

学 位 論 文 要 旨

氏 名 小林 真理子 

論 文 題 目

「A Rho-kinase inhibitor improves cardiac function
after 24-hour heart preservation」

(移植心臓における Rho-kinase inhibitor の心保護効果)

指 導 教 授 承 認 印

宮地 鎧



A Rho-kinase inhibitor improves cardiac function after 24-hour heart preservation (移植心臓における Rho-kinase inhibitor の心保護効果)

氏 名 小林 真理子

要旨

生活習慣の欧米化に伴い、虚血性心疾患の罹患率は増加の一途を辿り、心臓血管手術やカテーテル治療が盛んに行われているが、治療困難な難治性重症心不全患者数も年々増加傾向にある。重症心不全に対する最も有効な治療法として心移植があり、今後心移植適応患者数の一層の増加が予測される。長時間の摘出後心筋虚血障害は移植後死亡の危険因子であるため、長時間の心筋虚血に耐えうる心筋保存液の開発は、移植後の心不全の軽減と遠隔期成績の改善に寄与する可能性があり、また、期待されている将来の再生医療における臓器保存にも役立つ可能性がある。

Donor heart は心停止、低温虚血、移植後再灌流などの様々な因子にさらされ、その結果、血管内皮細胞障害や心筋障害が生じ、移植後の心機能低下を生じる。従って、血管内皮細胞障害や心筋障害を可能な限り抑えることが重要とされている。

近年、Rho 及び Rho-kinase を介する経路が虚血再灌流障害に関与していると報告されている。血管内皮細胞や平滑筋細胞に存在する small GTP binding protein receptor に angiotensin-II、endothelin-I 等の agonist が結合することにより Rho の signal pathway が活性化される。Rho は標的蛋白である Rho-kinase (蛋白質リン酸化酵素)と結合することにより、Rho-kinase を活性化され、ミオシン軽鎖 (MLC) のリン酸化を促し、MLC 脱リン酸化を阻害することでアクチンとミオシンの親和性を増加させ、平滑筋収縮を増加させることが主な働きとされていた。しかし、この他にも Rho-kinase の活性化は心筋肥大や炎症性サイトカインの放出、炎症細胞の浸潤、遺伝子発現にまで影響を及ぼし、さらに、虚血再灌流障害、冠動脈攣縮、動脈硬化、心筋梗塞後の remodeling への関与も報告されている。

以上より、Donor heartの虚血再灌流障害の軽減にRho-kinase inhibitorが有効であると推測し、Rho-kinase inhibitorを含んだ心保存液による長時間心保存におけるRho-kinase inhibitorの有用性を明らかにするため心機能回復を中心に評価する実験を行った。

体重 3.1 ± 0.1 kg、日本白色種ウサギを使用。九州大学式心筋保護液 (KU) にて心停止後、ウィスコンシス大学臓器保存液 (UW) を投与し、24 時間 1°C で UW 中に保存した。RKI 群 ($n=8$) では、RKI を KU に 0.1mg/kg 、UW に 0.1mg/kg 、24 時間保存の UW に 0.5mg/kg 投与し、RKI 非投与群を C 群 ($n=8$) とした。血液充填した Langendorff 回路 (貯血ウサギ $n=8$) に、Support rabbit ($n=16$) を用いて血液交差灌流し、120 分間再灌流を行った。再灌流後の心機能を Frank-Starling 曲線で評価し、冠動脈流量 (CBF)、摘出心臓の心拍数 (HR)、血清 CK-MB 値を測定し、2 群間の比較検討を行った。RKI の心筋での作用の根拠となる

phosphorylated myosin light chain (pMLC) を Western blotting にて測定することで評価し、心機能改善に endothelial nitric oxide synthase (eNOS) の保持が関与したと予測し、Real-time reverse transcriptase PCR にて eNOS の定量を行った。

結果は、再灌流 60 分, 120 分での摘出心臓の Frank-Starling 曲線における心機能は、RKI 群において有意に良好であった ($p < 0.01$, $p < 0.01$)。再灌流 120 分での CBF は、RKI 群で $103.6 \pm 18.5 \text{ ml/min}$, C 群で $56.7 \pm 35.0 \text{ ml/min}$ ($p < 0.01$) であり、HR は、RKI 群で $197.3 \pm 44.8 \text{ bpm/min}$, C 群で $133.5 \pm 50.6 \text{ bpm/min}$ ($p < 0.05$) であり RKI 群において正常に近似した。再灌流 60 分から 120 分の CK-MB の変化率では、RKI 群では $132.9 \pm 17.4\%$ であるのに対し、C 群では $256.2 \pm 125.2\%$ であった ($p < 0.05$)。pMLC は RKI 群において有意に低下しており、Rho pathway が抑制されていた。eNOS は RKI 群では C 群の 4 倍の発現がみられた。

24 時間心停止後の虚血再灌流後の心機能は、RKI 群において正常に近い状態を示した。pMLC の結果より、虚血再灌流後の Rho 発現経路が抑制され、長時間心保存後の虚血再灌流障害が軽減したと考える。また、RKI 群において、HR の回復や冠動脈流量増加、並びに心機能回復には、eNOS 発現が関与した可能性が高い。

長時間心保存後の虚血再灌流障害の軽減に、心筋保護液、および心保存液内に投与した RKI が有効であった。