

学位授与番号：甲 959 号

氏 名：小沢 昌慶

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 26 年 2 月 26 日

学位論文名：

流動パラフィンモデルを用いた環境温と死後硬直の変化の研究

主論文名：

The effect of temperature on the mechanical aspects of rigor mortis in a liquid paraffin model.

（流動パラフィンモデルにおける死後硬直の力学的側面への温度の影響）

学位審査委員長：竹森重教授

学位審査委員：南沢亨教授、安保雅博教授

# 論文要旨

(2部提出)

論文提出者名

小沢 昌慶

指導教授名

岩楯 公晴

主論文題名: The effect of temperature on the mechanical aspects of rigor mortis in a liquid paraffin model. (流動パラフィンモデルにおける死後硬直の力学的側面への温度の影響)

Ozawa M, Iwadate K, Matsumoto S, Asakura K, Ochiai E, Maebashi K.

Legal Medicine. Volume 15, Issue 6, November 2013, Pages 293–297

法医実務において、死後硬直は死後経過時間を推定する上で重要な意味を持っている。しかし、死後硬直は死後の筋の化学的变化であるため、様々な要因で変化する事が知られており、特に環境温と相関があると言われている。しかし、死後硬直を力学的側面に注目して行われた研究は少ない。本研究では流動パラフィンモデルを用いて温度の違いによる死後硬直の進行について力学的変化に着目し、その特徴を検討した。

ラットをメフェネシンで筋弛緩させた後、ジエチルエーテルで深麻酔にて安楽死させた後に速やかにヒラメ筋を摘出する。ヒラメ筋の腱を切除した後に流動パラフィン内に入れ、一端をステップモータにつなぎ、1分間ごとに5秒間筋の長さの1%未満の伸展を加え、もう一方につないだレコーダに検出される張力の変化を測定し、1分ごとの張力の最高値と最低値の差をその時間のStiffness(硬さ)と定義して抽出した。ティッシュバスの温度は37℃、25℃、10℃、5℃、0℃に設定し、それぞれ10例ずつ実験を行った。それぞれにおいてStiffnessが20%、50%、90%に達するまでの時間を多重比較した。

37℃、25℃、10℃においては、一般的に言われているように、温度が低下するにつれてStiffnessが各段階に至るまでの時間は遅くなり、有意差も見られた。しかし、5℃と0℃においては冷却した流動パラフィンに筋を浸漬させると同時に筋の収縮とStiffnessの増加が見られ、Stiffness低下せずに増加していき、5℃と0℃で20%に到達する時間は10℃よりも早く、有意差も認められた。90%に達する時間は10℃、5℃、0℃では有意差はなかった。

本実験から低温環境での死後硬直に基づく死後経過時間の推定については、実際の死後経過より長く推測される可能性があり、注意が必要であることが示唆された。生理学的・分子生物学的な検討は行っていないが、これらの現象は急激に温度が下がった事による筋小胞体からのCaの放出や低温であることにより酵素活性に差が生じ、アクチンとミオシンの解離が出来ない事等が推測された。

## 論文審査の結果の要旨

小沢昌慶氏の学位請求論文は、岩楯公晴教授のご指導のもとに作成された「流動パラフィンを用いた環境温と死後硬直の変化の研究」と題するもので、Legal Medicine 誌 15 巻 293-297 頁に 2013 年に掲載された小沢氏らの原著論文 The effect of temperature on the mechanical aspects of rigor mortis in a liquid paraffin model. に基づくものである。

この研究で小沢氏は、流動パラフィンに浸漬したラットヒラメ筋を用い、流動パラフィンの温度が骨格筋の死後硬直の進展にどのように影響するかを、筋の硬さ変化で調べた。法医実務では、環境温が低いほど骨格筋の死後硬直は遅く進むとする原則が用いられるが、5℃以下の温度ではこの原則に則らない変化が観測されたという点が小沢氏の研究成果の新規性である。

骨格筋細胞内の ATP が枯渇すると死後硬直が起こるが、骨格筋ではクレアチンリン酸を介して ATP がしばらくバックアップされるために、ATP が枯渇するまでの ATP 産生と ATP 消費の均衡が様々な要因で修飾される。小沢氏が今回用いた実験システムでは、安静状態を保ったラットから摘出して間もなくのヒラメ筋を丸ごと流動パラフィンに浸漬することで外からの酸素供給を断ち、細胞内に残る酸素とグリコーゲンからの ATP だけが ATP 産生源となる死後体内の骨格筋の状態を再現した。死後硬直の進展は、法医実務での評価法に近い方法として 1 分ごとに加える筋長伸展と 5 秒後の筋長復元に対する筋の力応答の大きさを評価した。死後硬直が始まると、硬直に特徴的な能動的な力発生と共に、筋伸展に対して筋が受動的に大きな力で抵抗するようになり、この抵抗は筋長復元で解除される。

10℃までの環境温低下では、現行法医実務での原則通りに死後硬直の開始は遷延し、筋肉が伸展にあまり抵抗せずに弛緩している状態がより長時間持続するようになった。このことは温度低下につれて ATP の産生・消費が共に減速すると期待されることから了解された。ところが 5℃以下に温度を下げると、弛緩状態なしにすぐに能動的な力発生が始まり、筋長伸展に対しても抵抗を増した。これは冷却により筋収縮が惹起されていることを示しており、この筋収縮は冷却して 10 分程度で急速に立ち上がり、その後もじわじわと増強しておよそ 10 時間後には温度によらないほぼ一定の硬さに到達した。すなわち法医実務の原則に則った評価は、早期の死後硬直を低温状態では過大に評価する可能性があり、十分な注意が必要なことを強く示した。

平成 26 年 1 月 28 日に実施した学位審査会では、小沢氏の研究概要プレゼンテーションに続いて、受動張力測定であらかじめ筋を伸展したのはなぜか、測定中の筋長変化はどの程度か、低温での収縮と急速冷却拘縮 (RCC) との関係は、冷却時の筋小胞体の変化はどのように推定されたか、死後硬直と死斑との乖離の経験はないか、関節構造による死後硬直の進展様式の違いはないか、ヒラメ筋を用いたのはなぜか、筋原線維系と細胞内膜系の崩壊時系列をどのように考えるか、など多くの質問が審査委員およびフロアからなされた。小沢氏はこれらの質問に自らの実験に立脚しながら適切な推論をもって回答した。

その後、南沢享教授、安保雅博教授と審議した結果、現行の法医学実務に大きな影響を持つ独創的な成果を持つ実験研究であり、学位申請にふさわしい論文であるとの結論に達した。