

氏名(本籍)	まつ ばら むね あき (栃木県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博乙第2462号		
学位授与年月日	平成21年10月31日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	<b>Single Dose GLP-1-Tf Ameliorates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury</b> (トランスフェリン結合グルカゴン様ペプチド-1の心筋虚血再灌流傷害軽減効果)		
主査	筑波大学教授	博士(医学)	佐藤幸夫
副査	筑波大学教授	医学博士	筒井達夫
副査	筑波大学准教授	博士(医学)	猪股伸一
副査	筑波大学准教授	博士(医学)	堀米仁志

## 論文の内容の要旨

### (目的)

ウサギ心筋虚血再灌流傷害モデルを用いて、虚血心筋に対するグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) の再灌流傷害抑制効果を検討した。GLP-1はインスリン類似の生物学的特性とインスリン分泌促進作用を併せ持つため、これらの作用を介して心筋アポトーシス抑制効果を発揮することが期待される。またはインスリンの作用を介さない直接のアポトーシス抑制作用をも有すると考えられている。

GLP-1はその半減期が約1~2分と非常に短いため糖鎖欠損トランスフェリン (Tf) をGLP-1と結合 (GLP-1-Tf) させ半減期を延長し、再灌流傷害抑制効果を検証した。

### (対象と方法)

体重2.9 - 4.6 kgのNew Zealand white rabbitを用いた。左室容積の約30%に心筋虚血が生じるように左冠動脈回旋枝を心基部と心尖部の中間点で遮断し、30分間の心筋虚血の後180分間再灌流させ心筋虚血再灌流モデルとした。

虚血再灌流12時間前にGLP-1-Tf (10mg/kg) を皮下注射する群 (虚血前-GLP-1-Tf群; n = 10)、虚血再灌流直後にGLP-1-Tf (10mg/kg) を静脈内1回投与する群 (虚血後-GLP-1-Tf群; n = 10)、虚血再灌流直後にTf (10mg/kg) のみを静脈内1回投与する群 (Tf群; n = 4) と薬物無投与群 (Control群; n = 19) の計4群に分け比較した。虚血12時間前の覚醒状態のウサギにGLP-1-Tfを鎮静剤無投与で経静脈投与するのは難しく、虚血前のGLP-1-Tf投与は静脈内注射と薬剤半減期に有意差を認めない皮下注射とした。

心拍数、末梢動脈圧、左室拡張末期圧を測定、心臓超音波検査による心機能評価を虚血前、虚血20分後、再灌流直後、再灌流165分後に行った。再灌流開始180分後に血清GLP-1濃度を測定し心臓を摘出した。摘出心を用いて心筋虚血及び梗塞範囲を測定し、ISOL法による心筋虚血範囲内の心筋細胞アポトーシスを評価した。正常心臓、虚血後LP-1-Tf群とControl群の心筋虚血領域内のミトコンドリアの形状変化を電子顕微鏡下で比較した。

## (結果)

再灌流 180 分時の血清 GLP-1 濃度は、虚血後 -GLP-1-Tf 群が虚血前 -GLP-1-Tf 群に比較して 10 倍以上の高値を示し、Control 群に比しては両群とも高値を示した。

心筋虚血範囲は 4 群間に有意差なく、梗塞範囲は Control 群、Tf 群に比して虚血前 -GLP-1-Tf 群と虚血後 -GLP-1-Tf 群で縮小した。心筋細胞のアポトーシス指数も、Control 群、Tf 群に比し虚血前 -GLP-1-Tf 群と虚血後 -GLP-1-Tf 群で有意に低下した。電子顕微鏡下でのミトコンドリアは、虚血後 GLP-1-Tf 群では正常心臓に近いままであったが、Control 群ではミトコンドリアが正常心臓とは異なり密に集合せず、ミトコンドリア外膜の崩壊も認めた。

心臓超音波検査を用いた心機能評価では、再灌流 165 分時に虚血後 -GLP-1-Tf 群において Control 群に比べ心機能が改善した。

## (考察)

GLP-1-Tf は虚血前だけでなく虚血再灌流時の投与でも心筋梗塞巣縮小効果と心筋アポトーシス抑制効果を示した。この GLP-1 の再灌流傷害抑制効果は、絶食かつ非糖尿病のインスリンフリーモデルで行われたことを考えると、少なくとも部分的にはインスリンの作用を介さない GLP-1 の直接的な心筋アポトーシス抑制によるものであろうと推測され、そのメカニズムの一つとして、GLP-1 がアポトーシスを誘導するミトコンドリアの崩壊を抑えるものと考えた。

また再灌流 180 分後の血清 GLP-1 濃度は、虚血後 -GLP-1-Tf 群が虚血前 -GLP-1-Tf 群に比較して 10 倍以上の高値を示したが、両群の心筋梗塞範囲や心筋細胞アポトーシス指数の差には結びつかなかった。しかし、再灌流 165 分後の心機能評価では虚血後 -GLP-1-Tf 群の明らかな優位性が示され、再灌流時点での GLP-1 の血中濃度が高いほど心筋傷害の抑制効果が強いものと推測された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

松原氏の研究により、ウサギ心筋虚血再灌流傷害モデルにおいて、GLP-1-Tf は本来短い GLP-1 の血中半減期を延長させ、臨床応用実現可能な再灌流時の投与でさえも心筋アポトーシス抑制を伴う心筋梗塞後再灌流傷害軽減効果をもたらす有用な薬剤の一つである可能性が示唆された。GLP-1-Tf の用量と効果の検討、そしてどのようなメカニズムで心筋梗塞後再灌流傷害軽減効果をもたらすかについては本研究のみでは推測の域をはず、今後の研究において引き続き解明を続けて頂きたい。

著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。