Osaka University Knowledge Archive

Title	Role of Nitric Oxide in Oxygen Transport in Rat Liver Sinusoids during Endotoxemia
Author(s)	黄, 泰平
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42844
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名	黄（こう）　泰（たい）　平（へい）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　15606　号
学位授与年月日	平成12年5月8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	Role of Nitric Oxide in Oxygen Transport in Rat Liver Sinusoids during Endotoxemia （エンドトキシン血症時の類洞内酸素運搬能における一酸化窒素（NO）の役割）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　松田　暉 （副査） 教　授　林　紀夫　教　授　門田　守人

論　文　内　容　の　要　旨

【背景ならびに目的】

臨床においてエンドトキシン血症時に肝障害が生じ治療に難渋することをしばしば経験する。in vitro の実験系においてエンドトキシンを直接肝細胞に添加しても肝細胞に障害は生じないとされている。肝障害の誘因として、エンドトキシンにて活性化された好中球、マクロファージ、クッパー細胞により産生された TNF などのサイトカインおよびO_2ラジカルによる細胞障害が考えられている。さらに、好中球の肝類洞血管内皮細胞への接着などによる微小循環障害も肝細胞を障害する重要な誘因であると考えられている。一方、一酸化窒素（N0）は重要な血管弛緩因子であり、肝類洞の循環調節に関わっていることが示唆されている。NO はまたエンドトキシン血症時に血管内皮細胞、マクロファージ、クッパー細胞などにより産生され、その代謝産物である peroxynitrite が細胞障害性を発揮することが示唆されている。しかしながら、NO 合成を阻害すると肝障害が増悪することが報告されており、一定の見解は得られていない。

本研究の目的は、エンドトキシン血症時の肝障害において、NO が保護的に働いているか否かを検討することである。

【方法】

実験 1：250～300g の雄性 SD ラットを使用し、人工呼吸管理下に血圧をモニターし、2.5ml/h で生理食塩水および各種薬剤を持続投与し 7 時間まで実験を行った。エンドトキシンとして E.Coli 由来 LPS（lipopolysaccharide）を 0.8mg/kg/h、c-NOS 優位の NO 合成酵素阻害剤として L-NAME（N^{ω}-nitro-L-arginine methyl ester）を 5 mg/kg/h、i-NOS 優位の NO合成酵素阻害剤として AMG（aminoguanidine）を 5 mg/kg/h、NO 合成酵素阻害剤のリバース機能を有する L-Arg（L-arginine）を100mg/kg/h で持続投与を行った。

実験群は1. sham 群（生理食塩水投与、n=4）、2. LPS 群（n=4）、3. L-NAME 群（n=4）、4. LPS+L-NAME 群（n=5）、5. LPS+L-NAME+L-Arg 群（n=4）、6. MG 群（n=4）、7. LPS+AMG 群（n=7）とした。

NO 産生量の評価として、血中 $NO_2^-+NO_3^-$（NO の最終産物）を測定した。肝障害を評価するため血中 AST 値、胆汁流量を測定した。

実験 2：肝類洞の微小循環を評価するために生体顕微鏡下に dual spot

microspectroscopy を用いて、pericentral および periportal の領域で 4 時間目に肝類洞の酸素運搬能を指標として赤血球速度（V）、酸素飽和度（SO_2）、rate of oxygen release（RO_2, per unit time and unit area of the sinusoidal wall）を測定し検討した。

以下、測定値は mean±S.D.で表現し、Scheffe 法にて $p<0.05$ をもって各群間での有意差とした。

【成績】

実験 1

1．LPS+AMG 群は 7 匹中 5 匹は 4 時間目以降に低血圧にて死亡し、7 時間まで観察できたのは 2 匹のみであった。その他の実験群は 7 時間まで観察できた。

2．LPS 群は血中 NO_2+NO_3は有意に上昇し、その上昇は LPS+L-NAME 群および LPS+AMG 群では有意に抑制された。

3．血中 AST 値は sham 群（112±21 IU/L、7 時間値）に比し LPS 群（276±44、7 時間値）は上昇傾向にあり、LPS+L-NAME 群（853±274、7 時間値）および LPS+AMG 群（659±384、4 時間値）では有意に増悪した。

4．胆汁流量は LPS 群では 5 時間目より低下傾向にあり、7 時間目には sham 群の66.7%にまで低下した。LPS+L-NAME 群では 4 時間目に低下し、7 時間目には sham 群の26.8%にまで有意に低下した。LPS+AMG 群では 4 時間目に sham 群の28.4%と有意に低下した。

実験 2

1．pericentral の赤血球速度（V）は、sham 群（0.25±0.02mm/s）に比し、LPS 群（0.19±0.04）、L-NAME 群（0.18±0.02）、AMG 群（0.16±0.02）、LPS+L-NAME 群（0.15±0.01）および LPS+AMG 群（0.13±0.03）では有意に低下した。

2．periportal の酸素飽和度（SO_2）は、sham 群（51.8±5.4%）に比し LPS 群（34.O±3.8）、LPS+L-NAME 群（30.2±12.8）および LPS+AMG 群（30.4±5.4）では有意に低下した。

3．pericentral の rate of oxygen release（RO_2）は、sham 群（0.67±0.08nmol/cm²/s）に比し L-NAME 群（0.38±0.04）、AMG 群（0.39±0.03）、LPS+L-NAME 群（0.25±0.05）および LPS+AMG 群（0.31±0.05）では有意に低下した。さらに、LPS+L-NAME 群および LPS+AMG 群は LPS 群（0.43±0.14）に比し低下傾向にあった。

【総括】

1．LPS 投与により血中 AST の上昇および胆汁流量の低下を認めた。この肝障害は L-NAME または AMG を LPS と同時に投与することによりさらに増悪した。

2．LPS 投与により肝類洞の微小循環は障害され、L-NAME または AMG を同時に投与することによりさらに増悪した。

3．以上より、エンドトキシン血症時に NO は肝類洞の微小循環および肝障害に対して保護的に働いていると考えられた。

論文審査の結果の要旨

臨床においてエンドトキシン血症時に肝障害が生じ治療に難渋することがある。肝障害の誘因として、好中球の肝類洞血管内皮細胞への凝着などによる微小循環障害が肝細胞を障害する重要な誘因であると考えられている。一酸化窒素（NO）は重要な血管弛緩因子であり、肝類洞の循環調節に関わっていることが示唆されている。この NO はエンドトキシン血症時に血管内皮細胞、クッパー細胞などにより産生され、その代謝産物である peroxynitrite が細胞障害性を発揮することが示唆されている。しかしながら、NO 合成を阻害すると肝障害が増悪することが報告されており、エンドトキシン血症時の NO の役割に対しては一定の見解は得られていない。

本研究の目的は、エンドトキシン血症時の肝障害において、NO が保護的に働いているか否かを肝類洞の微小循環

に着目して検討することである。

SD ラットを使用し、各種薬剤を持続投与し実験を行った。LPS 投与により血中 AST 値の上昇、胆汁流量の低下および組織学的肝障害を認めた。この肝障害は L-NAME（c-NOS および i-NOS に対する NO 合成酵素阻害剤）または AMG（i-NOS 優位の NO 合成酵素阻害剤）を LPS と同時に投与することによりさらに増悪した。さらに、肝類洞の微小循環を評価するために生体顕微鏡下に dual spot microspectroscopy を用いて肝類洞の酸素運搬能指標として赤血球速度、酸素飽和度、rate of oxygen release（per unit time and unit area of the sinusoidal wall）を測定し検討した。LPS 投与により肝類洞の微小循環は障害され、L-NAME または AMG を同時に投与することによりさらに増悪した。

これらの結果より、エンドトキシン血症時に NO は肝類洞の微小循環および肝障害に対して保護的に働いていると考えられた。エンドトキシン血症時の NO の役割に対する新しい知見であり、学位に値すると考えられる。