



Title	アルコール性胃粘膜障害機序に関する研究 : Endothelium derived relaxing factor/nitric oxide の役割について
Author(s)	彭, 海兵
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38888
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていない ため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利 用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文につい てをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	ほう かい へい 彭 海 兵
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 2 8 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	アルコール性胃粘膜障害機序に関する研究：Endothelium derived relaxing factor/nitric oxide の役割について
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 鎌 田 武 信 (副査) 教 授 松 沢 佑 次 教 授 志 賀 健

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

アルコール性胃粘膜病変の発生には粘膜血行障害が重要な役割を演じている事が報告されているが、アルコールによる胃粘膜血流低下の機序には不明な点が多い。近年、血管内皮細胞由来の血管調節因子として endothelium-derived relaxing factor (EDRF) すなわち nitric oxide が注目されている。

そこで本研究では、ラットを用いアルコール性胃粘膜障害発生における nitric oxide の役割を明かにせんとした。

【方法と成績】

1) 胃粘膜 nitric oxide 合成酵素 (NOS) 活性の測定

体重220-250 g の SD 系雄性ラットを24時間絶食後、ネンブタールにより麻酔し実験に供した。腹部を正中切開後、ラットの胃を摘出し粘膜組織を採取した。緩衝液 (4ml) を加え超音波破碎装置をもちいて組織をホモジナイズした。ホモジネートを 4℃, 30分間遠心し、得られた上清液をイオン交換樹脂 (AG50W Cation Exchange Resin) に通し、内因性アルギニンを除去した。アルギニン除去後の流出液 1.5ml に 1.5ml の緩衝液を加え、L-アルギニン (4.5mM × 20 μl, 最終濃度: 30 μM) と NADPH (30mM × 20 μl, 最終濃度: 200 μM) にて反応を開始し、二波長分光計で 401nm 及び 411nm の吸光度差を測定、NOS 活性を計算した (Radomski et al. Proc Natl Acad Sci USA, 87: 10043, 1990)。

カルシウム依存性と非依存性の NOS 活性は塩化カルシウム (0.2mM) と EGTA (1mM) を添加する事により分別した。

2) 経口アルコール負荷による影響

SD 系雄性ラット (n=20) を24時間絶食しネンブタール麻酔後、各種濃度のアルコール (5, 20, 50%) 2 ml を胃管により胃内に投与し、30分後に胃粘膜を採取し NOS 活性を上述の方法で測定した。

3) 血中アルコール負荷の影響

体重220 g - 250 g の SD 系雄性ラット (n=25) を24時間絶食後、ネンブタール麻酔し実験に供した。30分の安定期間後、20%アルコールを腹腔内に 0.1ml/min の割合で 1 時間投与し、15分毎に a) 血中アルコール濃度、b) アセチルコリン誘発性胃粘膜血流増加反応に対するアルコールの影響、c) 胃粘膜 NOS 活性に対する影響を検討した。

a) 血中アルコール濃度の測定

右頸動脈に挿入したカニューレより経時的に採血しアルコール濃度を酵素学的に測定した。

b) アセチルコリン誘発性胃粘膜血流増加反応に対するアルコールの影響

ラットを麻酔後、腹部切開し前胃大弯に小切開を加えた。同部より臓器反射スペクトル解析装置 (TS-200) のプローブを挿入し体部後壁粘膜に軽く接触せしめ粘膜ヘモグロビン量指数 (IHb) とヘモグロビン酸素飽和度指数 (ISO₂) を連続的に測定した。一方、脾動脈にカニューレーションを行い、15分毎に0.5 μ gのアセチルコリン50 μ lをボラスに胃血管系に選択的に投与しIHb、ISO₂の変化を記録し、血中アルコール濃度との関係を検討した。

c) アルコールのNitric oxide合成酵素 (NOS) 活性に対する影響

腹腔内に20%アルコールを連続投与し (0.1ml/min), 15分後, 30分後, 45分後, 60分後にそれぞれラットの胃粘膜を採取し上述の方法でNOS活性を計測した。

【結果】

1) 胃粘膜 NOS 活性

アルコール非投与時胃粘膜総 NOS 活性は体部で45.0, 前庭部で54.9nmol/min/mg proteinであった。

2) アルコール経口負荷による影響

アルコール (5, 20, 50%) 経口投与30分後のカルシウム依存性 NOS 活性は22.2, 20.4, 4.5nmol/min/mg proteinであり、カルシウム非依存性のそれは11.7, 10.2, 3.4nmol/min/mg proteinでありアルコール負荷により濃度依存性に胃粘膜 NOS 活性の低下が見られた。

3) 血中アルコール負荷による影響

a) 血中アルコール濃度

血中アルコール濃度はアルコール投与後15分では3mM, 30分では27mM, 45分では38mM, 60分では68mMであった。

b) アセチルコリン誘発性胃粘膜血流増加反応に対するアルコールの影響。

アルコール投与前ではアセチルコリンを脾動脈を介し胃動脈に投与すると、IHb と ISO₂ は上昇し投与30秒後にピークに達し、その後低下し2分後には投与前値に復する一過性の胃粘膜血行増加が観察された。この反応はEDRFのinhibitorであるmethylene blueをアセチルコリンと同時に投与すると消失した。一方20%アルコールを腹腔内に1時間投与 (0.1ml/min) 時に15分毎にアセチルコリンを投与するとアルコール投与前のIHb と ISO₂ の増加を100とすると、15分後, 30分後, 45分後, 60分後には、それぞれIHbは89.0, 60.2, 47.6, 28.0%に減少した。ISO₂は88.0, 64.0, 15.2, 10.0%に減少した。

c) アルコールのNOS活性に対する影響

アルコール投与15分後, 30分後, 45分後, 60分後のカルシウム依存性 NOS 活性は35.0, 11.4, 4.3, 0 nmol/min/mg proteinでありカルシウム非依存性のそれは18.1, 5.5, 0, 0 nmol/min/mg proteinあり、アルコール濃度依存性に低下した。

【総括】

以上の成績からアルコール性胃粘膜障害の重要な因子である血流低下機序にはアルコールによるNitric oxideの合成抑制が関与している事が明かになった。

論文審査の結果の要旨

本論文はアルコール性胃粘膜障害に関する血管内皮細胞由来血管拡張因子すなわちnitric oxide (NO) 及び、NO synthase (NOS) 活性の役割を明らかにせんとしたものである。アルコールの局所及び全身投与により NOS 活性はアルコール濃度依存性に低下し、NOを介した胃粘膜血行増加反応が抑制された。アルコールにより胃粘膜微小循環障害が発生し胃粘膜病変が発生するが、本研究の結果よりアルコール存在下では内因性NOの産生を介した胃粘膜微小循環調節機序が破綻していることが明らかとされた。

アルコール摂取により種々の循環動態の異常が生じることが知られているが、本研究はアルコール依存下の微小循環調節異常の存在とその機序を明らかにしたもので博士論文に値すると認める。