慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Postischemic Hypothermia Inhibits the Generation of Hydroxyl Radical following Transient Forebrain Ischemia in Rats
Sub Title	虚血後から開始した低脳温はラット一過性前脳虚血後に生じるヒドロキシラジカルの産生を抑制する
Author	堀口, 崇(Horiguchi, Tkashi)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2006
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.3 (2006. 9) ,p.13-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060902-0013

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Postischemic Hypothermia Inhibits the Generation of Hydroxyl Radical following Transient Forebrain Ischemia in Rats

（虚血後から開始した低脳温はラット一過性前脳虚血後に生じるヒドロキシラジカルの産生を抑制する）

堀　口　　崇

内容の要旨

近年の動物実験の結果、虚血再灌流後に開始した軽微低脳温が一過性前脳虚血後の遅発性神経細胞障害を軽減させることが明らかとなった。しかしながら、脳保護機序の解明は十分になされていない。本研究では、雄性ウィスターラット（300-320g）を用いて20分間の一過性前脳虚血を負荷し、虚血中および再灌流後に産生されるヒドロキシラジカル（・OH）がサリチル酸と反応した結果生成される2,3-および2,5- dihydroxybenzoic acid（DHBA）と、ラジカル産生に重要な役割を果たしているアデノシンの代謝産物であるキサンチンの細胞外濃度を微小透析法で、また線条体の脳血流を水素クリアランス法で120分間にわたって経時的に測定し、虚血後常温群（37℃：NT群）と虚血後低温群（32℃：HT群）の二群間で有意差を検討した。

NT群では、2,3-および2,5-DHBAの測定値は再灌流と同時に有意に上昇し、虚血前値の各々2.9および2.7倍まで増加した。一方、HT群においては、NT群で認められた2,3-および2,5-DHBA増加が有意に抑制されていた。アデノシン濃度は両群ともに虚血と同時に上昇し、再灌流と同時に速やかに下降した。再灌流後、HT群でアデノシン濃度が高値となる傾向を示したが、統計学的有意差を認めたのは再灌流10分後のみであった。キサンチン濃度は両群ともに、虚血と同時に上昇し、再灌流後は緩やかに下降を始めた。しかし、再灌流後のキサンチン濃度は、HT群でNT群よりも有意に低値を示した。脳血流は、一過性過灌流の後に虚血前値の約60%まで低下する虚血後遅発性低灌流を示したが、両群間で有意差を認めなかった。

虚血脳の救済には早期の血流再開が必要であるが、再灌流によって新たに生じる神経細胞障害の予防も重要である。再灌流障害の主因の一つとして組織障害性の強い・OHの関与が挙げられるが、・OHの生成機序として、アラキドン酸代謝、白血球の活性化などに加え、キサンチンオキシダーゼ（XO）が触媒するヒポキサンチン、キサンチンとの化学反応が重要であると考えられている。XOは正常脳においては少量しか存在しないが、虚血および再灌流によってキサンチン脱水素酸素（XD）が大量にXOに変換される。キサンチン、ヒポキサンチンを生成するアデノシン代謝の速度は温度依存性であり、本研究では、虚血後低脳温によってキサンチン生成が抑制されることが明らかとなった。一方、虚血後の温度変化は脳血流に明らかな影響を及ぼさなかった。以上より、虚血再灌流後に脳温を低下させる方法は、虚血脳にとって重要な脳血流を維持しながらキサンチン生成を抑制する結果、・OH産生を減少させて脳保護作用をもたらす、再灌流障害予防に適した治療戦略である可能性が示唆された。

論文審査の要旨

虚血再灌流後から開始した低脳温がもたらす脳保護作用機序は十分に解明されていない。本研究では、ラット一過性前脳虚血再灌流後に産生されるヒドロキシルラジカル（・OH）に着目し、・OHがサリチル酸と反応して生成される2,3-および2,5-dihydroxybenzoate（DHBA）濃度、アデノシンおよびキサンチン濃度、局所脳血流の経時的変化を、虚血後常温（37℃）群と虚血後低温（32℃）群との間で比較検討した。その結果、虚血後から開始した低脳温は・OHの産生を抑制し、その機序にはキサンチン産生抑制が関与していること、温度低下は再灌流後の脳血流を低下させないこと、が明らかとなった。

審査ではまず、2,3-DHBAと2,5-DHBAの経時変化のパターンが異なる理由について質問がなされ、2,5-DHBAの変化にはチトクロームP450によって生成される経路も関与している可能性があるとの回答がなされた。次いで、温度による代謝への影響がアデノシンとキサンチンで異なる理由が質問され、アデノシンがイノシンへ変換される反応は細胞外でも生じ得るが、イノシンからキサンチンへの変換は細胞内で生じる反応であり、トランスポーターが温度による影響を受けた結果であるとの回答がなされた。さらに、温度低下が白血球の活性化を抑制したことを確認し得る方法について質問がなされ、cranial window下に観察する、または、myeloperoxidaseを用いた免疫組織化学が考えられるとの回答がなされた。続いて、虚血中のキサンチン産生に関わる酵素は何かという質問に対し、キサンチン脱水素酵素であるとの回答がなされたが、虚血によるNAD消費によってキサンチン脱水素酵素活性が抑制され、キサンチン酸化酵素が関与している可能性があるとの指摘を受けた。一方、同じカラムで定量されるDHBA以外のピークを分析し、鉄のキレート剤を使用すれば、同一実験系でキサンチン酸化酵素以外の経路、例えばperoxynitriteが関与する・OHの定量が可能となり、得られるデーターと解釈がさらに拡大できるとの指摘がなされた。また問題点としては、側頭筋ではなく脳の温度を測定する必要性と、ヘモグロビン酸素解離曲線と温度の関係を考察する必要性、加えて、代謝のパラメーターを同時に測定し血流と代謝の関係を十分に考察する必要性が指摘された。更に、臨床応用を考える上で、32℃に達するまでの温度が一定ではない時間帯に生じるパラメーターの変化についても、検討を要することが指摘された。

以上、本研究は今後さらに検討すべきいくつかの課題を残しているが、各パラメーターの精密な経時的定量をin vivoで行ない、虚血後から開始した低脳温の脳保護作用機序に・OH産生抑制が関与していることを明確に示した点において、有意義な論文であると評価された。

論文審査担当者　主査　外科学　河瀬　斌
　　内科学　鈴木　則宏　　解剖学　仲嶋　一範
　　医化学　末松　　誠
学力確認担当者：池田　康夫、鈴木　則宏
　　審査委員長：鈴木　則宏

試問日：平成18年5月24日