

論文内容要旨

論文題目

ラット後肢虚血再灌流障害モデルにおけるニトロキシラジカルを用いた MRI での腓腹筋局所の酸化ストレスの評価

責任講座： 外科学第二講座

氏 名： 黒田 吉則

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景】あらゆる疾患において障害臓器で活性酸素種の産生系と消去系，レドックス反応のバランスが崩れることが知られており様々な基礎研究データが報告されてきた。血管外科分野における四肢の急性動脈閉塞に対する血行再建術後に発症する虚血再灌流障害の病態においてもレドックス異常が強く関与している。われわれは magnetic resonance imaging (MRI) を用いてラット後肢虚血再灌流障害における酸化ストレスの画像的評価を試みた。【方法】雄 Wistar ラット (210-250 g) の大腿動脈遮断による右後肢虚血再灌流モデルを作製した。ラットを 4 群(A 群:4 時間虚血-再灌流なし, B 群: 4 時間虚血-30 分再灌流, C 群: 4 時間虚血-2 時間再灌流, D 群: 4 時間虚血-24 時間再灌流)に分けた(各群 n=4)。再灌流障害を血清中 creatine kinase(CK)値, 腓腹骨格筋の組織学的所見を指標として評価した。また別のラットを 3 群(I 群:4 時間虚血-30 分再灌流, II 群: 4 時間虚血-2 時間再灌流, III 群: 4 時間虚血-24 時間再灌流)に分け MRI によるレドックス評価を行った(各群 n=6)。3-carbamoyl-PROXYL(3-CP)を投与し, T1 強調 MRI 画像によりシグナル強度を評価した。3-CP のシグナル強度の推移を 3-CP 静注後 20 分間に亘り計測した。シグナル・ピークから減衰する速度(減衰定数)により腓腹筋局所の還元能を評価した。同一ラット後肢の虚血再灌流側と健側のシグナル強度の面積 (関心領域の area under the curve: AUC)より腓腹筋局所の酸化ストレスを比較評価した。さらに虚血再灌流後, エダラボン投与により再灌流筋障害が抑制されるか, また酸化ストレスがその原因なのか MRI による解析を行った。【結果】虚血再灌流後, 血清中 CK 値は再灌流前に比べ有意に経時的に上昇した。組織学的評価では, 虚血再灌流による筋障害として筋細胞の壊死と腫大を認め, 再灌流時間が長くなるにつれてその傾向は強くなった。3-CP をプローブとした MRI 解析では, 再灌流 30 分後に減衰定数は有意に亢進したが一過性であった。MRI の T1 強調画像で 3-CP は健側に比べ虚血再灌流側において微弱ながら視覚的に強調された。虚血再灌流側のシグナル強度(AUC ROI-1)は健側のシグナル強度(AUC ROI-2)に比べ有意に強く, 酸化ストレス状態にあると考えられた。4 時間虚血後エダラボンを腹腔内に投与し再灌流した。エダラボン非投与群では再灌流 24 時間後に血清中 CK 値の著しい上昇と筋組織障害を認めたが, エダラボン投与群では血清中 CK 上昇と筋組織障害は軽微であった。虚血再灌流 24 時間における酸化ストレスはエダラボンにより緩和されることが, 3-CP を使用した MRI 解析により明らかにすることができた。【結語】ラット骨格筋虚血再灌流モデルにおいて, 3-CP をプローブとした MRI 解析により虚血再灌流側のシグナル強度は, 健側に比べ強く, 患側での酸化ストレス状態を反映していると考えられた。MRI による解析は電子スピン共鳴装置に比べ酸化ストレス状態の時空間的解析能に優れ, 障害因子である reactive oxygen species の動態解析と治療方針の判断に有用であると考えられた。

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：黒田 吉則

論文題目：ラット後肢虚血再灌流障害モデルにおけるニトロキシルラジカルを用いたMRIでの腓腹筋局所の酸化ストレスの評価

審査委員：主審査委員 欠畑 誠治



副審査委員 佐藤 慎哉



副審査委員 藤井 順逸



審査終了日：平成 30年 8月 17日

【 論文審査結果要旨 】

血管外科分野において、四肢の急性動脈閉塞に対する血行再建術後に発症する虚血再灌流障害の病態に、活性酸素種の産生系と消去系のアンバランスであるレドックス異常が強く関与していることが知られているが、これまで骨格筋の虚血再灌流障害の画像的診断はなされていなかった。ラット後肢虚血再灌流障害における酸化ストレスを、magnetic resonance imaging (MRI)を用いて画像的に評価を試みた研究である。

雄 Wistar ラット(210-250 g)の大腿動脈遮断による右後肢虚血再灌流モデルを作製し、虚血後の再灌流障害を、再灌流後 24 時間まで血清中 creatine kinase(CK)値や腓腹骨格筋の組織学的所見を指標として評価した。虚血再灌流後血清中 CK 値は再灌流前に比べ有意に経時的に上昇しており、組織学的評価では虚血再灌流による筋障害として筋細胞の壊死と腫大を認め、再灌流時間が長くなるにつれてその傾向は強くなっていることがわかった。

・3-CP をプローブとした酸化ストレスの MRI による評価

3-carbamoyl-PROXYL(3-CP)を尾静脈より静注投与し、を投与し撮像した MRI 画像の視覚的評価を試みた。再灌流 24 時間の MRIT1 強調画像で虚血再灌流側の腓腹筋が高信号を呈していることが視覚的に確認できたが非常に軽微であった。

シグナル・ピークから減衰する速度(減衰定数)により腓腹筋局所の還元能を評価したところ、虚血再灌流 30 分後の群において有意に虚血再灌流側で減衰が早かった($p=0.042$)。

同一ラット後肢の虚血再灌流側と健側のシグナル強度の面積 (関心領域の area under the curve: AUC)より腓腹筋局所の酸化ストレスを比較評価した。虚血再灌流側のシグナル強度は健側のシグナル強度に比べ有意に強く、酸化ストレス状態にあると考えられた。

・エダラボン投与による影響

ラジカルスカベンジャーであるエダラボン非投与群では再灌流 24 時間後に血清中 CK 値の著しい上昇と筋組織障害を認めたが、エダラボン投与群では血清中 CK 上昇と筋組織障害は軽微であった。虚血再灌流 24 時間における酸化ストレスはエダラボンにより緩和されることが示された。

本審査委員会では、論文の体裁をととのえることと附図の整理など一部論文を修正する必要があるが、3-CP をプローブとして使用し MRI 撮像を行うことで骨格筋の酸化ストレス状態をリアルタイムに把握できることが示された点や、ラジカルスカベンジャー投与により虚血再灌流後の骨格筋障害が抑制されることが示された点は新規であり、虚血再灌流障害の治療戦略に与える恩恵は非常に大きいと考え、本研究が学位修得に十分に値すると判断した。