



Title	Supplement of Nitric Oxide Attenuates Neutrophil-Mediated Reperfusion Injury
Author(s)	福田, 宏嗣
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42871">https://hdl.handle.net/11094/42871</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	ふく だ ひろ つぶ 福 田 宏 嗣
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 8 0 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 12 年 12 月 11 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	Supplement of Nitric Oxide Attenuates Neutrophil-Mediated Reperfusion Injury (一酸化窒素の補充は好中球により惹起される心筋虚血再灌流障害を軽減する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 田 暉  (副査) 教 授 堀 正二 教 授 白 倉 良太

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [目的]

近年の術中心筋保護法の進歩にも関わらず重症開心術においては虚血再灌流にもとづく術中心筋障害は未だ手術成績を左右する問題点の一つである。特に虚血再灌流により惹起される心筋浮腫や微小循環障害の発生は冠血管内皮障害が関与していることが推察され、その機序解明は心筋保護向上にきわめて重要であると考えられる。血管内皮細胞は種々の mediator を分泌し血管の恒常性を保っていることが報告されているが、その一つである Nitric Oxide (NO) は血管拡張作用、血小板凝集抑制作用、血管透過性の調節作用など多くの重要な生物学的活性を持ち、さらに好中球遊走、血管内皮への接着、活性化の抑制作用が報告されている。この好中球 (PMN) の活性化は心筋虚血再灌流障害に重要な役割を果たしている。そこで本研究では心筋虚血再灌流後に血管内皮細胞からの NO 分泌低下が好中球の接着、活性化を惹起し虚血再灌流障害の増悪に関与すると仮説した。本研究は心筋虚血再灌流における NO の動態を明らかにし、さらに好中球による心筋虚血再灌流障害の In Vivo モデルで NO を自然に解離放出する NO donor (Nitroprusside) の投与が好中球を介する虚血再灌流障害を軽減するか否かを検討することを目的とした。

#### [方法]

200-250g SD ラットより心臓を摘出し37°C100cmH<sub>2</sub>O のランゲンドルフ灌流を行い15-20分安定化させた後、灌流遮断により20分間常温虚血とした。実験1：冠灌流液中の基礎的 NO 分泌濃度を Ozon chemiluminescence 法で測定した。実験2：常温虚血後の再灌流方法によりC群：Krebs-Henseleit (KH) 液のみで再灌流するコントロール群、P群：KHでの再灌流とともに同種ラット血より Percoll による分離分画法により好中球及び血漿を分離しこれを再灌流後最初の2分間側枝より注入する PMN 再灌流群、N群：P群と同様に PMN 再灌流とともに再灌流液に NO donor (Nitroprusside) 10<sup>-5</sup> M を添加した群の3群に分類した。各群において虚血前および虚血後45分の心機能 (LVDP,冠灌流量) を測定し、虚血後値の虚血前値に対する割合を求め心機能回復率とした。また再灌流の始めの5分間の冠灌流液中の total CPK、LDH 遊出量を測定した。好中球活性化の指標として再灌流5分後の冠灌流液の chemiluminescence 値を測定した。さらに再灌流5分間の冠灌流液中の好中球数を数え、注入好中球数に対する割合から好中球接着率を算出した。

#### [成績]

実験1：冠灌流液中の基礎的 NO 分泌濃度は虚血前に比し再灌流後有意に低下した (虚血前：4.94±0.03nmol/L、

再灌流直後： $2.87 \pm 0.10 \text{ nmol/L}$ ）。この低下は再灌流後15分まで継続した（再灌流後2分： $2.86 \pm 0.13$ 、5分： $3.38 \pm 0.24$ 、10分： $2.76 \pm 0.08$ 、15分： $2.61 \pm 0.39$ ）。

実験2：LVDP回復率はC群に比しP群で有意に低値を示したが、N群ではP群に比しLVDP回復率は良好であった（C： $77.9 \pm 7.1\%$ 、P： $60.1 \pm 9.1\%$ 、N： $96.2 \pm 7.4\%$ ）。冠灌流量回復率はC群、P群では差を認めなかったが、N群ではP群に比し有意に冠灌流量回復率は良好であった（C： $65.6 \pm 3.9\%$ 、P： $62.5 \pm 3.8\%$ 、N： $92.2 \pm 4.2\%$ ）。再灌流時のtotal CPK、LDH遊出量はいずれもC群に比しP群では高値を示したが、N群では低値を示した。chemiluminescence値はP群に比しN群では有意に低値を示した（P： $19.1 \pm 4.0 \text{ counts/60s}$ 、N： $6.5 \pm 3.1 \text{ counts/60s}$ ）。また好中球の接着率もP群に比しN群で有意に低値を示した（P： $80.1 \pm 3.0\%$ 、N： $53.1 \pm 10.1\%$ ）。

[総括]

1. 心筋虚血再灌流障害におけるNOの関与を明らかにする事を目的として好中球を加えた虚血再灌流心モデルを用い、再灌流後のNO動態及びNO Donorの心筋保護効果を検討した。

2. 心筋虚血再灌流後、冠灌流液中の基礎的NO分泌濃度は低下した。

3. NO Donor (Nitroprusside) はPMNを加えた心筋虚血再灌流で再灌流後の好中球の接着や活性化を抑制し増悪した心機能を改善した。

4. 以上より心筋虚血再灌流障害には血管内皮細胞からの基礎的NO分泌低下が関与し、NO Donor (Nitroprusside) はこのNO分泌低下を補充することにより虚血再灌流時の好中球接着、活性化を抑制し虚血再灌流障害を軽減することが示された。

## 論文審査の結果の要旨

Nitric oxide (NO) は基礎的に血管内皮細胞から分泌され好中球の血管内皮への接着、活性化抑制作用がある。しかし心筋虚血再灌流時の冠血管内皮細胞からの基礎的NO分泌動態を直接明らかにした報告はなく、その動態と虚血再灌流時の好中球の関与は不明である。そこで本論文は心筋虚血再灌流後に血管内皮細胞からのNO分泌低下が好中球の接着、活性化を惹起し虚血再灌流障害の増悪に関与すると仮説し実験を行った。

実験1ではまず心筋虚血再灌流後、冠灌流液中の基礎的NO分泌濃度は低下していることを直接測定し示し、その後好中球を加えた心筋虚血再灌流障害モデルを用い、NO Donor (Nitroprusside) が再灌流後の好中球の接着や活性化を抑制し増悪した心機能を改善することを示した。

以上から心筋虚血再灌流障害には血管内皮細胞からの基礎的NO分泌低下が関与し、NO Donor (Nitroprusside) はこのNO分泌低下を補充することにより虚血再灌流時の好中球の接着、活性化を抑制し虚血再灌流障害を軽減すると結論している。

この論文は冠血管内皮細胞からNOの基礎的分泌が低下しこれが好中球の接着、活性化を促進し心筋虚血再灌流障害を増悪する事を明らかにした報告である。特に冠血管内皮細胞からの基礎的NO分泌動態を直接測定した報告はなく、NO分泌低下と好中球の関与する再灌流障害との関連を直接示唆した大変貴重な報告である。またNOの補充療法が好中球が関与する心筋虚血再灌流障害を改善することを明らかにしたことで、臨床的応用に向け重要かつ有用な報告であると考えられる。以上のことよりこの論文は学位論文に値するものと考えられる。