

# 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 池 本 公 紀

主論文 1 編

Raman Spectroscopic Assessment of Myocardial Viability in Langendorff-Perfused Ischemic Rat Hearts.  
Acta Histochemica et Cytochemica (掲載予定)

## 審査結果の要旨

虚血に陥った心筋ではミトコンドリアにおける ATP 生成が阻害され、その収縮能は速やかに低下する。またその早期においてミトコンドリア電子伝達系複合体IVによるシトクロム c の酸化反応が進まなくなることで、還元型シトクロム c の割合が増加する。虚血によるミトコンドリアの変化は経時的に進行し、ついにはその viability (生存能) は失われる。現状実臨床では術中リアルタイムに viability を直接評価することはできない。この問題に対し申請者は、Raman 分光法を適用すれば心筋の viability を術中に直接評価できるのではないかと考えた。Raman 分光法は、分子振動に基づくラマン散乱光を利用し非標識に物質の分子構造を同定する手法である。これまでに、Raman 分光法によるラットの健常心筋と梗塞心筋との識別や、虚血早期における還元型シトクロム c のピーク増強が報告されてきた。そこで申請者は、虚血心筋に再灌流・再虚血を誘導することで、viable な心筋に比べ non-viable な心筋ではシトクロム c の酸化還元状態の変化が乏しくなるとの仮説を立てた。

Wister Rat に全身麻酔を施した後心臓を速やかに摘出し、上行大動脈より 37°C Tyrode 液で冠動脈の灌流を開始した。灌流開始 30 分後心拍動を停止させ、冠動脈を結紮し、虚血域・非虚血域に分けた。初回の冠動脈結紮時間により 30 分および 120 分虚血群に分け、その後再灌流 20 分、再虚血 30 分を誘導した。各々の領域における心外膜直下心筋を Raman 分光顕微鏡で観察し、Raman スペクトルを経時的に記録した。また両心筋群において、ミトコンドリア活性、組織形態および超微細構造の変化をそれぞれ評価し Raman スペクトルの変化との関連性について検討した。

初回虚血誘導後、虚血域において  $747\text{ cm}^{-1}$  および  $1124\text{ cm}^{-1}$  の Raman スペクトルのピーク強度 (還元型シトクロム c を反映) は速やかに上昇した。再灌流するとこれらのスペクトルピークは低下したが、その低下は 30 分虚血心筋に比べ 120 分虚血心筋ではピークの低下が遅く不完全であった。再虚血時、スペクトルピークは 30 分虚血心筋ではほぼ初回と同程度にまで上昇したが、120 分虚血心筋では 50% 程度の上昇に留まった。虚血負荷中に変化が少ない脂質由来の band ( $1447\text{ cm}^{-1}$ ) で標準化を行ったが、ピーク強度の変化と同様の傾向を示した。加えて、120 分虚血心筋では TTC 染色にて複合体 II の障害が示唆され、電子顕微鏡にてミトコンドリアの浮腫状変化および内膜構造の破壊を認めた。これより 120 分虚血心筋では電子伝達系の活性が障害されていることが示唆され、120 分虚血心筋における再灌流・再虚血誘導時の Raman スペクトル変化の鈍化を反映し、ミトコンドリア電子伝達系の不可逆的な障害を反映しているものと考えられた。

以上が論文の要旨であるが、Raman 分光顕微鏡によって虚血心筋の viability を非標識で直接評価できることが明らかにした点で医学的価値のある研究と認める。

令和 3 年 4 月 1 5 日

審査委員 教授 池 谷 博 ㊟

審査委員 教授 井 上 匡 美 ㊟

審査委員 教授 的 場 聖 明 ㊟