



Title	Detection of Oxygen-Derived Free Radical Generation in the Canine Postischemic Heart During Late Phase of Reperfusion
Author(s)	金, 英俊
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37108">https://hdl.handle.net/11094/37108</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	金	英	俊
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	9086	号
学位授与の日付	平成2年3月24日		
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻		
学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	Detection of Oxygen-Derived Free Radical Generation in the Canine Postischemic Heart During Late Phase of Reperfusion (犬虚血・再灌流心における再灌流後期のオキシラジカル産生)		
論文審査委員	(主査) 教授 多田 道彦		
	(副査) 教授 井上 通敏 教授 谷口 直之		

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

フリーラジカルはその強い生体膜障害作用により細胞毒性を発現するが、虚血、再灌流後の心筋障害における病態生理的意義は未だ仮説の域を出ない。例えば、冠動脈閉塞・再灌流モデル動物において、種々のラジカルスカベンジャーが心筋壊死進展抑止作用を示すか否かについても両論があり、フリーラジカルによる再灌流障害を疑問視する原因となっている。我々は、再灌流心筋組織において直接オキシラジカル産生を検出し得るか否かをみる目的で虚血再灌流心筋中のフリーラジカル濃度を電子スピン共鳴法(ESR)で測定した。

#### 〔方法〕

虚血再灌流心の作成：成犬(10-14kg)をペントバルビタール麻酔下に開胸し、左冠状動脈前下行枝を90分間結紮後に5時間再灌流を行った。いくつかの個体は、human recombinant superoxide dismutase(h-SOD, 2.5mg/kg/hour)とcatalase(2.5mg/kg/hour)を左心房に留置したカテールから持続的に点滴した。

フリーラジカル測定：虚血部並びに非虚血部心筋組織を貫壁的に生検採取し、直後に液体窒素中に凍結させた。凍結した組織片をカリウム磷酸緩衝液中で、50mM 5,5-dimethyl-1-pyrroline-n-oxide(DMPO)と反応させて10秒以内に急速解凍し、DMPO反応溶液を材料とした。DMPO反応液を偏平セルに吸引し、ESR spectrometer(Varien E-12)でDMPO radical adductを分析、定量した。測定条件はTM tableを用い、X-band, microwave frequency 9.45-9.75GHz, microwave power 5mw, modulation frequency 100kHz modulation amplitude 0.5G,

室温で行った。

心筋梗塞サイズの測定：先に結紮した左冠状動脈前下行枝にカテーテルを挿入して末梢血を、右心房中に留置したカテーテルからEvans blueを同時に注入した後、心臓を摘出した。左心室の短軸切片を作成し Evans blue 染色により結紮した動脈の灌流域（虚血域）を、並びに triphenyl tetrazolium ( TTC ) 染色により梗塞域をプラニメーターで測定し、心筋梗塞サイズを梗塞面積／虚血域面積(%)で求めた。

#### 〔成 績〕

(1) 虚血持続下及び非虚血部心筋からはDMPO radical adduct のシグナルを検出しなかったが、再灌流心筋からはDMPO-OOH ( $aN=14.2\text{ G}$ ,  $aH\beta=11.7\text{ G}$ ,  $aH\gamma=1.3\text{ G}$ ) と DMPO-OH ( $aN=aH=14.9$ ) の混合シグナルが検出された。

(2) 再灌流直後には15秒をピークとする主にDMPO-OOHの産生を認めた。このピークの持続時間は短く、1分間以内に消失した。その後、再灌流5時間後までDMPO-OOH並びにDMPO-OHの特異的スペクトルが検出された。各々再灌流後1時間、3時間にピーク値5.4,  $19.5\text{ }\mu\text{M}/0.1\text{ g tissue}$  を示した。

(3) h-SOD, catalase の経静脈投与によってDMPO-OOH産生はほぼ完全に抑制されるが、DMPO-OH産生には有意な影響を与えたなかった。

(4) 90分間虚血後の梗塞サイズ  $18.3 \pm 4.8\%$  (mean  $\pm$  SEM) は、5時間再灌流後には  $43.6 \pm 7.2\%$  と著明に拡大した。

#### 〔総 括〕

以上の結果は、虚血一再灌流心筋障害において、再灌流直後のみならず、再灌流後数時間、大量のオキシラジカル ( $\cdot O_2^-$ ,  $\cdot OH$ ) が虚血一再灌流心筋局所において産生され、これが心筋梗塞の進展に密接に関連することを示唆する。今後、これらオキシラジカルの産生源を明らかにするとともに、その代謝制御が心筋細胞障害の進展防止に如何に有効か追求していく必要がある。

### 論文の審査結果の要旨

虚血・再灌流後の心筋障害における酸素ラジカルの病態生理的意義は未だ明らかにされていない。本研究では、再灌流心筋組織における酸素ラジカル産生動態並びにその主たるラジカル種を明らかにする目的で、犬虚血再灌流心筋中の酸素ラジカル産生をDMPOスピントラップ法で測定した。その結果、スーパーオキシドアニオン及びヒドロキシラジカルが再灌流心筋中において検出されること、さらにこれら酸素ラジカル産生が心筋壊死進展過程（再灌流1-3時間後）に顕著となることが示された。本研究は、酸素ラジカルが再灌流心筋において産生されることを直接証明し、さらにこれが心筋細胞障害の進行に密接に関与する可能性を指摘した点意義が高く、再灌流障害の防止策を講じる上において重要な示唆を与える。以上より、本研究は学位に値するものと考えられる。