

[別紙 2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 藤 本 肇

本研究は生体内因性の抗酸化酵素である heme oxygenase-1 による heme の代謝産物、一酸化炭素(CO)が生体内における重要なシグナル分子であり、低濃度の CO がラットの心筋虚血再灌流傷害を低減させる機能を有することを示したものであり、以下の結果を得ている。

1. ラットに 1000ppm CO を 24 時間吸入させた後虚血再灌流手術を施行すると、前下行枝灌流域に対する梗塞領域の割合 (I/R 比)は、CO を吸入させずに虚血再灌流手術を行ったラットのそれに比して有意に低減した。これに対して 250ppm, 500ppm CO や 0.5 気圧の低酸素状態へ 24 時間暴露したラットにおいては心筋梗塞領域の低減は見られなかった。
2. 1000ppm CO を 24 時間吸入させた群では前下行枝灌流域における単核球の浸潤や TNF- α の発現は有意に低減していた。250ppm, 500ppm の CO を 24 時間吸入させた群や 0.5 気圧の低酸素状態に 24 時間曝した群では I/R ratio の低減や前下行枝領域における単核球浸潤や TNF- α の減少は認めなかった。以上から、1000ppm CO の前投与には心筋虚血再灌流傷害を低減させる効果があると考えられた。
3. 1000ppm CO をラットに吸入させると心筋内 p38MAPK, Akt, eNOS, cGMP の活性化が認められた。一方 250ppm CO, 500ppm CO の吸入や 0.5 気圧の低酸素状態への暴露はこれらのタンパクを活性化させなかった。SB203580 (p38MAPK 阻害剤)をラットに事前投与すると 1000ppm CO による p38MAPK のリン酸化が阻害され、wortmannin (PI3kinase 阻害剤) を事前投与すると 1000ppm CO による Akt, eNOS のリン酸化が阻害された。SB203580 と

wortmannin 両方を事前投与すると 1000ppm CO による p38MAPK, Akt, eNOS のリン酸化は全て阻害された。Wortmannin または L-NAME(NO 阻害剤)の事前投与は各々1000ppm CO の吸入による心筋内 cGMP の活性化も抑制した。

4. SB203580, wortmannin, L-NAME 各々を事前投与した上で 1000ppm CO を 24 時間吸入させたラットに虚血再灌流手術を施行すると、I/R 比は vehicle (DMSO) と 1000ppm CO を投与したラットに比して有意に高く、CO を投与しなかったラットに比して有意に低かった。即ち SB203580, wortmannin, L-NAME には各々1000ppm CO の心筋保護効果を部分的に阻害する効果が認められ、SB203580 と wortmannin の両方を事前投与すると 1000ppm CO による心筋保護効果は完全に阻害された。また methylene blue (可溶性グアニレート・シクラーゼ阻害剤)を事前投与すると 1000 ppm CO の心筋保護効果は阻害された。以上から、CO による心筋虚血再灌流傷害低減効果には p38MAPK 経路と Akt-eNOS-sGC-cGMP 経路が重要な役割を果たしており、これらは互いに独立した経路であると考えられた。

以上、本論文はラットの vivo モデルにおいて、低濃度 CO の直接吸入により心筋虚血再灌流傷害が低減すること、その機序には p38MAPK 経路と Akt-eNOS-sGC-cGMP 経路が重要な役割を果たしていることを明らかにした。本研究は低濃度 CO の直接吸入により vivo モデルで心筋虚血再灌流傷害を低減することを初めて示したものであり、また CO の心筋保護効果に Akt-eNOS 経路が重要な役割を果たしていることを初めて明らかにした。将来 CO が急性心筋梗塞患者の治療に用いる可能性を示し、heme oxygenase-1 の生理的機能の解明にも貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。