

## 学 位 論 文 要 旨

### 研究題目

Reactive Oxygen Species Cause Exercise-Induced Angina in a Myocardial Ischaemia-Reperfusion Injury Model

( 活性酸素種は心虚血再灌流障害における労作性狭心症の発症に関与する )

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻 器官・代謝制御系

心臓血管外科学 (指導教授 坂口 太一)

氏 名 王 曉航

**研究目的：**経皮的冠動脈形成術 (PCI) は、閉塞性冠動脈疾患での血管狭窄を低侵襲的・効果的に改善する治療法である。しかしながら近年では、PCI 治療を受けた 30~40%の患者で狭心症が持続・再発することが明らかとなってきた。本研究では、虚血再灌流 (I/R) 障害モデル動物を用いて、これまで不明であった虚血再灌流障害に伴う労作性狭心症の発症に関する分子メカニズムについて明らかにする事を目的とした。

**研究方法：**雄性 Sprague Dawley ラット、C57BL/6 マウス、Transient Receptor Potential Ankyrin 1 (TRPA1) 遺伝子欠損マウスを用いて、左冠状動脈の前下行枝を 30 分結紮する事により I/R 障害モデルを作成した。対照群であるシャム群は開胸のみを行った。I/R 障害の評価として、Evans Blue/TTC 染色を用いた組織学的評価と変化に関して、心電図を用いた機能的評価を行った。I/R モデル作成 2 日後にトレッドミルによる 10 分間の運動負荷を行い、免疫染色法を用いて脊髄における Phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (p-ERK) の発現解析を行った。心臓組織内の活性酸素種の産生は、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> アッセイ法と ROS 感受性蛍光色素を用いて解析を行った。脊髄後根神経節 (DRG) 細胞の機能的な解析として、*ex vivo* の DRG 標本を用いたホールセルパッチクランプ法を行った。

**研究結果：**I/R モデル動物において、I/R 障害に伴い心臓内のリスクエリア (微小血管障害エリア) の有意な増大が確認された。10 分間の強制運動に伴い、モデル動物では脊髄後角 I-II 層における p-ERK の発現が有意に増加した。また運動負荷に伴い、I/R 障害後の心臓では過酸化水素が有意に産生されることが認められた。活性酸素種のスキャベンジャーである TEMPOL の静脈内投与により、I/R 障害後の労作性狭心症を改善した。心筋への過酸化水素の直接投与は、脊髄後角での p-ERK の発現神経細胞数の増加をもたらした。パッチクランプ法により心臓を支配する DRG 神経細胞は TRPA1 を発現することが明らかとなり、TRPA1 遺伝子欠損マウスでは I/R 障害後の労作性狭心症の発症が有意に軽減された。

**研究考察：**心虚血再灌流後に誘発される労作性狭心症は、運動負荷により心臓内で活性酸素種を産生し、TRPA1 を発現する心臓知覚神経を刺激する事によって誘発されることが示唆された。また、臨床において TEMPOL などの活性酸素種のスキャベンジャーは心虚血再灌流後の労作性狭心症に対して有効であることが考えられた。