

氏名・(本籍)	安部 恭子 (山形県)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博乙第 611 号
学位授与の日付	令和 2 年 9 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
研究科・専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	<b>Nicorandil, a KATP Channel Opener, Attenuates Ischemia- Reperfusion Injury in Isolated Rat Lungs</b> (肺虚血再灌流障害に対するニコランジルの効果)

論文審査委員	(主査) 島田 洋一 教授
	(副査) 中永 士師明 教授      橋本 学 教授

## 学位論文内容要旨

論文題目 Nicorandil, a  $K_{ATP}$  Channel Opener, Attenuates Ischemia-Reperfusion Injury in Isolated Rat Lungs  
(肺虚血再灌流障害に対するニコランジルの効果)

申請者氏名：安部 恭子

### 研究目的

肺の虚血再灌流障害のメカニズムは未だ十分に解明されていない。一方、ニコランジルは  $K_{ATP}$  チャンネル開口作用と硝酸作用を有するハイブリッド薬であり、心臓においては数多くの研究報告がなされ冠動脈拡張薬として臨床使用されているが、肺の虚血再灌流障害に関する研究は少ない。特に障害の指標の一つである微小血管の透過性亢進に焦点をあてたニコランジルの研究はほとんど見当たらない。これらより、本研究の目的を、1)ラット分離肺灌流モデルにおいて、肺虚血再灌流障害に対するニコランジルの保護効果を検証すること、さらに2) その保護効果のメカニズムを、ニコランジルの特性である  $K_{ATP}$  チャンネル開口作用・一酸化窒素(NO)産生作用・可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC)/環状グアノシン1リン酸(cGMP) 経路の活性化に着目し検証すること、とした。

### 研究方法

雄SDラットの分離肺灌流モデルを用いた。虚血再灌流群(IR群, n = 6), ニコランジル投与後虚血再灌流群(N+IR群, n = 6), グリベンクラミド( $K_{ATP}$  チャンネル拮抗薬)投与後N+IR群(G1b+N+IR群, n = 6), L-NAME (NO合成酵素阻害薬)投与後N+IR群(L-NAME+N+IR群, n = 6), 選択性可溶性グアニル酸シクラーゼ阻害薬 ODQ(1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one)投与後N+IR群(ODQ+N+IR群, n = 6) および対照群(Sham群, n = 6)の6群に分けた。

ペントバルビタール 30 mg/kg を腹腔内に投与後、気管切開し人工呼吸とした。主肺動脈に送血用、左心房に脱血用のカニューレを留置し、心臓・肺を一塊にして摘出した。灌流液(重炭酸加生理食塩水 100 ml, アルブミン 5 g, デキストロース 100 mg, インスリン 20 mU) 50 ml で血液を洗い流した後、天秤に載せ、40 ml/kg(体重)/min の灌流量を得られる位置に動脈リザーバーを設置し定常圧で灌流した。

Sham群を除く5群は分離肺を30分間灌流後、灌流および換気を60分間停止した虚血状態とし、その後60分間再灌流を行なった。ニコランジル(6 mg)は虚血30分前に投与した。グ

リベンクラミド(3  $\mu$ M), L-NAME (100  $\mu$ M), ODQ (30  $\mu$ M)はそれぞれニコランジル投与5分前に投与した。Sham群は150分間換気と灌流を継続した。

肺動脈圧・肺静脈圧・気道内圧・肺重量・灌流量を連続的に測定し、肺血管抵抗・濾過係数・肺の湿乾重量比(WW/DW比)を虚血直前・再灌流30分後・60分後に算出した。値は平均±標準偏差で示し、統計処理は分散分析を用い、 $P < 0.05$ を有意とした。

### 研究成績

肺血管抵抗の経時的変化は6群間で差がなかった。

虚血前の濾過係数は6群間で差がなかった。再灌流60分後の濾過係数は虚血前に比べIR群で有意に上昇した(虚血前  $0.82 \pm 0.25$  vs. 60分後  $2.82 \pm 0.68$  ml/min/mmHg/100 g;  $P < 0.01$ ) が、Sham群では変化しなかった(虚血前  $0.87 \pm 0.25$  vs. 60分後  $1.35 \pm 0.37$  ml/min/mmHg/100 g; 有意差無し)。ニコランジルの虚血前投与は再灌流60分後の濾過係数上昇を有意に抑制した(IR群:  $2.82 \pm 0.68$ , N+IR群:  $0.92 \pm 0.28$  ml/min/mmHg/100 g;  $P < 0.01$ )。また、虚血前ニコランジル投与はIR群に比べ肺の湿乾重量比を有意に低下させた(IR群:  $10.9 \pm 2.5$ , N+IR群:  $8.3 \pm 0.41$ ;  $P < 0.05$ )。

ニコランジル投与前のグリベンクラミドおよびODQの投与により、再灌流後60分の濾過係数は虚血前に比べ有意に上昇し(G1b+N+IR群: 虚血前  $0.85 \pm 0.26$  vs. 60分後  $2.81 \pm 0.75$  ml/min/mmHg/100 g;  $P < 0.01$ ) (ODQ+N+IR群: 虚血前  $0.76 \pm 0.77$  vs. 60分後  $2.43 \pm 0.89$  ml/min/mmHg/100 g;  $P < 0.01$ )、ニコランジルの濾過係数上昇抑制効果を阻害した。L-NAMEの虚血前投与では再灌流後の濾過係数の変化はなく(虚血前  $1.02 \pm 0.28$  vs. 60分後  $1.07 \pm 0.32$  ml/min/mmHg/100 g; 有意差無し)、ニコランジルの濾過係数上昇抑制効果は阻害されなかった。

### 結論

ニコランジルはラット分離肺において虚血再灌流後の微小血管の透過性亢進を抑制し、虚血再灌流障害を軽減した。この保護効果は、 $K_{ATP}$  チャンネル拮抗薬であるグリベンクラミドとsGC阻害剤であるODQによって阻害された。したがって、ニコランジルの肺虚血再灌流障害軽減作用には $K_{ATP}$  チャンネル開口作用とsGC-cGMP経路活性化作用が関与していることが示唆された。

## 学位（博士一乙）論文審査結果の要旨

主 査： 島田 洋一

申請者： 安部 恭子

論文題名：Nicorandil, a  $K_{ATP}$  Channel Opener, Attenuates Ischemia-Reperfusion Injury in Isolated Rat Lungs

(肺虚血再灌流障害に対するニコランジルの効果)

### 要旨

著者の研究は論文内容要旨に示すように、ラット分離肺灌流モデルを用いて、肺虚血再灌流障害に対するニコランジルの保護効果を検証し、さらにその保護作用のメカニズムをニコランジルの特性である  $K_{ATP}$  チャンネル開口作用・一酸化窒素 (NO) 産生作用・可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC) / 環状グアノシン 1 リン酸 (cGMP) 経路の活性化に着目し、検討したものである。

肺の虚血再灌流障害は肺移植後早期死亡の大きな原因の一つであるが、いまだそのメカニズムは十分には解明されていない。一方、ニコランジルは本邦で開発された冠動脈拡張作用を有する薬剤であり、すでに臨床使用されているが、肺の虚血再灌流障害に関する研究は少ない。著者らはラット分離肺における虚血再灌流後の微小血管透過性亢進に焦点を当て、ニコランジルの保護効果を検証した。またそのメカニズムをニコランジルの特性のそれぞれの阻害薬を用いて検証した。

本研究の斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明瞭さは以下のとおりである。

#### 1) 斬新さ

ニコランジルの肺虚血再灌流障害に対する研究報告は少ない。特にニコランジルの保護作用のメカニズムを検証した研究は見当たらない。本研究は、ニコランジルの特性である  $K_{ATP}$  チャンネル開口作用・一酸化窒素 (NO) 産生作用・可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC) / 環状グアノシン 1 リン酸 (cGMP) 経路の活性化に着目し、それぞれの阻害薬を用いて濾過係数と灌流後の湿乾重量比を比較検討し、保護作用のメカニズムを検証した点が斬新であるといえる。

#### 2) 重要性

肺虚血再灌流障害は、肺移植後の早期死亡原因の一つであるグラフト機能不全の原因と

されており、ドナー肺の虚血再灌流障害の軽減及び予防が期待されている。また移植以外にも肺血栓塞栓症の血栓除去後や人工心肺を使用する手術でも肺虚血再灌流障害は起こり得る。本研究では、ラット分離肺の灌流モデルにおいて肺虚血再灌流障害に対するニコランジルの保護作用とそのメカニズムが検証された。実際の臨床における治療においても非常に重要と思われる。

#### 3) 実験方法の正確性

本研究では濾過係数 (K<sub>f</sub>c) と実験後の肺湿乾重量比を微小血管透過性亢進の指標として用いているが、これは過去に報告された研究と同様の手順であり、正確に測定している。ラット分離肺の灌流モデルの作成と評価項目の測定は同一検者で行い、測定に関する検者間のバイアスは排除している。さらに、全ての結果は統計学的検討が加えられており、実験方法は客観的で正確性がある。

#### 4) 表現の明瞭さ

本研究の持つ意味、ニコランジルと肺虚血再灌流障害についての概要、各種計測方法、評価項目、得られた結果、考察は簡潔かつ明瞭に記載されている。

以上述べたように、本論文は学位を授与するに十分値する研究と判定する。