

# Inhibition of Nitric Oxide Synthesis Increases Focal Ischemic Infarction in Rat

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山本, 清二 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1464">http://hdl.handle.net/10271/1464</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 187号	学位授与年月日	平成 6年11月 4日
氏名	山本清二		
論文題目	Inhibition of Nitric Oxide Synthesis Increases Focal Ischemic Infarction in Rat (一酸化窒素の合成阻害の局所脳梗塞に及ぼす影響に関する研究)		

博士(医学) 山本清二

## 論文題目

Inhibition of Nitric Oxide Synthesis Increases Focal Ischemic Infarction in Rat  
(一酸化窒素の合成阻害の局所脳梗塞に及ぼす影響に関する研究)

## 論文の内容の要旨

一酸化窒素 (NO) は脳虚血後の神経細胞壊死の原因のひとつであるとの説が提唱されており、もしこの仮設が正しければ、NOの合成阻害は梗塞巣を縮小させる筈である。本研究では、NOの合成阻害剤のN- $\omega$ -nitro-L-arginine (NNA)の投与によりラットの中大脳動脈閉塞後の脳梗塞に変化が起こるかどうかを調べた。我々は、NOの合成阻害は梗塞巣を縮小させるのではなく、有意に増大させるという結果を得たので報告する。

高血圧発症ラット (SHR) を用い、ハロセン麻酔下に中大脳動脈を閉塞し脳梗塞を作成、24時間後に梗塞巣の体積と分布を検討した。梗塞巣の同定にはNissl染色を用い、染色性の失われた部分の面積をコンピューターによる画像解析で計測、スライス間距離を掛け合わせて体積を算出した。37匹のSHRを以下の7グループに分けた。1) 中大脳動脈閉塞のみ (control; n=6)、中大脳動脈閉塞直後から2) NNA 0.04mg/kg/min x 60分持続静注 (NNA; n=6)、3) NNA及びL-arginine 3.5mg/kg/min x 60分持続静注 (NNA+L-Arg; n=6)、4) NNA及びD-arginine 3.5mg/kg/min x 60分持続静注 (NNA+D-Arg n=6)。対照として神経保護的に働く薬剤である5) rilmenidine 0.75mg/kg静注 (RIL; n=4)。他のグループでは、NO合成阻害による血圧の上昇が梗塞巣に及ぼす影響を評価するため6) phenylephrine 0.194-1.94  $\mu$ g/kg/minにて1時間血圧を同程度上昇させ梗塞巣を検討 (PHE; n=6)。最後にNO合成阻害が脳血流に及ぼす影響を知るため、同量のNNAを投与し、laser-Doppler血流計を用いて7) 健常脳の局所脳血流量を測定した (n=3)。統計処理は分散分析 (ANOVA) にて行い、 $p < 0.05$ をもって有意と判定した。

RILは脳梗塞を27%縮小 ( $150.8 \pm 16.6$  to  $110.4 \pm 28.6 \text{mm}^3$ ;  $p < 0.05$ )させた。しかし、この代わりに投与されたNNAは脳梗塞を縮小させないばかりかむしろ32%増加 ( $199.2 \pm 17.4 \pm 17.4 \text{mm}^3$ ;  $p < 0.001$ )させた。これらの梗塞巣の増減はいわゆるpenumbraに限られていた。このNNAの効果はNNA+L-Argでは完全に消去された ( $167.2 \pm 10.0 \text{mm}^3$ )が、NNA+D-Argでは変化しなかった ( $199.5 \pm 23.9 \text{mm}^3$ ;  $p < 0.01$ )。NNAの投与は、血圧を上昇させた ( $118 \pm 8.9$  to  $149 \pm 16.0 \text{mmHg}$ ;  $p < 0.01$ )が局所脳血流は変化させず、autoregulationは保たれていた。さらに、同程度の血圧上昇そのもの (PHE)は脳梗塞の体積と分布に影響を及ぼさなかった ( $134.0 \pm 23.5 \text{mm}^3$ )。

in vitroの実験で、NOの神経毒性を示す報告がなされている。しかし、本研究のin vivoの実験系では、RILが神経保護的に働く事を示せたにもかかわらず、NOの合成阻害で虚血巣は増加した。NNA投与による脳血流の低下やautoregulationの障害、血圧上昇そのものが梗塞巣増大の機序とは考えにくい。おそらくNOの機能が抑制された結果、虚血周囲の反応性充血の抑制、血小板の凝集促進、及び神経保護的に働くneuromodulatorの発現の抑制が起こり、梗塞巣が増大したと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

脳血管の閉塞が起きると、その血管の支配領域は速やかに壊死を起こす。この梗塞による壊死領域を

出来るだけ小さくすることは重要なことであり、梗塞の core を取り巻く penumbra がその縮小対象となる。

Endothelium-Derived Relaxing Factor (EDRF) が、血管拡張物質として提唱され、さらに EDRF が Nitric oxide (NO) と同一のものであると考えられて以来、NO の研究が進み、血管拡張、血小板凝集、免疫作用、神経伝達など様々な現象に NO が重要な役割を果たしていることが解明されてきた。

この NO が虚血時の梗塞領域を拡大させるのか、保護的に働くのか、両説がある。その点を解明すべく著者らは高血圧発症ラット (SHR) を用いて、中大脳動脈 (MCA) 閉塞モデルを作り、NO の合成阻害剤 N- $\omega$ -nitro-L-arginine (NNA) で、NO の梗塞巣に及ぼす影響を検討した。

その結果は、NNA は梗塞巣を縮小させるのではなく、逆に有意に拡大させるというものであり、この成果は NO の保護説に有力なデータを示すものとなった。

実験の目的、計画は十分な調査、過去のデータの検討をふまえて慎重に練られており、実験方法、それによって得られたデータの扱いについても適切である。考察についても現時点で得られる各方面の文献を集めて、良くなされている。本論文は、現在問題となっている脳梗塞時の NO の役割について一石を投じたすぐれた論文である。

論文審査の過程において以下の質問がなされた。

- 1) 実験動物として SHR を選んだ理由
- 2) 中大脳動脈閉塞モデル作製上の問題点
- 3) 脳と体血管の constitutive NO synthase の分布
- 4) NNA による血圧上昇の障害領域への影響
- 5) 体温変化による虚血障害領域への影響と体温制御法
- 6) glutamate と NO との関連
- 7) NO の生体内の作用
- 8) NO が neurotoxic に働くとすれば、そのメカニズム
- 9) NO の neurotoxicity を支持する実験との違い

これらの質問に対する申請者の回答は適切であり、問題点も充分理解しており、本論文は博士 (医学) の学位授与にふさわしい価値ある論文であると審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 中 島 光 好

副査 教授 市 山 新 副査 教授 植 村 研 一

副査 助教授 小 林 明 副査 助教授 藤 井 正 子