
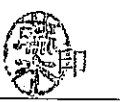



学位論文審査の結果の要旨

審査区分 (課)・論	第 号	氏 名	室 園 祐 吉
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	小 野 克 重	
	副査氏名	藤 木 稔	
	副査氏名	岩 坂 日 出 男	
<p>論文題目 Hyperthermia-Induced Cardioprotection Is Potentiated by Ischemic Postconditioning in Rats (ハイパーサーミアによる心筋保護効果は虚血ポストコンディショニングによって増強されるラットを用いた検討)</p> <p>論文掲載誌名 Experimental Biology and Medicine</p> <p>論文要旨 虚血ポストコンディショニングは、1996年に初めて報告された虚血耐性獲得の strategy であるが、そのメカニズムの詳細は不明である。本研究では、ハイパーサーミア(HT)による心保護効果が虚血ポストコンディショニングによって増強されるか、また、その過程に PI3 キナーゼ依存性 Akt リン酸化およびミトコンドリア K_{ATP} チャンネルがどの程度関与しているのかについて検討を加えている。</p> <p>実験方法としては、①10週齢の雄性SDラットにHT(43℃で20分温浴)またはノルモサーミア(NT:37℃で20分温浴)を与えた。②24時間後に心臓を摘出し、Langendorff装置を用い30分の全心虚血および120分の再灌流を行った。③虚血ポストコンディショニングとして、再灌流直後に「10秒間再灌流/10秒間全心虚血」を5サイクル反復した。④再灌流時の左室内圧、逸脱クレアチンキナーゼ(CK)量、再灌流終了時の梗塞サイズ(TTC染色)およびアポトーシスを生じた細胞の割合(TUNEL法)を評価し、虚血再灌流障害の指標とした。⑤一部の実験では、灌流液中にミトコンドリア K_{ATP} チャンネル阻害薬である5-hydroxydecanoate(5HD, 100 μM)を加えた。⑥一部のラットでは、PI3キナーゼ系を阻害するためにwortmanninを投与した。⑦再灌流7分後に心臓を摘出しAktリン酸化をウエスタンブロット法で定量した。また、再灌流終了後の心臓HSP72発現をウエスタンブロット法で定量した。その結果、①HTは心臓にHSP72を誘導し明らかな虚血耐性を示したが、虚血ポストコンディショニング単独では有意な虚血耐性は得られなかった。②HTによる保護効果は虚血ポストコンディショニングによって増強された(梗塞サイズ、再灌流時の左室内圧、逸脱CK、アポトーシスに関して)。③これらの保護効果は、再灌流7分後のAktリン酸化の程度とほぼ合致しており、wortmanninは、この保護効果を完全に消失させた。④HTによる保護効果は5HDによって完全に阻害されたが、虚血ポストコンディショニングによって増強された保護効果は5HD存在下にも残存したことを確認した。</p> <p>本研究は、虚血再灌流障害に対するHTによる保護効果が虚血ポストコンディショニングによって増強することを明らかにしたものであり、その効果は再灌流直後のPI3キナーゼ依存性Aktリン酸化増強を介するものと結論付けた。HTによる保護効果はミトコンドリア K_{ATP} チャンネル開口によるものと示唆されるが、虚血ポストコンディショニングによって増強された保護効果はミトコンドリア K_{ATP} チャンネル開口以外のメカニズムによるものであることを示した意義ある研究であり、審査委員の合議により本研究は学位論文に値するものであると判断した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 室園 祐吉

論 文 題 目

Hyperthermia-Induced Cardioprotection Is Potentiated by Ischemic Postconditioning in Rats

(ハイパーサーミアによる心筋保護効果は虚血ポストコンディショニングによって増強されるラットを用いた検討)

要 旨

【背景・目的】

虚血ポストコンディショニングは、1996年に初めて報告された虚血耐性獲得の strategy であるが、そのメカニズムの詳細は不明である。当研究室では、これまでハイパーサーミア (HT) やゲラニルゲラニルアセトン (GGA) によって心臓に熱ショック蛋白質 (HSP72) を誘導すると虚血耐性が生じることを報告してきた。本研究では、HT による心保護効果が虚血ポストコンディショニングによって増強されるか、また、その過程に PI3 キナーゼ依存性 Akt リン酸化およびミトコンドリア KATP チャネルがどの程度関与しているかについて検討した。

【方法】

①10週齢の雄性SDラットにHT(43℃で20分温浴)またはノルモサーミア(NT:37℃で20分温浴)を与えた。②24時間後に心臓を摘出し、Langendorff装置を用い30分の全心虚血および120分の再灌流を行った。③虚血ポストコンディショニングとして、再灌流直後に「10秒間再灌流/10秒間全心虚血」

を5サイクル反復した。④再灌流時の左室内圧、逸脱クレアチンキナーゼ (CK) 量、再灌流終了時の梗塞サイズ (TTC 染色) およびアポトーシスを生じた細胞の割合 (TUNEL 法) を評価し、虚血再灌流障害の指標とした。⑤一部の実験では、灌流液中にミトコンドリア KATP チャンネル阻害薬である 5-hydroxydecanoate (5HD, 100 μ M) を加えた。⑥一部のラットでは、PI3 キナーゼ系を阻害するために wortmannin を投与した。⑦再灌流7分後に心臓を摘出し Akt リン酸化をウエスタンブロット法で定量した。また、再灌流終了後の心臓 HSP72 発現をウエスタンブロット法で定量した。

【結果】

①HT は心臓に HSP72 を誘導し明らかな虚血耐性を示したが、虚血ポストコンディショニング単独では有意な虚血耐性は得られなかった。②HT による保護効果は虚血ポストコンディショニングによって増強された (梗塞サイズ、再灌流時の左室内圧、逸脱 CK、アポトーシスに関して)。③これらの保護効果は、再灌流7分後の Akt リン酸化の程度とほぼ合致しており、wortmannin は、この保護効果を完全に消失させた。④HT による保護効果は 5HD によって完全に阻害されたが、虚血ポストコンディショニングによって増強された保護効果は 5HD 存在下にも残存した。

【結語】

虚血再灌流障害に対する HT による保護効果が虚血ポストコンディショニングによって増強することが判明した。この効果は再灌流直後の PI3 キナーゼ依存性 Akt リン酸化増強を介するものと推測された。HT による保護効果はミトコンドリア KATP チャンネル開口によるものと思われたが、虚血ポストコンディショニングによって増強された保護効果はミトコンドリア KATP チャンネル開口以外のメカニズムによるものと考えられた。