

氏名(本籍)	野本研一	の	もと	けん	いち	(東京都)
学位の種類	医学博士					
学位記番号	博乙第636号					
学位授与年月日	平成2年11月30日					
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当					
審査研究科	医学研究科					
学位論文題目	心筋梗塞巢の免疫組織化学的検出法に関する実験病理学的研究 (Dissertation形式)					
主査	筑波大学教授	医学博士	成	田	光	陽
副査	筑波大学教授	医学博士	阿	部		帥
副査	筑波大学教授	医学博士	小	形	岳	三郎
副査	筑波大学教授	医学博士	河	野	邦	雄
副査	筑波大学教授	医学博士	林		浩	一郎

## 論文の要旨

### 〈目的〉

心筋虚血に続く再灌流時、虚血細胞障害が増悪する可能性が指摘され、心筋梗塞治療上も重要な問題となっている。この問題については実験的にも、臨床的にも多くの報告がなされているが、ラジカル消去剤などの梗塞縮少効果については相反する実験結果も出されている。この原因として心筋梗塞巢領域の組織学的評価法に問題があると考えられる。従って、本研究では従来の組織学的評価法に比し、早期の心筋梗塞巢をより正確に識別、評価しうる方法の確立を目的として、抗 myoglobin (Mb) 抗体を用い、心筋の免疫組織学的染色法の有用性につき、実験的検討を行った。

### 〈研究方法〉

#### 1. ラットを用いた実験的心筋梗塞

実験的梗塞には雄性 SD 系ラットを使用し、エーテル麻酔下開胸し左冠状動脈起始部を結紮、急性心筋虚血を作製した。

- ① 30分, 1, 2, 3, 6時間の虚血時間の後、対象とした虚血心はすべて左心室の横断切片を作製し、抗 Mb 抗体を用いた酵素抗体法による免疫組織化学的染色を施行、Mb陰性巢を画像解析処理装置により検索した。
- ② 10, 20, 30分, 1, 2時間の虚血負荷の後、心内膜側および心外膜側領域からそれぞれ 1mm<sup>2</sup> の電顕試料を作製し、非可逆的細胞障害の形態学的指標と考えられている筋細胞膜の断裂、及びミトコンドリア内に出現する amorphous matrix densities (AMDs) を電顕的に観察した。

## 2. 麻酔開胸犬を用いた実験的心筋梗塞

雑種成犬を用い、左冠動脈前下行枝を90分結紮した後、4日間の再灌流を行い心筋梗塞を作製した。そして左心室の大型切片を作製し、Mb染色がラット同様イヌにおいても梗塞巣の識別に有用であるか否かの検討を行った。

### 〈結果および考察〉

1. ラット虚血心における免疫組織化学的なMbの消失は、虚血30分ですでに虚血領域に一致した心内膜側心筋に認められた。そして、このMb陰性巣は虚血持続時間の経過と共に心外膜側心筋に進展拡大し虚血2時間で貫壁性となった。更に、Mb消失領域の大きさは、虚血3時間で最大となりそれ以上大きくなることはなかった。一方hematoxylin and eosin染色に依った場合、凝固壊死の組織学的判定は、虚血6時間ではじめて可能となった。

2. Mb陰性巣とMb陽性巣は、明瞭な染色性のコントラストをもって識別可能であった。このことより、コンピューターを用いた画像解析処理を行うことにより心筋梗塞巣の大きさを半自動的に効率的に測定できる可能性が示唆された。

3. 電顕的に細胞障害の悪化は虚血30分で明かとなり、この時点において虚血中心部の心内膜側心筋の68%の細胞に筋細胞膜の破綻が認められた。筋細胞膜の破綻は現在、非可逆性細胞障害の形態学的指標と考えられているため、虚血30分で認められるMb陰性巣は非可逆性細胞障害に基づいて出現していることが示唆された。

4. 更に、筋細胞膜の破綻に先行してミトコンドリア内にAMD<sub>s</sub>の形成が起こることを超微形態学的に見出した。そして約20%のミトコンドリアにAMD<sub>s</sub>が出現すると筋細胞膜の破綻が生じることがAMD<sub>s</sub>の定量的解析によりはじめて明かとなった。このことは、虚血による非可逆性細胞障害のpathogenesisを考える上でミトコンドリアの障害が非常に重要である可能性を示唆する。

5. ラット同様イヌにおいても、免疫組織化学的なMb染色を用いたvideodensitometry法は、従来のトレース法、planimetry法と比較して、容易にしかも短時間に心筋梗塞の測定を可能とした。

## 審 査 の 要 旨

心筋虚血後の再灌流障害については、その発生機序に未だ不明の点が多く、その治療法も確立されていない。この方面の研究をすすめる際に現在最も解決すべき問題の一つに、虚血早期における心筋障害の組織学的認識法の確立がある。本研究では抗Mb抗体を用いた免疫染色によって、従来認識不能であった早期の心筋細胞障害を判定可能にすると共に、この標本を画像解析装置にて処理することにより、障害心筋領域を定量的に測定することを可能にした。以上の研究はこの領域における今後の研究に貢献するところが大きく、その成果は十分医学博士論文として評価しうるものとする。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。