

論文内容の要旨

【目的】

近年、心筋の虚血再灌流障害における $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交換や、 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交換の役割が注目されている。そこで、ラット摘出心における再灌流モデルで、最近合成された $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交換機構阻害薬である KB-R9032 の再灌流不整脈に及ぼす影響について検討した。

【対象及び方法】

雄性ウイスターラット（生後 10 週、 $n=60$ 、各群 12、270~310g）の心臓を摘出し、ランゲンドルフ法による 100cmH₂O の定圧灌流を行った。灌流液には、95% O₂+5% CO₂ の混合ガスを通気した Krebs-Henseleit（以下 KH）液を用い、KB-R9032 は KH 液に溶解させて投与した。KB-R9032 の濃度は $1 \times 10^{-7} \text{mol/l}$ 、 $1 \times 10^{-6} \text{mol/l}$ 、 $1 \times 10^{-5} \text{mol/l}$ の 3 濃度とし、KH 液のみ灌流したものをコントロール群（以下 C 群）として計 4 群に分類した。局所心筋虚血は左冠状動脈前下行枝の結紮により作成し、再灌流はこの結紮の解除によって行った。実験はまず KH 液のみで 10 分間好氣的灌流を行った後、KB-R9032 を溶解した KH 液で 10 分間好氣的灌流を行い、11 分間の局所心筋虚血、3 分間の再灌流を行った。全経過を通じて心電図をモニタリングし、虚血再灌流障害は、心室細動（以下 VF）の発現頻度、及び持続時間で評価した。

【結果】

再灌流時における VF 発現頻度は C 群：91.7%、 $1 \times 10^{-7} \text{mol/l}$ 群：75.0%、 $1 \times 10^{-6} \text{mol/l}$ 群：42.9%、 $1 \times 10^{-5} \text{mol/l}$ 群：6.7%であった。C 群と比較して KB-R9032 投与群全てにおいて濃度依存的に、VF 発現率および VF 持続時間の減少が認められ、再灌流不整脈を抑制した。

【考察】

本実験で $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交換機構阻害薬の KB-R9032 が再灌流性不整脈を抑制した機序としては、再灌流で再開する $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交換を抑制することによって、 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交換による再灌流時の心筋細胞内 Ca^{2+} の上昇が抑えられたためであると考えられる。より高い親水性を持つ $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交換機構阻害薬として開発された KB-R9032 は治療薬として応用できる大きな可能性を持つものと期待される。

【結論】

KB-R9032 はラット摘出心における虚血再灌流モデルで、再灌流不整脈を抑制する。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2004年9月 日 公 表	出版物名 Journal of Anesthesia Vol.18 No.3
	公 表 内 容	2004年9月 日 発 行
	全 文	

氏 名	おのの 野 稔
学位の種類	博 士 (医学)
学位記番号	医 第 8 6 2 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	KB-R9032, Newly Developed Na^+/H^+ Exchange Inhibitor, Attenuates Reperfusion-induced Arrhythmias In Isolated Perfused Rat Heart. ($\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交換機構阻害薬 KB-R 9032 の再灌流性不整脈に及ぼす影響)
論文審査委員 (主 査)	教授 古 賀 義 久
(副主査)	教授 東 野 英 明
(副主査)	教授 佐 賀 俊 彦

論文審査結果の要旨

【目的】

心筋の虚血再灌流障害発生の成因として、虚血再灌流時の心筋細胞内 Ca^{2+} のオーバーロードが大きな役割を担うことが明らかとなっている。しかし、この Ca^{2+} オーバーロードを引き起こすメカニズムついて、最近では心筋の虚血再灌流時における $\text{Na}^{\text{-}}\text{-H}^{\text{'}}$ 交換機構や $\text{Na}^{\text{-}}\text{-Ca}^{2+}$ 交換機構の役割が注目され始めており、それぞれのイオン交換をどのようにコントロールすれば Ca^{2+} オーバーロードを抑制できるかを目的として $\text{Na}^{\text{-}}\text{-H}^{\text{'}}$ 交換機構阻害薬や $\text{Na}^{\text{-}}\text{-Ca}^{2+}$ 交換機構阻害薬に期待が寄せられている。そこで、ラット摘出心における虚血再灌流モデルにおいて、新たに開発された $\text{Na}^{\text{-}}\text{-H}^{\text{'}}$ 交換機構阻害薬であるKB-R9032の再灌流不整脈に及ぼす影響を明らかにする目的で本研究を行った。

【方法】

雄性ウイスターラット（生後 10 週、 $n=48$ 、各群 12、270–310g）の心臓を摘出し、ランゲンドルフ法による 100cmH₂O の定圧灌流を行った。灌流液には、95% O_2 +5% CO_2 の混合ガスを通気した Krebs-Henseleit（以下 KH）液を用い、KB-R9032 は KH 液に溶解させて投与した。KB-R9032 の濃度は 1×10^{-7} mol/l、 1×10^{-6} mol/l、 1×10^{-5} mol/l の 3 濃度とし、KH 液のみ灌流したものをコントロール群（以下 C 群）として計 4 群に分類した。局所心筋虚血は左冠状動脈前下行枝の結紮により作成し、再灌流はこの結紮の解除によって行った。実験はまず KH 液のみで 10 分間好氣的灌流を行った後、KB-R9032 を溶解した KH 液で 10 分間好氣的灌流を行い、11 分間の局所心筋虚血、3 分間の再灌流を行った。全経過を通じて心電図をモニタリングし、虚血再灌流障害は、心室細動（以下 VF）の発現頻度、及び持続時間で評価した。

【結果】

心拍数の変化は各群において有意差がなかった。
冠灌流量の変化は各群において有意差がなかった。
C 群と比較して KB-R9032 投与群すべてにおいて VT の発現率は低下する傾向がみられ、VT 持続時間を短縮した。
C 群と比較して KB-R9032 投与群すべてにおいて濃度依存的に、VF 発現率および VF 持続時間の減少が認められ、再灌流不整脈を抑制した。

【考察】

現在までに、 $\text{Na}^{\text{-}}\text{-H}^{\text{'}}$ 交換機構阻害薬として種々の薬効が報告されてきた。しかし、これらの多くは親水性が低いため、広く治療薬として応用できる可能性には乏しかった。そこで、さらに高い親水性を目指して開発された薬物のひとつが、本研究で使用した KB-R9032 である。このシリーズの薬物には多くの光学異性体や反応基の亜種が存在するが、なかでも KB-R9032 は抜群の親水性を持ち、なおかつ強力な $\text{Na}^{\text{-}}\text{-H}^{\text{'}}$ 交換の抑制効果をもつとされている。

本研究において $\text{Na}^{\text{-}}\text{-H}^{\text{'}}$ 交換機構阻害薬のKB-R9032が再灌流性不整脈を抑制した機序としては、再灌流で再開する $\text{Na}^{\text{-}}\text{-H}^{\text{'}}$ 交換を抑制することによって、 $\text{Na}^{\text{-}}\text{-Ca}^{2+}$ 交換による再灌流時の心筋細胞内 Ca^{2+} の上昇が抑えられたためであると推察される。今回の実験・研究からKB-R9032は臨床治療薬として期待され、今後心筋の虚血再灌流障害を防御する目的で臨床応用に新たな道を開くものと考えられる。

【結論】

$\text{Na}^{\text{-}}\text{-H}^{\text{'}}$ 交換機構阻害薬KB-R9032は心筋虚血再灌流不整脈を抑制することが明らかとなった。虚血再灌流障害の抑制に有用で、治療薬として応用できる大きな可能性を持つものと考えられる。

【最終試験の結果】

1. 細胞内アシドーシスを助長することをどのように評価するか
再灌流不整脈が発生してしまうことによってより大きな心筋ダメージを受けることを考えると、再灌流時の Ca^{2+} オーバーロードをコントロールする意義は大きく、逆に急激なアシドーシスの補正を抑えることによって不整脈の発生を抑制しイオン不均衡はその後の段階で徐々に補正することが細胞にとっては真に有利なことではないかと考える。
2. アミロライド、カリポライド等の $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 交換機構阻害薬との比較
アミロライドは古くから利尿薬として使われている。これらはいずれも $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 交換系のアイソザイム 1 を選択的に抑制する薬物で動物実験レベルでは虚血心筋障害を抑制することが示されている。本研究で使用した薬物は作用強度がそれらと比較してやや弱いが高親水性が高い。
3. 細胞内 Ca^{2+} 濃度を測定すればより確実なデータとなったのではないかと
実験系が異なるので本研究には含まれていないが、検討すべき内容であると考ええる。
4. ATP の低下とこの薬物作用の関係は
ATP の低下は Na^+ ポンプ抑制による膜電位の脱分極による自動能の亢進、伝導抑制によるリエントリー不整脈の発生要因が揃うので虚血不整脈の発生を招くが、最終的には Ca^{2+} オーバーロードを抑制することが再灌流不整脈抑制に重要なことと考えられる。
5. 使用薬物の目的は心筋保護と再灌流不整脈抑制のどちらにあるか
本研究はさらに再灌流時同時投与による one shot の効果についても検討を行っている（副論文内容）。質疑応答の中でその結果を示すグラフを示し、持続投与との比較考察を行った。この薬物が one shot でも持続投与の最大効果と遜色のない抑制を示すため、再灌流不整脈抑制が主な作用でそれに引き続く細胞障害の抑制は二次的なものではないかと考えた。
6. 臨床的な応用を考えた場合どのようなタイミングで投与するのがよいか
前質疑応答事項の結果と作用機序を勘案するに、必ずしも事前に血中濃度を上げておく必要はなく血行再開時の直前投与で十分な抗細胞作用が得られるのではないかと考える。

以上の結果、麻酔科学および循環・薬理学において学位授与に相当するに十分な学識を有していることが認められ、最終試験に合格した。

氏名	十川 桂 史
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	医 第 8 6 3 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	進行胃癌に対する術前短期化学療法の有用性の検討ーアポトーシス誘導および細胞増殖能を指標としてー
論文審査委員 (主査)	教授 大 柳 治 正
(副主査)	教授 塩 崎 均
(副主査)	教授 福 岡 正 博