

論文審査の結果の要旨

Protective Effect of Hydrogen Gas Inhalation on- Muscular Damage using a Mouse Hind Limb Ischemia Reperfusion Injury Model

マウス後肢虚血再灌流障害モデルにおける筋損傷に対する水素ガス吸入の保護効果

日本医科大学大学院医学研究科 形成再建再生医学分野
研究生 渡邊 真泉
Plastic and Reconstructive Surgery 2017年掲載予定

遊離皮弁手術やターニケットを用いた四肢の手術において、虚血再灌流障害は組織壊死などの重篤な合併症を引き起こすことが知られている。再灌流時には活性酸素が急速に産生され、その過剰な蓄積は組織損傷を引き起こす。その際、水素は細胞毒性の高いヒドロキシラジカルを選択的に還元し、効果的に細胞を保護することが判明している。そこで本研究はマウス後肢骨格筋の虚血再灌流障害、さらに虚血再灌流障害後の機能回復における水素の有用性を検討した。7-8週齢のC57BL/6Jマウスの左後肢を駆血して解除する虚血再灌流モデルを作成し、画像検査で血流の途絶と再開を確認した。虚血は2時間、再灌流は4時間とした。さらに2%水素ガスの吸入投与のタイミングで、再灌流前投与、再灌流後投与、投与なし、Sham群の4群を作成し、腓腹筋とヒラメ筋の病理組織像を比較検討した。さらに機能回復の評価としてフットプリント法を用い、再灌流後24時間水素ガス投与を行い、事前投与のありとなしの群を比較した。その結果、水素事前投与群では梗塞部位の割合が有意に低く、筋線維の損傷が軽度であり、間質の好中球数も少なかった。第二次審査において、方法・結果は明瞭であり新たな治療法の効果を示した意義のある論文であるとの意見が得られた。虚血は2時間、再灌流は4時間と設定した理由についての質問では、既存の虚血再灌流に関する研究論文を参考にし、虚血時間と再灌流時間を変えて行った予備実験からも最適な時間を設定したと回答がなされた。また、虚血再灌流後の運動障害の原因として挙げられるものは何かという質問に対しては、腓腹筋及び前脛骨筋の損傷、また腓骨神経の損傷の可能性があるとの報告された。さらに、実際の臨床応用を考えた場合の水素ガス投与のタイミングに関する質問には、再灌流時に組織における水素濃度が有効濃度以上に達している事は必要であり、再灌流の30分から1時間前の水素ガス投与により組織保護効果が得られる可能性があるとの見解が述べられた。また、水素ガス以外にも虚血再灌流に対する治療があるのではないかとという質問に対しては、硫化水素や一酸化炭素は細胞毒性が指摘されており、またエダラボンでは腎機能障害、アスピリンやシロスタゾールなどは出血傾向などの副作用が報告されており、それらに比べて水素ガスは副作用の報告がなく、安全な治療法となる可能性があるとの回答がなされた。また、水素の投与は酸化ストレスによる組織への障害に対し予防的な効果を持つかという質問に対しては、細胞傷害性ヒドロキシラジカルを選択的に還元することで、細胞内シグナルや転写因子の発現に関与し、炎症や免疫応答に関する遺伝子の発現を制御することで組織保護効果を発揮するとの報告があると述べられた。さらに、ヒドロキシラジカル以外の活性酸素と水素の反応についての質問には、*in vitro*の系では、水素スーパーオキシドや過酸化水素、一酸化窒素などの活性の低い安定な活性酸素種とは反応せず、免疫機能など各種役割を果たす活性酸素への影響はないとされていると報告された。また、脂質の過酸化に対する水素の効果についての質問に対しては、4-HNEやマロンジアルデヒドなどの酸化ストレスマーカーは水素投与により有意に抑制されるとの報告があると述べられた。その他、駆血モデルや機能回復の評価方法の妥当性について、予備実験にて先行研究と同等の結果が得られたと報告された。また、機能回復の評価方法の妥当性に関しては、今回使用した評価方法は十分な再現性があるとし、その上で異なる評価方法の検討も必要であるとの回答がなされた。

このように本研究は遊離皮弁手術やターニケットを用いた四肢の手術に留まらず、あらゆる外傷や手術における虚血再灌流障害の新たな予防・治療法の可能性を報告した大変発展性のある画期的な研究であることが確認された。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。