

## 論文の内容の要旨

論文題目 新しい過冷却促進物質 Kaempferol 7-O- $\beta$ -D-Glucopyranoside  
(KF7G)を使用した過冷却下心保存の検討  
-ラット異所性心移植モデルを用いて-

指導教員 小野 稔

東京大学大学院医学系研究科

平成19年4月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名 嶋田正吾

背景：重症心不全に対する治療として心移植は標準的治療になってきている。

現状のプロトコールではドナー心は University of Wisconsin(UW)液や Celsior

液などの臓器保存液内で+4℃の冷保存下にレシピエントのもとに搬送される。

その許容虚血時間は4時間から6時間と非常に短い。より安全な移植およびド

ナープールの拡大のためにドナー心の保存時間の延長は心移植において残され

た課題の一つである。保存時間延長のための有力な選択肢の一つとして過冷却

下の臓器保存がこれまで検討されてきたが、現在のところ十分な効果が得られ

てはいない。そこで、今回われわれは、新たに過冷却促進効果が報告されたフ

ラボノール的一种である Kaempferol 7-O- $\beta$ -D-Glucopyranoside (KF7G)を臓

器保存液に導入し、過冷却下心保存の効果を検討した。

方法：KF7G の過冷却促進効果を droplet freezing assay を用いて測定した。また、KF7G の抗酸化活性を DPPH radical-scavenging assay を用いて測定した。

その後、ラット異所性心移植モデルを用いて、従来の+4°C心保存と KF7G を用いた-2°C、-5°C過冷却保存の保存効果を比較した。ドナー心を①University of Wisconsin(UW)液、+4°C保存②UW 液+0.01%KF7G、-2°C過冷却保存③UW 液+0.01%KF7G、-5°C過冷却保存の3群に振り分け 18, 24, 30 時間保存した後、レシピエント腹部に移植した。移植 15 分後の拍動の強さを肉眼的に評価し、また 2 時間再灌流後の移植心を摘出し、組織学的にアポトーシスを評価した。また、電子顕微鏡での観察もおこなった。

結果：0.01%KF7G を UW 液に添加することで、UW 液の凍結温度を 2°C低下させることができた。また、KF7G が抗酸化活性を有することが示された。移植モデルでは、再灌流 15 分後の移植心の拍動はすべての保存時間で有意に-2°C過冷却保存群が+4°C保存群より良好であった( $3.7 \pm 0.33$  vs.  $2.0 \pm 0.45$ ,  $p = 0.006$ , 18 時間保存;  $2.6 \pm 0.49$  vs.  $1.3 \pm 0.21$ ,  $p = 0.041$ , 24 時間保存;  $2.5 \pm 0.22$  vs.  $1.2 \pm 0.17$ ,  $p < 0.001$ , 30 時間保存)。一方、-5°C保存群では+4°C保存群を上回る効果は見られず、30 時間保存ではむしろ移植心はすべて再灌流後速やかに黒

色に変色し、出血壊死の所見を呈した( $0 \pm 0$  vs.  $1.2 \pm 0.17$ ,  $p < 0.001$ , 30 時間保存)。TUNEL 染色でのアポトーシスの定量化では、各保存温度において保存時間が延長するに従い TUNEL 陽性細胞が増加した。同一保存時間群での比較では、18 時間、24 時間保存で有意に  $-2^{\circ}\text{C}$  保存群の TUNEL 陽性細胞が少なかった。30 時間保存でも同様の傾向が見られたが有意差は認めなかった( $10.3 \pm 3.9$  vs.  $48.5 \pm 11.7$ ,  $p = 0.006$ , 18 時間保存;  $19 \pm 7.3$  vs.  $56.7 \pm 7.8$ ,  $p = 0.003$ , 24 時間保存;  $52 \pm 12.2$  vs.  $88.8 \pm 20.6$ , N.S., 30 時間保存)。一方、 $-5^{\circ}\text{C}$  保存群では 18 時間、24 時間保存では  $+4^{\circ}\text{C}$  保存群との差は認められず、30 時間保存においてはむしろ TUNEL 陽性細胞の有意な増加を認めた( $187 \pm 37.8$  vs.  $88.8 \pm 20.6$ ,  $p = 0.041$ , 30 時間保存)。

電子顕微鏡による観察では、非再灌流群においても各保存温度間での差が見られ、 $-2^{\circ}\text{C}$  過冷却保存群で  $+4^{\circ}\text{C}$  保存群に比較してミトコンドリアやサルコメアの形態的保存状態が良好であった。一方、 $-5^{\circ}\text{C}$  保存群では保存時間の延長に従って、ミトコンドリアのクリステや膜構造の破壊が顕著となった。再灌流群の比較でも同様の傾向が見られ、ミトコンドリアの変化に加えサルコメアの短縮や断裂も見られた。

結語：今回我々は、新規過冷却促進剤 **KF7G** を過冷却心保存に導入することが可能であった。**KF7G** は過冷却効果とともに抗酸化作用を併せ持ち、臓器保存に非常に適した物質であることが示された。ラット異所性心移植モデルでは、 $-2^{\circ}\text{C}$ 過冷却保存は従来の $+4^{\circ}\text{C}$ 保存より優れた保存効果を示した。一方で、 $-5^{\circ}\text{C}$ 過冷却保存はむしろ保存効果が劣った。心保存における至適過冷却保存温度は $-2^{\circ}\text{C}$ である可能性が示唆された。