

氏名	山里 將瑞
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第 1241 号
学位授与の日付	平成 25 年 11 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 1 項第 4 号に該当

学位申請論文タイトル及び掲載誌

Wistar ラットおよび自然発症高血圧ラットにおける一過性短時間虚血負荷後の虚血・再灌流時の脳内一酸化窒素 (NO) 産生動態

日本脳循環代謝 24 巻 2 号 2013 年 5 月 9 日受理

学位審査委員 (主査) 教授 村越 隆之

(副査) 教授 側島 久典、教授 岡田 浩一、講師 大宅 宗一

論文内容の要旨

【緒言】あらかじめ軽度で、非致命的な虚血負荷を加えておくことにより、一定期間後の重度な虚血侵襲に対する細胞障害が起りにくくなる現象は、虚血耐性 (ischemic preconditioning; IPC) と呼ばれ、脳、心臓をはじめ多くの組織、細胞に観察される生体の虚血に対する適応現象である。この IPC には様々な因子が関与することが知られている。実験に用いた自然発症高血圧ラット (SHR) は高血圧モデルとして、中大脳動脈閉塞などに対して、正常血圧の Wistar ラット (WR) に比して、脳梗塞巣が大きくなることが知られている。

【目的】一過性短時間の虚血負荷 (transient short-duration ischemia; TSI) が、その後の虚血・再灌流時の一酸化窒素 (NO) 産生動態に及ぼす影響を検討するため、Wistar ラット (WR) と自然発症高血圧ラット (SHR) で、線条体と海馬の NO 産生動態を検討した。

【方法】雄性、WR17 匹 (週齢 10 週、体重 250-300g) と SHR19 匹 (週齢 10 週、体重 250-300g) を用いた。本実験前に TSI として、脳虚血・再灌流負荷の 24 時間前及び 72 時間前に pentobarbital (40mg/kg) の腹腔内麻酔下で 5 分間の両側総頸動脈結紮を行った。TSI 24 群 (WR n=4, SHR n=7), TSI72 群 (WR n=6, SHR n=6) と TSI を行わなかった control 群 (WR n=7, SHR n=6) の各群で検討した。

本実験として、腹腔内麻酔後に、一側大腿動脈にカテーテルを挿入し、血圧測定、脱血及び血液再注入用とした。微少透析プローブを一側線条体と海馬にそれぞれ stereotaxic に刺入後、虚血・再灌流の実験の 2 時間前に *in vivo* microdialysis を施行し、HAMILTON 社製 1ml syringe を用いて、micro syringe pump (EICOM 社製 EP-60) で脱気した乳酸リンゲル液を 2 μ l/min の速度で灌流した。灌流液は、10 分毎に microfraction collector (EICOM 社製 EP-80B) を用いて回収した。対側にはレーザー Doppler 血流計プローブ (Advance Laser Flow meter ALF 21D) を留置し、線条体と海馬において局所脳血流 (r CBF) を連続的に測定した。脳虚血は、Smith の方法に従い両側総頸動脈結紮後、脱血により平均動脈血圧を 50mmHg 以下に維持し、forebrain ischemia を 20 分間負荷した後、結紮を解除し再灌流、血液再注入を行い 40 分間観察した。実験終了後、EICOM 社製酸化窒素分析システム ENO-20 型を用いて、nitrite (NO₂⁻)

と nitrate (NO₃⁻) 産生濃度の反映を Griess 反応で定量的に測定し、両者の和は、総 NO 産生濃度 (total NO) (mean ±SD)として TSI 24 群, TSI 72 群と control 群間で比較した.

【結果】WR の線条体と海馬において, TSI 72 群の NO 産生は対照群に比し亢進していた. 一方, SHR では control 群では NO 産生の亢進を認めた. しかし, SHR では TSI 後の NO 産生は低下していた.

【結論】WR では 72 時間前の TSI における NO 産生亢進が認められた. その後の病理学的検討とあわせて考えると NO 産生亢進が, IPC の要因の一つと考えられた. しかしその他の因子も関わっていると考えられ, 各種サイトカインの検討も行っていきたい.

今後の課題として, TSI72 群における NO 産生亢進の由来が, eNOS, nNOS か iNOS なのかを明らかにするため, 各種抗 NOS 抗体による染色などを試みる予定である. また SHR における NO の基礎産生亢進の由来の検討も行っていく予定である.