



Title	脳虚血再灌流における循環血中一酸化窒素の検出とその変動
Author(s)	久村, 英嗣
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39313
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 久 村 英 嗣

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 1 6 2 6 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 7 年 1 月 1 1 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 脳虚血再灌流における循環血中一酸化窒素の検出とその変動

論文審査委員 (主査)
教 授 志 賀 健(副査)
教 授 早 川 徹 教 授 福 田 淳

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

脳虚血再灌流による組織傷害には虚血時のエネルギー不全に加え, free radical の発生や微小循環動態の変動などの種々の因子が関与する。このような free radical のうち, 一酸化窒素 (NO) は血管内皮由来弛緩因子であるとともに中枢神経系では diffusible transmitter としても働き, またその合成酵素 (NOS) が血管内皮細胞, 血管平滑筋細胞, 神経細胞, グリア細胞など, 脳内に広範に分布することから, 脳虚血再灌流において重要な役割を演ずると想定される。しかし, 脳虚血再灌流に伴う NO の循環血中での変化については全く不明であった。NO は血液中で end products (nitrate, nitrite) に変換される。また NO は循環血液中で赤血球内の hemoglobin と結合し nitrosyl hemoglobin (HbNO) を形成し, この HbNO は電子スピン共鳴 (ESR) で検出が可能である。本研究ではラット局所脳虚血再灌流モデルを用いて血中の NO end products と HbNO の変動を検討した。

【方法ならびに成績】

Sprague - Dawley ラット (9 週齢) を用い, 麻酔下に一側中大脳動脈 (MCA) を微小血管用クリップにて閉塞, 開放することにより局所脳虚血再灌流を作成した。

1) 脳虚血再灌流での血漿 NO end products の変動

麻酔のみの群, および偽手術群を対照とし, MCA 2 時間閉塞群, 4 時間閉塞群, 2 時間閉塞群 30 分再灌流群, 2 時間閉塞後 2 時間再灌流群の 6 群を設けた。各実験の終了時に, 頸静脈より血液を採取し, flow injection 法による血漿 NO end products の測定を行った。MCA 2 時間閉塞で血漿 nitrate は対照に比較して明らかに増加したが, 4 時間閉塞では増加は軽度であった。2 時間閉塞の時点で再灌流を行うと, nitrate は再灌流後 30 分で著明に増加したが, 同 2 時間では低下した。一方, 血漿 nitrite はほぼ一定であり, 脳虚血再灌流による明らかな変動は認められなかった。以上, 脳虚血再灌流において頸静脈血中で NO end products, 主に nitrate が変動することを明らかにした。

2) 再灌流早期の NO end products 増加に対する NOS の関与

MCA 2時間閉塞後30分再灌流群に対して, NOS 阻害剤である N^G -nitro-L-arginine (L-NAME) 投与, または L-NAME に NOS の基質である L-arginine, およびその異性体である D-arginine の併用投与を行い, 血漿 NO end products を測定した。L-NAME (20mg/kg) 投与にて nitrate, nitrite とともに明らかに減少し, これに10倍量の L-arginine を併用するとこの減少は解除された。しかし同量 D-arginine 併用の場合には nitrate, nitrite とともに減少したままであった。以上, 脳虚血後再灌流早期の NO end products の増加が NOS に基づくことを明らかにした。

3) 脳虚血再灌流での HbNO の検出

脳虚血再灌流を行なったラットの頸静脈全血を液体窒素内で凍結し, ESR にて測定した。NOS 阻害剤投与下にも同様の測定を行なった。麻酔のみの群, 偽手術群, MCA 2時間閉塞群では明らかな HbNO は検出されなかったが, 2時間閉塞後再灌流30分群では明らかな HbNO の ESR signal が検出された。同再灌流30分群に L-NAME を投与すると HbNO の ESR signal は消失し, L-NAME と L-arginine の併用投与では再出現した。この hemoglobin に結合した NO の脳虚血再灌流に伴う消長は, ほぼ血漿 NO end products の変動に一致していた。しかし, 2時間閉塞後再灌流30分群に対して superoxide dismutase を投与した場合には HbNO のみが増加し, NO end products は不変であった。すなわち脳虚血灌流の病態下では superoxide と NO が共存し, 両者の相互反応により NO が一部消去され, 血漿 NO end products に変換されている可能性が示唆された。

【総括】

本研究により脳虚血再灌流に伴う循環血中一酸化窒素の変動を初めて明らかにした。

論文審査の結果の要旨

本研究は, ラット局所脳虚血再灌流モデルにおける循環血中での一酸化窒素の変動を化学分析法と電子スピン共鳴法により明らかにしようとしたものである。その結果, 局所脳虚血再灌流早期の循環血中において硝酸イオンおよび一酸化窒素ヘモグロビンが増加することを明らかにし, これら両者が一酸化窒素合成酵素により生成されることを明らかにした。

本研究は局所脳虚血再灌流に伴う一酸化窒素の循環血中での動態を初めて明らかにした価値ある業績であり, 虚血性脳損傷における病態生理機構の解明に貢献するものである。よって, 博士(医学)の学位授与に値する。