

審査の結果の要旨

氏名 坊垣 昌彦

本研究は、敗血症による臓器障害の進行過程における一酸化窒素 (NO) の役割を解明するため、遺伝子改変マウスを用いて重症敗血症モデル (CASP) を作成し、心機能障害を中心に重症敗血症における一酸化窒素合成酵素 (NOS3) の役割を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. NOS3 ノックアウトマウス (NOS3KO) では野生型 (WT) と比較して、CASP 後の敗血症徴候がより早く出現し、生存時間は有意に短かった。このことから NOS3 欠失が敗血症の重症化に関与していることが示唆された。
2. CASP22 時間後に施行した血行動態測定では、WT に比べて NOS3KO では収縮能・拡張能ともに心機能障害が増悪していた。また、心筋細胞レベルでも CASP22 時間後に単離した心筋細胞の機能は収縮能、拡張能ともに障害されていたが、その程度は NOS3KO において WT よりも重篤であった。心筋線維のカルシウム感受性には NOS3KO と WT で大きな差はなく、心筋細胞の機能障害が重篤化する原因として、カルシウム調節機構の障害の程度が NOS3KO において WT よりも大きいことが考えられた。
3. CASP22 時間後に単離した心筋細胞ではミトコンドリア膜電位が低下していたが、この膜電位の低下は NOS3KO において WT よりも有意に大きかった。また CASP22 時間後に単離したミトコンドリアを比較すると、NOS3KO のミトコンドリアではカルシウム負荷によるミトコンドリア膜透過性遷移 (MPT) が WT よりも早く生じる傾向が認められた。さらに、CASP 後のミトコンドリアでは ATP 合成能が低下していたが、この合成能の低下は NOS3KO において WT よりも増悪していた。
4. 心臓での炎症性サイトカインの遺伝子発現レベルは総じて CASP により上昇したが、上昇の程度は NOS3KO において WT よりも大きい傾向があり、NOS3 欠失により CASP 後の心筋の炎症が増悪することが示唆された。
5. 肝・肺においても CASP 後の炎症性サイトカインの発現レベルは NOS3KO において有意に上昇の程度が大きく、NOS3 欠失によって全身性に炎症が増強されることが示唆さ

れた。

6. 心臓においては NOS3 欠失による NOS1 あるいは NOS2 の代償性発現は認められず、心臓組織中の NO 代謝産物の濃度にも差は認められなかった。また、CASP10 時間後の血漿中の NO 代謝産物の濃度にも NOS3 欠失の影響は認められなかった。

以上、本研究は NOS3 欠失により、polymicrobial sepsis にともなう心機能障害が増悪すること、この心機能障害は心筋細胞のカルシウム調節機構の障害の増悪をともなっており、その原因としてミトコンドリア機能障害が重要であることを示唆した。本研究はこれまで十分に検討されてこなかった“内在性発現レベルの NOS3”の敗血症性心不全における保護効果を明らかにした点で、今後の敗血症性心不全のメカニズムの解明に重要な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。