

Photochemically Induced Thrombosis Model in Rat Femoral Artery and Evaluation of Effects of Heparin and Tissue-Type Plasminogen Activator With Use of This Model

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松野, 浩之 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/978

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	医博第 125号	学位授与年月日	平成 4年 3月26日
氏名	松野浩之		
論文題目	Photochemically Induced Thrombosis Model in Rat Femoral Artery and Evaluation of Effects of Heparin and Tissue-Type Plasminogen Activator With Use of This Model (ラット大腿動脈における光増感反応血栓モデルとこのモデルを用いてのヘパリンと tPA の評価)		

医学博士 松野浩之
論文題目

Photochemically Induced Thrombosis Model in Rat Femoral Artery and Evaluation of Effects of Heparin and Tissue-Type Plasminogen Activator With Use of This Model

(ラット大腿動脈における光増感反応血栓モデルとこのモデルを用いてのヘパリンとtPAの評価)

論文の内容の要旨

〔目的〕 近年、数多くの抗血栓薬及び血栓溶解薬が研究、開発され臨床において用いられる中、前臨床における動物血栓モデルの役割は大変重要なものと考えられる。この点に注目し、作製法が簡便でありかつ再現性に富んだ新しい動脈血栓モデルの開発を目指し、さらにその有用性について薬物〔ヘパリンと Tissue-Type Plasminogen Activator(tPA)〕を用いて検討した。

〔方法〕 Wistar 系雄性ラットをペントバルビタール (50mg/kg) で麻酔したのち左大腿動脈及び静脈を剝離しそれぞれにカテーテル(ID:0.5mm) を挿入した。動脈より脈拍、血圧を連続的に記録、静脈より光増感物質であるローズベンガル(RB)及び薬物を注入した。次いで、右大腿動脈の一部を剝離して血流測定用にドップラー血流計のプロベを装着した。その中枢側の血管に血管表面より約5mm離れた位置に、緑色光を照射するファイバーをマイクロマニピュレーターを用いて固定した。約5分間、光のみを照射して変化がないことを確認したのち、対側よりRB (1, 3, 10mg/kg)を静注した。血栓による血流の停止(1, 3, 5 min)までの組織学的検討を光学及び電子顕微鏡を用いて検討した。別のラットを用いてヘパリン及びtPAについて検討した。ヘパリンは、血栓作成開始10分前に静注した。tPAは、血栓により血流が停止したのち30分間放置し血流が自然に回復しないのを確認したのち30分間持続静注した。

〔結果〕 RBの投与量10mg/kgの時、最も再現性良く血栓が作成された。またこの時の組織学的検討により内皮傷害による血栓であることが確認された。ヘパリンの前投与により血栓形成までの時間が用量依存的に延長され、最高用量では、観察期間中に血流は停止しなかった。tPAを用いた実験では、用量依存的に再開通が確認された。また、この時の電顕像では血流の回復にもかかわらず傷害内皮表面には多数の血小板が残存していた。

〔考察〕 本血栓モデルは、RBと緑色光による光増感反応により血管内にフリーラジカルを産生させ、これによる内皮傷害によって血栓を作成するもので、その方法は、従来にあるモデルと比較して短時間に再現性よく簡便に作成することが特徴である。形成された血栓は、組織学的検討からみられるように内皮傷害が起因となり血小板等の粘着を促進するフィブリン豊富な動脈血栓である。ヘパリンの前投与による血栓予防効果の発現は、本モデルにトロンビンの関与を示唆している。また、tPAの結果は、フィブリンの関与を示唆し、これは組織学的検討の観察結果からも確認された。

〔結論〕 本血栓モデルは、フィブリン豊富な動脈血栓であり、その形態は、臨床病態にみられる血栓に類似している。また、その血栓作成方法は、非常に簡便でかつ再現性に富んでいる。本手法のような大腿動脈における血栓モデルは、いままでになく、新しい血栓モデルとして基礎研究分野における抗血栓薬や血栓溶解薬の評価に有用であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

抗血栓薬や血栓溶解薬の開発には作成が容易で、血栓形成の再現性がよい血栓モデルが必要である。従来は銅線のコイルを用いる方法、化学物質を用いる方法、自家血でin vitroで血栓を作成して血管内へ注入する方法が用いられていたが、いずれも作成に時間を要し、再現性についても充分満足できる方法ではなかった。

申請者はWistar系雄性ラットを用い、光増感物質としてローズベンガルと、励起光540nmの緑色光を用

いて、光増感反応により血管内に一重項酸素と色素のラジカルを発生させ、これによって血管内膜傷害を作成して血栓を形成させる小動物での動脈血栓モデルを作成した。

この方法は大腿動脈での選択的血栓モデルで、しかも血栓作成部位は外部からの物理的傷害が殆どみられず、またきわめて短時間に血栓が作成可能である。また再現性がよく作成法も従来の実験的血栓作成法に比し、非常に簡便であり、優れた血栓モデルと考えられた。

さらに申請者はこの血栓モデルを用いて、ヘパリンの前投与による血栓形成に対する予防効果と、血栓溶解薬の Tissue Plasminogen Activator(tPA)の血栓溶解効果について検討した。その結果、ヘパリンの前投与により血栓形成までの時間が容量依存的に延長され、tPA によっては容量依存的に再開通が確認された。さらに再開通後の再開塞についても検討が加えられた。

以上のことから本血栓モデルは、新しい血栓モデルとして抗血栓薬や血栓溶解薬の評価に有用と考えられる。

なお、この研究に対して審査委員から次のような質疑がなされた。

1. 過酸化脂質は測定したか
2. ローゼベンガルは血管の内皮細胞に取り込まれるか
3. 光増感物質としてローゼベンガルを用いた理由
4. 静脈側の血流量には影響がないか
5. 無処置で自然に再灌流するのは何%ぐらいか
6. SOD を血栓作成前または後に投与するような実験はしたか
7. どの radical が主に血栓形成に作用するのか
8. 照射部位に好中球の集積は認められなかったか
9. tPA と UK との比較検討はなされたか
10. このモデルの独創性と将来の応用分野について等

これらの質問に対し申請者はおおむね適切な回答を行った。以上の審査の結果、本審査委員会は、本論文が学位授与に値する十分な内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	山崎	昇			
	副査	教授	青木	伸雄	副査	教授	一瀬典夫
	副査	教授	寺尾	俊彦	副査	助教授	浦野哲盟