

Title	ラット硝子体中に投与したL-ドーパによる一酸化窒素の発生と組織学的変化： メラニン顆粒の有無による相違
Sub Title	
Author	小林, 幸
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.3 (2003. 9) ,p.5-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030902-0005">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030902-0005</a>

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.

# ラット硝子体中に投与したL-ドーパによる一酸化窒素の発生と組織学的変化

～メラニン顆粒の有無による相違～

小林 幸

## 内容の要旨

【目的】L-ドーパはNOを発生する。L-ドーパを投与することにより緑内障や網膜色素変性症の治療に貢献する可能性がある。本研究ではin vitroおよびin vivoでL-ドーパからのNOの発生を確認し、in vivoで組織変化を観察した。その変化とNOやO<sub>2</sub>との関係を探る目的で、それらの阻害薬等を前投与した場合の組織変化も検討した。

### 【実験方法および結果】

実験1：In vitroでのNOの発生。密閉培養皿中に、5段階に希釈したL-ドーパを投与し、発生するNOを電極法で記録した。また、L-ドーパ投与後にNO消去薬を注入し、電流変化を記録した。その結果、L-ドーパ注入後2分で拡散電流が確認され、注入したL-ドーパの濃度に比例して増加した。NO消去薬はそれを64%に低下させた。

実験2：In vivoでのNOの発生。生後6週令雌の有色ラット（DA）を2匹、および、白色ラット（WS）2匹を用いた。ラットの硝子体腔にphosphate buffered saline（PBS）、または、L-ドーパを注入し、発生するNOを電極法でモニターした。その結果、拡散電流はいずれも同様なパターンで発生し、減衰していた。その値はWSよりも、DAのほうが高かった。

実験3：L-ドーパ投与によるin vivoの組織変化。生後6週令雌のDA 5匹、および、WS 5匹を用いた。ラットの硝子体腔にPBS、または、L-ドーパを注入した。投与は、第1、3日目に行い、第5日目に眼球を摘出した。光顕用切片を作製しHE染色を行った。毛様体血管の拡張はDAとWSの両者に認められ、DAにおいて著しかった。DAの脈絡膜血管は拡張し、血管内皮の障害と平滑筋細胞への置換が認められたが、WSの脈絡膜血管はほとんど変化がなかった。

実験4：阻害薬等の前投与によるin vivoの組織変化。ラットは生後6週令雌のDAラット6匹（10眼）を用いた。1例（1眼）にPBS、1例（1眼）にL-ドーパを硝子体中に注入した。残りの4例（8眼）にはL-ドーパを投与したが、その1時間前に、carboxy-PTIO、N（G）-nitro-L-arginine methyl ester（L-NAME）、superoxide dismutase（SOD）をそれぞれ前投与した（前投与群）。PBSまたはL-ドーパを投与した1時間後に屠殺し、切片にHE染色を行った。その結果、PBS単独投与眼に比べ、L-ドーパ単独投与眼の脈絡膜血管は拡張していた。L-ドーパ単独投与眼の視細胞外節に傷害がみられた。また、前投与群では、いずれも脈絡膜の血管拡張が抑制された。

【結論】ラット硝子体中にL-ドーパを注入するとNOが発生し、毛様体および脈絡膜の血管が拡張することが明らかになった。また、その血管拡張には、NOとO<sub>2</sub>が関与した。

## 論文審査の要旨

L-ドーパはパーキンソン病に用いられ、眼科領域では弱視の治療に有効との報告がある。本研究ではL-ドーパによるNOが眼組織的にいかなる影響を与えるかをin vitroとin vivoにつき検討した。in vitroでのNOの発生は密閉培養皿中に5段階に希釈したL-ドーパを投与し、発生するNOを電極法で記録しL-ドーパの濃度に比例して拡散電流が増加することまた、NO消去薬にて低下する事を確認した。in vivoで有色ラットと白色ラットを用い、ラット硝子体腔にphosphate buffered saline（PBS）またはL-ドーパを注入し発生するNOを観察した結果、拡散電流は濃度依存性でありその値は白色ラットよりも有色ラットの方が高値を示した。L-ドーパ投与によるin vivoの組織変化をみた実験では、ラット硝子体腔にPBSまたはL-ドーパを注入し組織片を観察した結果、毛様体及び脈絡膜の血管が拡張していた。この現象は白色ラットより有色ラットで著明であった。阻害薬等の前投与によるin vivoの組織変化をみた実験では、PBS単独投与眼と比較しL-ドーパ単独投与眼の脈絡膜血管は拡張し、前投与群では脈絡膜血管の拡張は抑制が見られた。以上の結果から、ラット硝子体中にL-ドーパを注入するとNOが発生し、毛様体及び脈絡膜血管が拡張する事が明らかとなった。

審査に当たり、実験2で拡散電流を意味する波の最初にみられる陰性波と小振幅の波またL-ドーパを硝子体中に注入したときの大きな陰性波について質問があった。これに対してこれらの波はartifactが検出された物であるとの回答がなされた。白色ラットと有色ラットにL-ドーパを注入した結果、拡散電流が有色ラットの方がその値が高値である理由は何か、またin vitroで確認する必要がないかとの質問がなされた。これに対して、in vitroは既に共同研究者が報告済みであり、その結果と今回の結果は異なるとの回答があり、これに対する解釈に関して討論がなされた。実験方法で硝子体中へのL-ドーパの量について議論がなされたがラットは水晶体が大きく硝子体中に入れる量は制限される事また手技的にも困難を伴い出血があるとNO測定値が変化することなど回答がなされた。また論文中のDOPAによるNO発生についてこれが酵素反応か非酵素反応なのか説明がされるべきとの指摘があった。

実験3で毛様体と脈絡膜の血管がL-ドーパ注入眼とPBS単独投与眼で比較するとL-ドーパ注入眼の方が拡張しているとの報告に対しても討論があった。最後に実験4の結論に対して組織の切り方、N数など種々の疑問が各委員から出され、各委員から提出された疑問、問題点につき再度書き直しこれを各委員に再度校閲し了承が得られれば審査終了という事となった。これに対して申請者は論文を改変し、審査委員の了承が得られた。本論文は申請時幾つかの問題点があったが、ラット硝子体中にL-ドーパを注入するとNOが発生し、毛様体及び脈絡膜の血管の拡張を明らかにした点で眼科学において意義のあるものと評価された。

論文審査担当者 主査 眼科学 小口 芳久  
医化学 末松 誠 生理学 金子 章道  
病理学 岡田 保典 内科学 福内 靖男  
学力確認担当者：北島 政樹、末松 誠  
審査委員長：末松 誠

試問日：平成15年2月10日