

論文内容要旨

目 的

虚血が生じた心筋における細胞傷害の進行過程は、興味を持たれている問題である。しかし、傷害が可逆的で回復可能な細胞の存在については定説がなく、虚血による一連の変化の、どの時期に、どの部位に、どの程度の量で存在するのかも明らかでない。この問題は、心筋梗塞の効果的な治療という観点からみても重要と思われる。我々は、心筋エネルギー代謝の虚血による変化に着目し、心筋のエネルギー基質利用の面から、上記の問題を検討することを試みた。この際、オートラジオグラム (ARG) を用いることにより、局所での代謝を画像として連続的に評価できることを利用して、特に虚血境界域の動態に注目して実験を進めた。

方 法

ラットを麻酔下に開胸し、左冠動脈を結紮して急性虚血を作製した。次いで虚血時間の長さとし、心筋糖代謝の関係を検討する為に、以下の実験を行った。心筋虚血を作製したラットを3群に分け、虚血時間の長さを各々 (A群) 30分以内、(B群) 1~2時間、(C群) 4時間以上、とした。糖代謝の指標である¹⁴C-デオキシグルコース (¹⁴CDG) を規定の虚血時間が過ぎたのち静脈内投与し、30分後に屠殺、直ちに心臓を摘出して20 μ mの凍結組織切片として心筋のARGを作製した。さらに得られたARGから、デントメーターを用いて局所のトレーサー量を定量した。なお、動物を屠殺する直前に、左心室腔内へメチレンブルーを注入し、虚血領域を色素に染まらない範囲として同定し、対応するARGと比較した。続いて、虚血心筋における糖代謝と脂質代謝の同時評価を、二重標識ARGを用いて行った。糖代謝と異なり多様な基質が利用される心筋の脂肪酸代謝を評価するために、¹¹C-パルミチン酸と¹¹C-ベータメチルヘプタデカン酸の2種類のトレーサーを用いた。実験は、冠結紮後15分に¹⁴CDG、次いで冠結紮後30分に脂肪酸トレーサーを連続投与し、冠結紮後45分で屠殺した。次いで二重標識ARGを作製し、同一切片上での2種のトレーサーの分布を比較した。

結 果

A群 (虚血30分以内) におけるARGでは、¹⁴CDGの分布の差によって3つの領域が区別された。即ち、①均質な¹⁴CDGの取り込みを示す非虚血域、②¹⁴CDGが取り込まれない虚血中心部、及び、③非虚血域よりも高い¹⁴CDGの取り込みを示す虚血境界域の3域である。③の特徴的な境界域は、虚血領域の辺縁 (側方縁) に認められ、幅は最大で1~2mm程度であった。血流分布

を示すメチレンブルー染色と比較すると、血流分布と¹⁴CDGの取り込みの分布における虚血境界域は一致せず、高い¹⁴CDGの取り込みを示す境男域は、虚血域内に含まれた。一方C群（虚血4時間以上）になると、虚血域、非虚血境界域は区別されるも、虚血域に沿った強い¹⁴CDGの取り込みはもはや認められず、¹⁴CDGの分布と血流分布での虚血境界線は一致した。虚血時間の異なる3群で、¹⁴CDGの局所量を定量すると、非虚血域の取り込みに3群間で有意な差はなく、虚血時間が長びくことによる心筋糖代謝への悪影響はないものと思われた。しかるに虚血境界線に沿った部分の¹⁴CDG量は、(A群) $202 \pm 37 \text{ nCi/g}$ 、(B群) $161 \pm 17 \text{ nCi/g}$ 、(C群) $113 \pm 22 \text{ nCi/g}$ となり、境界域での糖代謝昂進は、早期には著明でも虚血時間が長びくと共にその程度は弱まることが確認された。以上のように、虚血領域に属しかつ糖代謝の昂進をしめす領域が、虚血早期においてのみ特徴的に認められることを踏まえて、この時期における心筋の脂肪酸代謝を糖代謝と比較しつつ検討した(二重標識ARG)。虚血境界域に注目すると、脂肪酸の取り込みと糖の取り込みには不一致が認められ、¹⁴CDGの取り込みの昂進している境界域において、脂肪酸の取り込みは低くとどまった。この事実は、非虚血域のトレーサー量を100%として標準化した半定量データにても明らかで、境界域における脂肪酸トレーサーの取り込み量は、2種のトレーサーいずれにおいても50%以下の値にとどまった。

考 察

心筋の主たるエネルギー基質である脂肪酸と糖の心筋局所での利用状態は、虚血の発生と共に大きく変化する。その際、虚血辺縁部においては、脂肪酸代謝が早期より障害されるのに対して、糖代謝は嫌気性解糖の昂進のよるとされる糖利用の昂進(正常の2倍近く)を示す。この現象は、虚血早期程より広い範囲で認められるが、虚血時間が長びくに従って消滅していく。本研究は、糖のアナログである¹⁴CDGの取り込みを指標とすることにより、古典的パストール効果を呈している細胞群の分布を画像としてとらえることができた例と考えられる。虚血にさらされながらも代謝活性の残存しているこれらの細胞群の存在は、虚血による傷害の進行過程を考える上で興味深く、また、治療の対象としての可能性も秘めていると期待される。

審査結果の要旨

目的：心筋虚血時には虚血域と非虚血域との間に虚血部境界領域が存在するといわれているが、その心筋代謝については不明の点が多い。最大の問題点は、細胞活動に不可欠な基質利用について三次元的に詳細に検討した成績がないことである。著者はオートラジオグラフィーを用いてその問題の解明を試みた。

方法：ラットを麻酔、開胸後、左冠動脈を閉塞し心筋虚血を作製、冠閉塞早期（30分以内）、1～2時間後及び4時間以上の各段階で虚血境界域の糖及び脂肪酸代謝を検討した。糖代謝は ^{14}C -deoxyglucose (^{14}C -DG)を、脂肪酸代謝は ^{11}C -palmitic acid (^{11}C -PA)あるいは ^{11}C - β -methyl heptadecanoic acid (^{11}C - β MHDA)をそれぞれマーカーとして用いた。オートラジオグラフィーは単に ^{14}C -DGのみを投与するSingle tracer法と、 ^{14}C -DG及び ^{11}C -PAか ^{11}C - β MHDAの両者を投与するdual tracer法の二種である。これら標識放射性物質を投与後、心を摘出しドライアイスで凍結させた後、Cryomicrotomeを用い20 μm の厚さの心横断切片を作り、それをX-ray film上にのせ4～5週後に像をえた。radioactivityの解析は、コンピューター連結したdensitometerを用いた。この際、graded standardsをあらかじめフィルム上に資料と一緒にしておくことで ^{14}C の定量的測定を可能とした。一方、 ^{11}C については、非虚血部のそれとの比での相対的量が示された。虚血域の固定は、心をKClで停止させる直前にメチレンブルーを左室に注入（0.8 ml）して行った。

結果：冠結紮早期では、虚血境界域に ^{14}C -DGの取り込み亢進（ $202 \pm 20 \text{ nCi/g}$ ）が認められた（非虚血部 $101 \pm 20 \text{ nCi/g}$, $P < 0.01$ ）。一方、 ^{11}C -PAあるいは、 ^{11}C - β MHDAを用いた脂肪酸の摂取については、非虚血部領域のその43%、28%と低下していた。メチレンブルー法では、この領域は灌流されていない虚血部に属していた。虚血時間の延長と共に、この亢進した ^{14}C -DG摂取の所見はなくなり、4時間後以上ではこの境界域は消失した。このことから、虚血境界域の細胞は虚血早期では糖代謝を中心に活動しており、この時期に血流を再開させれば壊死から救いうる可能性が示された。

以上より、従来の研究では明らかでなかった虚血部境界域の糖及び脂肪酸代謝の動態が明確にされた。これらの事実は急性期における虚血心の病態解明に重要であるとともに、心筋梗塞後の虚血巣の縮小の対策に重要な示唆を与えるものである。よって本研究は学位の授与に値するものと考えられる。