各群間に有意差は認められなかった。

3. ATP は阻血後経時的に漸減し、阻血 30分後には $41.1 \pm 3.0\%$ 、60分後には $14.1 \pm 3.4\%$ にまで低下した。再灌流後の回復は、図 1 に示すように、15分, 45分, 60分の阻血群では、SOD 投与による差は認められなかった。しかし、阻血 30分群においては SOD 使用群が再灌流 30分後で $62.8 \pm 2.8\%$ となり、非使用群の $44.2 \pm 7.2\%$ に比べ有意に良好な回復を示した。また、再灌流 60分後においても同様 SOD 使用群は $66.1 \pm 4.8\%$ と非使用群の $43.2 \pm 6.0\%$ に比べ有意に良好な回復を示した。

4. pH は、虚血時間の長いグループほど細胞内 pH の回復に時間がかかる傾向が認められたが、いずれのグループにおいても、再灌流 30分後にはほぼ虚血前の値に回復し、SOD 使用の有無において各群間に有意差は認められなかった。

5. 組織中過酸化脂質は阻血 30分群で SOD 非使用群 0.314 ± 0.067 nmol/mg protein に対して SOD 使用群では 0.226 ± 0.015 nmol/mg protein と有意に減少し、45分, 60分群においても有意差は認めら

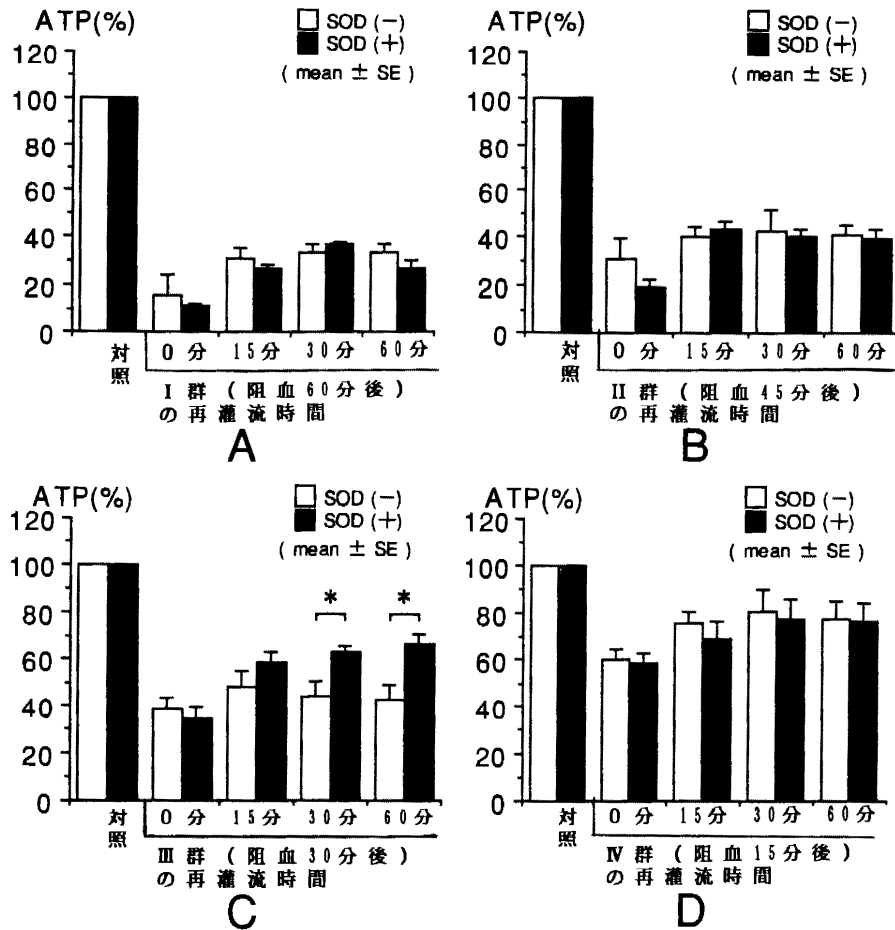


図1 再灌流時の細胞内ATP量の推移

れないものの、SOD 使用群が低値を示す傾向が認められた。

考 察

虚血後再灌流によって発生した活性酸素ラジカルから連鎖的に生成された過酸化脂質は細胞膜の流動性を低下させ、また、膜構造の破綻によりその透過性を著しく亢進させる。活性酸素のスキャベンジャーである SOD はこの細胞膜脂質の過酸化を減少させることにより、細胞膜の透過性亢進を抑制する。その結果、ATP 生成の基質であるヌクレオチドの流出を抑制し、虚血再灌流後の心筋内 ATP 含量の回復を促進すると考えられる。したがって、SOD の

投与は、従来の心筋保護法では十分な成績の得られないような重症例において虚血後再灌流障害を抑制し、予後の改善に有効である可能性が示唆された。

文 献

1. Simpson PJ, Lucchesi BR. Free radicals and myocardial ischemia and reperfusion injury. *J Lab Clin Med* 1987; 110: 13-30.
2. Jacobus WE, Pores IH, Taylor GJ, Nunnaly RL, Hollis DP, Weisfeldt ML. Tight coupling of intracellular pH and ventricular performance. *J Mol Cell Cardiol* 1978; 10: 39.
3. Yagi K. A simple fluorometric assay for lipidperoxide in blood plasma. *Biochem Med* 1976; 15: 212-216.