

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	影 海 兵
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 11287 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°C, 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 μgのアセチルコリン50 μlをポ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らかになった。

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。