

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	林 応 典
主 論 文 題 名				
Protective Effects of Hydrogen Gas Inhalation for Hindlimb Ischaemia—Reperfusion Injury in a Mouse Model (後下肢虚血再灌流モデルマウスにおける水素ガス吸引の有用性に関する研究)				
(内 容 の 要 旨)				
虚血再灌流障害は、虚血組織に急激に血流が流れ込むことで、壊死物質の流出、様々なサイトカインの産生、フリーラジカルの産生などにより、様々な炎症反応が惹起され生じる。局所のみならず、全身諸臓器へと作用し、時に多臓器不全へと陥る致命的合併症の1つである。これまで虚血再灌流障害を予防する方法が多数報告されてきたが、未だ実臨床で応用されているものはない。水素は2007年に脳梗塞の虚血再灌流障害抑制効果が報告されて以降、様々な臓器の虚血再灌流障害に対し有効性が報告され、さらに人間に対する安全性も証明されている。下肢虚血再灌流障害に対しても、水素の有効性が示された報告はあるが、短期成績のみの検討にとどまっている。本研究は、後下肢虚血再灌流モデルマウスを用いて、水素吸入群 (H群) とコントロール群 (C群) を比較し、短期～長期成績を検討した。 後下肢虚血再灌流モデルマウスとして、マウス左下肢を結束バンドで2時間駆血するモデルを作製した。H群は1.3%水素ガスと麻酔ガスの混合ガスを、C群は麻酔ガスと空気の混合ガスを、駆血開始から駆血解除 (再灌流開始) 後6時間まで吸入させた。評価のタイミングとして全16ポイント (再灌流開始後0,2,4,6,8,10時間,1,2,3,4,5,6,7,14,21,28日) を設定し、H群C群それぞれ各ポイント5匹、計160匹で検討した。各ポイントで血清IL-6測定、左後下肢の前脛骨筋の採取を行いHE染色、免疫組織化学染色 (CD45RB,F4/80,Ly6G) による病理組織学的検討を行なった。 再灌流後0時間,2時間の血清IL-6は、H群 (5.78±3.48 pg/Ml,102±10.5 pg/Ml) 、C群 (12.8±2.64 pg/Ml,319±104 pg/Ml) とそれぞれH群で有意に低かった (p=.013,P=.014) 。組織学的評価 (HE染色) では、筋構造が消失し炎症細胞浸潤を認める領域をDamage Area (DA) と定義し、再灌流後3,4,5,6日のDA割合 (DA面積/全面積) はH群 (22.3%±25.5%,33.6%±30.6%,19.1%±26.1%,25.1%±26.5%) 、C群 (82.5%±14.7%,87.1%±14.3%,98.5%±1.8%,76.2%±27.5%) であり、いずれもH群で有意に低かった (P=.003,P=.025,P<.001,P=.005) 。再灌流後28日では、正常筋細胞と再生筋細胞と脂肪細胞が混在しており、筋構造が消失した部位は再生筋細胞と脂肪細胞に置換されていた。再生筋細胞/全細胞数の比率はH群9.1%,C群95.3%と有意にH群で低かった (p<.001) 。免疫組織学的検査では、各炎症細胞 (白血球、リンパ球、マクロファージ) 浸潤は、再灌流後4日にピークを認め、H群で全ての炎症細胞浸潤が抑制された。 水素の虚血再灌流障害に対する保護的作用に関しては、完全に解明されてはいないが複数のメカニズムが関与しているとされている。本研究において、メカニズムの解明には至らなかったが、水素を吸引させることで、後下肢虚血再灌流障害モデルマウスにおける血清IL-6の抑制、筋組織障害抑制が示された。また長期的な経過では、正常筋細胞および筋構造が保たれていたことが明らかとなった。本研究によって、水素が下肢虚血再灌流障害の予防法となりうることを示唆された。				