

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 741 号	氏名	大成由音
審査委員会委員		主査氏名	今井浩光 
		副査氏名	高橋尚彦 
		副査氏名	田中遼大 
<p>論文題目</p> <p><b>Resorcimoline as a Novel Therapeutic Agent Attenuates Ischemia-Reperfusion Injury in Hind Extremities</b>                  (リゾルシモリンの新規治療薬としての可能性：下肢虚血再灌流障害の軽減効果)</p> <p>論文掲載雑誌名                  Annals of Vascular Surgery</p> <p>論文要旨</p> <p>急性の下肢虚血は不可逆的な筋肉の損傷を引き起こす危険があり、損傷を防ぐためには血行再建術が重要であるが虚血再灌流障害のリスクも有する。この障害の発生機序には活性酸素の影響が大きいと考えられている。発表者らは、リゾルシモリン (resorcimoline, RML) という新規に開発した活性酸素除去剤の、虚血再灌流障害への有効性を、ラットを用いて検討した。</p> <p>ラットの両側後肢の大腿動脈をナイロンバンドで 120 分間閉塞し、その後 24 時間の再灌流を行うことで虚血再灌流モデルを作成した。RML 群 (n=9) には再灌流直前にリゾルシモリンを静脈注射 (6mg/kg) し、生理食塩水群 (n=9) には同量の生理食塩水を投与した。運動機能は、正常な歩行に戻るまでに必要な歩数をカウントすることで評価した。筋損傷を評価するため、クレアチンキナーゼ (CK) および乳酸脱水素酵素 (LDH) を含む血清バイオマーカーを測定した。また、筋組織損傷はヘマトキシリン・エオジン染色により組織学的に評価し、筋 DNA の酸化的損傷は免疫組織化学による 8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン (8-OHdG) 陽性細胞の割合測定によって評価した。</p> <p>結果は、RML 群では生理食塩水群と比較して、正常な歩行に戻るまでに必要な歩数が有意に少なかった (p=0.04)。血清中の CK および LDH レベルは RML 群で有意に低かった (p=0.03, p=0.005)。また、RML 群では筋損傷の割合 (p=0.004) および 8-OHdG 陽性細胞の割合 (p=0.01) が、生理食塩水群と比較して有意に低いことが示された。これらの結果より、リゾルシモリンは再灌流中に発生するスーパーオキシドアニオンやヒドロキシルラジカルといった活性酸素を除去し、筋細胞の酸化的 DNA 損傷を抑制する機序により、下肢虚血再灌流障害における筋損傷と運動機能障害を軽減したことが示唆された。</p> <p>本研究は、現在有効な治療法、治療薬物が乏しい虚血再灌流による筋肉障害に対して、リゾルシモリンが新たな治療薬となる可能性を示したものであり、将来の臨床に繋がる可能性を含めて意義が大きいものである。</p> <p>このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験  
の結果の要旨  
学力の確認

審査区分 課・論	第741号	氏名	大成由音
審査委員会委員	主査氏名	今中浩光	
	副査氏名	高橋尚秀	
	副査氏名	田中遼人	
<p>学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下のような質問、コメントを受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. リゾルシモリンの発見の経緯は。</li> <li>2. リゾルシモリンの化学構造の特徴と、特にラジカルスカベンジ能を示すための活性部位はどこか。</li> <li>3. リゾルシモリンの投与量(6mg/kg)の設定根拠は何か。100<math>\mu</math>Mまでは毒性を示さないとのことであるが6mg/kgで投与した場合の血中、組織中濃度は100<math>\mu</math>M以下か。</li> <li>4. リゾルシモリン合成後の試薬としての品質の評価と品質管理の方法は。</li> <li>5. 120分間の虚血と24時間の再灌流というプロトコールの設定根拠はなにか。予備的に他の虚血時間の効果を検討したか。</li> <li>6. ラットの麻酔および鎮痛はどのように行ったか。呼吸管理は必要なかったか。</li> <li>7. 統計解析方法の詳細を説明せよ。</li> <li>8. 組織標本での筋肉の評価で、傷害部位と非傷害部位が明瞭に分かれた理由はどうか。</li> <li>9. リゾルシモリン群の8-OHdGの分布が二極化しているとすれば、考えられる理由は何か。</li> <li>10. BSR実験の結果でラジカル種毎にリゾルシモリンの至適濃度が異なるが、本研究の投与量でどのラジカルに対する効果が発現したと考えられるか。</li> <li>11. 虚血再灌流障害のパラメーターとしてミトコンドリア機能の評価は重要であるが、確認したか。</li> <li>12. 論文では記載がないが比較検討したエダラボンについて、臨床での脳卒中患者への有効性はどのように評価されているか。</li> <li>13. エダラボンの投与量も6mg/kgとした根拠は何か、有効性が確認されているのか。</li> <li>14. リゾルシモリンは虚血後再灌流直前に投与しているが、実臨床でも血行再建術前に予防的に投与することを想定しているか。</li> <li>15. リンパ管の機能不全も虚血再灌流障害に関与した可能性があるのではないか。今後検討して欲しい。</li> </ol> <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

# 学 位 論 文 要 旨

氏名 大成 由音

## 論 文 題 目

Resorcimoline as a Novel Therapeutic Agent Attenuates Ischemia-Reperfusion Injury in Hind Extremities

(リゾルシモリンの新規治療薬としての可能性：下肢虚血再灌流障害の軽減効果)

## 要 旨

### ア. 緒 言 (目的)

急性の下肢虚血は不可逆的な損傷を引き起こす危険な疾患である。筋損傷を防ぐためには血行再建術が重要であるが、この治療は虚血再灌流障害として知られる追加の損傷を引き起こす可能性がある。虚血再灌流障害の中心的な媒介因子として活性酸素の役割が有力な仮説となっている。我々は最近、リゾルシモリン (resorcimoline, RML) という新規の活性酸素除去剤の強力な抗酸化作用を明らかにした。本研究は、急性下肢虚血によって引き起こされる筋損傷を軽減し、下肢の運動機能障害を予防する新しい治療薬として、リゾルシモリンを検討することを目的としている。

### イ. 研究対象及び方法 (材料を含む)

両側後肢の大腿動脈をナイロンバンドで 120 分間閉塞し、その後 24 時間の再灌流を行うことでラット

の虚血モデルを作成した。RML 群 (n=9) には再灌流直前にリゾルシモリンを静脈注射し、生理食塩水群 (n=9) には同量の生理食塩水を投与した。運動機能は、正常な歩行に戻るまでに必要な歩数をカウントすることで評価した。筋損傷を評価するため、クレアチンキナーゼ (CK) および乳酸脱水素酵素 (LDH) を含む血清バイオマーカーを測定した。また、筋組織損傷はヘマトキシリン・エオジン染色により組織学的に評価し、筋 DNA の酸化的損傷は免疫組織化学による 8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン (8-OHdG) 陽性細胞の割合測定によって評価した。

## ウ. 結 果

RML 群では、生理食塩水群と比較して、正常な歩行に戻るまでに必要な歩数が有意に少なかった ( $p=0.04$ )。血清中の CK および LDH レベルは RML 群で有意に低かった ( $p=0.03$ ,  $p=0.005$ )。また、RML 群では筋損傷の割合 ( $p=0.004$ ) および 8-OHdG 陽性細胞の割合 ( $p=0.01$ ) が有意に低いことが示された。

## エ. 考 察

リゾルシモリンは、下肢虚血再灌流障害における筋損傷と運動機能障害を軽減することが示された。本研究では、RML 群で筋損傷の面積比が生理食塩水群と比較して有意に低下していた ( $p=0.004$ )。この結果は、リゾルシモリンが再灌流中に発生するスーパーオキシドアニオンやヒドロキシルラジカルといった活性酸素を除去し、筋細胞の酸化的 DNA 損傷を抑制したことを示唆している。さらに、CK や LDH などの血清バイオマーカーの低下も観察され、これらの指標はリゾルシモリンの抗酸化特性および筋損傷軽減効果を反映していると考えられる。

## オ. 結語 (まとめ)

リゾルシモリンは、下肢虚血再灌流障害において、筋損傷を軽減し、運動機能障害を予防する新規治療薬としての可能性を示した。リゾルシモリンは、活性酸素を除去し、酸化的 DNA 損傷を抑制することで、筋損傷と運動機能障害の両方を改善する効果を有する治療薬であると考えられる。