HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ラット心臓虚血再灌流障害モデルにおけるトレハロース・プレコンディショニングの心機能および内皮機能に対する保護効果の検討［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	須野, 賢一郎
Description	配架番号：2866
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16057号
Issue Date	2024-06-28
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92778
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SUNO_Kenichiro_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　須野　賢一郎

審査担当者
主査　　教授　安斉　俊久
副査　　教授　森本　裕二
副査　　教授　大場　雄介

学 位 論 文 題 名

ラット心臓虚血再灌流障害モデルにおけるトレハロース・プレコンディショニングの心機能および内皮機能に対する保護効果の検討
(Protective effects of trehalose preconditioning on cardiac and endothelial function in a rat model of ischemia-reperfusion injury)

心臓手術および心臓移植において，虚血再灌流(I/R)障害は周術期の死亡や合併症に関連する重要な因子である．I/R 障害に対する心筋保護戦略として薬剤プレコンディショニングという方法が知られているが，これまで実用化されるには至っていない．

トレハロース(TRE)は天然のオートファジー誘導剤であり，内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)を活性化し，動脈硬化における内皮機能障害を抑制することが報告されている．しかしながら，I/R 障害に対する TRE の効果についてはこれまで報告がない．本研究ではラット摘出心モデルを用いて，トレハロース・プレコンディショニングにより eNOS の活性化を介して再灌流後の心機能障害および内皮機能障害が抑制されることを明らかにした．この研究結果は心臓手術や心臓移植における新たな心筋保護戦略につながる可能性がある．

審査にあたり，まず副査の森本教授から，当教室から以前に報告のあったトレハロース・プレコンディショニングの「気絶心筋モデル」における検討との違いについて質問があった．申請者は，前回は虚血の温度と時間は 22℃，20 分だったが，今回は 37℃，30 分で実験を行い，再灌流中の心機能が完全に回復しない「梗塞心筋モデル」での検討であると回答した．また，臨床応用する際の実際の方法についてどのようなものが想定されるかとの質問があった．申請者は，最適な導入方法については今後の検討課題であるが，麻酔導入時に点滴投与する，あるいは心筋保護液に混注するなどの方法が考えられると回答した．

次に副査の大場教授から，TRE 二糖類であり，今回の 2%という濃度では浸透圧の上昇をもたらすが，浸透圧の補正などは行ったのかという質問があった．申請者は，今回の実験では浸透圧補正は行っておらず，浸透圧の違いによる影響はあるかもしれないが，過去の文献では，他の二糖類であるマルトースやスクロースでは細胞保護効果がなかったとの報告もあり，やはり浸透圧以外の TRE の効果による可能性が高いと回答した．また，TRE の細胞内への取り込み方法はどのようなものであるかとの質問があった．申請者は，TRE は通常細胞膜を通過しないため，大部分はトランスポーターを通して細胞内に取り込まれると回答した．その回答を受けて，食品から摂取したトレハロースはすぐに小腸でグルコースに加水分解されるため，導入自体は点滴で行い，細胞内に効率よく取り込ませるためのトラ

ンスポーター増強薬などを併用することで保護効果が増大する可能性があるとの助言があった.

次いで主査の安斉教授から，TRE は eNOS を活性化させたとのことだが，投与中の冠灌流に影響はあったのかとの質問があった．申請者は，プレコンディショニング中は冠灌流量に変化はなかったため，虚血前の直接的な eNOS の活性化効果はないと回答した．また，TRE は心筋内のどの細胞に効いているのかとの質問があった．申請者は，今回の実験では心筋細胞と内皮細胞を分けて検討していないため明確なことは言えないが，恐らくいずれの細胞にも保護的に働いている可能性が高いと回答した．また，今後，心筋細胞や内皮細胞を用いて，TRE の保護効果について in vitro の実験を検討していると回答した.

最後に各主査・副査より改めて質問および指摘があった．副査の森本教授より，これまでの多くの薬剤と比較して，TRE の優れている点はどこかという質問があった．申請者は，TRE は既に多くの食品や医薬品に用いられており安全性が高い点や，細胞保護の機序を複数有している点などが優れていると回答した．また，今回の心臓冷却保存実験において冷却時間 16 時間というのは実臨床から掛け離れている印象を受けるとの指摘があった.さらに，長時間の冷却では虚血再灌流障害というよりも低温障害が主になるのではとの指摘があった．申請者は，予備実験での心機能回復率からその時間設定にしたと回答した．また，TRE は低温障害に対しても有効であるとの報告もあり，今回の実験においても低温障害抑制効果が寄与していた可能性があると回答した．さらに，以前の「気絶心筋モデル」ではオートファジーが関与していたとのことだったが，今回オートファジーに変化がなかったのは「梗塞心筋モデル」だからではないかとの質問があった．申請者は，虚血の重症度の違いが原因として第一に考えられるが，オートファジーの関与を検討するにあたって， 今回のようにオートファジー関連タンパクでの評価のみならず，蛍光プローブを用いた方法など他のモダリティでも今後評価することが本来望ましいと回答した．次に主査の安斉教授から，TRE のオートファジー活性化の機序について質問があった．申請者は，リソソーム生合成とオートファゴソーム形成のマスターレギュレーターである転写因子 EB を介してオートファジーを活性化すると回答した．次いで副査の大場教授より，今回用いたオートファジー阻害薬であるクロロキンは選択性が低く，他の選択性の高いオートファジー阻害薬での再検討が望ましいとの助言があった．最後に主査の安斉教授より，TRE に関する疫学研究，たとえば昆虫食などで TRE を多く摂取する地域における心血管疾患の有病率などを調べてみてはどうかとの助言があった.

この論文は，トレハロース・プレコンディショニングにより I/R 後の心機能および内皮機能障害が抑制されることを示しており，今後心臓手術や心臓移植へ臨床応用が出来れば，術後成績の向上につながる可能性がある.

審査委員一同は，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。