HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	人工酸素運搬体 : liposome-encapsulated hemoglobinを用いた虚血再灌流障害に対する治療戦略の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	新保, 大輔
Description	配架番号：2095
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11223号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55524
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Daisuke_Shimbo_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　新保　大輔

	主査	教授　森本　裕二
審査担当者	副査	教授　神谷　温之
	副査	教授　吉岡　充弘
	副査	教授　石田　晋

学 位 論 文 題 名

人工酸素運搬体：liposome-encapsulated hemoglobin を用いた虚血再灌流障害に対する治療戦略の検討（Post-ischemic intra-arterial infusion of liposome-encapsulated hemoglobin can reduce ischemia reperfusion injury）

本論文は、脳虚血再灌流障害における新たな治療戦略として、人工酸素運搬体：liposome encapsulated hemoglobin（LEH）を再開通動脈から局所的に動注灌流することで、虚血再灌流障害を軽減化できることを示した。ラットを用いたLEHの2時間投与モデルと15分投与モデルで、それぞれ虚血領域への好中球流入の物理的抑制、末梢微小血管への良好な酸素供給がLEHの脳保護効果のメカニズムである可能性を示した。

質疑応答において、まず副査の石田教授より、LEH を用いた脳虚血実験において、本研究の新規性は何かという質問があり、申請者は、虚血再灌流モデルでLEHの使用は本研究が初であると回答した。虚血再灌流状態でICAM-1の発現、好中球の浸潤、MMP-9の産生が起こるメカニズムは何かという質問には、虚血による低酸素負荷により血管内皮細胞でICAM-1が発現、好中球の接着と活性化が起こり、MMP-9の産生が生じると回答した。最初の虚血の時点ですでにICAM-1は発現しているが、再灌流時にはなぜICAM-1の発現がおこるのかという質問があり、そのメカニズムは検討していないと回答した。石田教授からは再灌流時の酸素負荷による活性酸素の影響だろうとコメントがあった。酸素化したLEHを投与することでより酸化ストレスが増すのではとの指摘があったが、申請者は、LEH の投与で活性酸素を軽減化した報告もあるがメカニズムは不明、また本研究ではICAM-1の抑制は、LEHの効果的酸素供給により、内皮細胞の低酸素による障害が抑制されたためと考えたと回答した。Hb単体投与についての質問には、cell free typeのHbは血管収縮作用があり、不適であると回答した。ICAM-1の中和抗体による実験の報告はあるのか、その効果は本研究と比較した場合にはどう考えるかとの質問があり、申請者は、ICAM-1中和抗体を使用した研究で脳保護効果は報告されているが、本研究と単純な比較は難しいと回答した。最後に活性酸素との関係を解明するため酸素化していないLEH投与をcontrolとして行うべきであると

のコメントがあった。次に、副査の神谷教授から、LEH の投与は短時間だが、再灌流 24 時間後でも脳保護効果を示したのはなぜかという質問があり、申請者は、LEH は虚血領域を灌流後は肺で酸素化され、24 時間は全身を還流し虚血組織へ良好な酸素供給を続けると回答した。全身性に希釈されると低濃度となるが効果はどうなのかとの質問には、過去の LEH を使用した実験では静脈内投与（希釈された状態となる）で脳保護効果を示しているが、本研究ではそのメカニズムまでは検討できていないと回答した。LEH 投与の risk はないのかという質問には、LEH の大量投与では血液の粘性が増し塞栓症の原因となる、また、LEH は網内系で代謝されるので肝臓、脾臓の障害の可能性があるが、本研究では生理学的データの異常は確認されなかったと回答した。次に副査の吉岡教授から、LEH の投与を開始するタイミングについての質問があり、申請者は、再灌流時の好中球の流入を減少させるという考えのもと、再灌流直後から LEH を投与したと回答した。再灌流障害では急激な酸素化が悪影響を及ぼすと考えられ、LEH の酸素化は不必要ではないかとの質問に対しては、酸素供給がない生理食塩水を灌流したが、これは好中球の流入は低下させると考えられるが脳保護効果はなく、酸素化は必要と考えると回答した。LEH 投与で基底核の梗塞巣が拡大している印象があるとの指摘があったが、基底核のみの梗塞巣の検討は行っていないが、増大したとは考えていないと回答した。続いて主査の森本教授から、LEH 投与による脳温低下の影響について質問があり、申請者は、36-7℃の LEH を灌流しているので低脳温の影響はないと考えるが、脳温は測定していないと回答した。次に、手技中の麻酔深度が深く低酸素状態にはなっていないか、また、血圧、血液ガスの測定方法について質問があった。申請者は、血液ガスは大腿動脈から採取、血圧は尾にカフを巻いて測定、いずれも虚血前と再灌流 24 時間後の 2 点での測定であり、持続モニタリングはしてない。手技中に低酸素になった可能性は否定できないが、呼吸状態は常に監視していたと回答した。手技中のラットの死亡率についても質問があり、当初は 2-3 割あったが、手技が習熟したこと、麻酔深度を浅くすることで改善したと回答があった。15 分間投与と設定した理由についての質問には、6-7ml（本研究と同量）の生理食塩水を数分間で動注する実験の報告があり、これを参考にして循環動態等に問題はないと判断したと回答した。最後に、酸素化していない LEH の投与効果が今後の検討課題となるが、わかりやすくて興味深い、臨床につながる意義のある研究であるとの総評であった。

この論文は、脳虚血再灌流障害における LEH の局所的動注療法による脳保護効果について、好中球の作用を中心に示した意義あるものである。LEH の動注療法が急性期脳梗塞における治療法として開発されていくことが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。