

Title	The Role of Nitric Oxide after a Short Period of Liver Ischemia-Reperfusion.
Sub Title	肝虚血再灌流における一酸化窒素の意義
Author	森末, 淳
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.4 (2003. 12) ,p.27-
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=AN00069296-20031202-0027">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20031202-0027</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.

# The Role of Nitric Oxide after a Short Period of Liver Ischemia-Reperfusion.

(肝虚血再灌流における一酸化窒素の意義)

森 末 淳

## 内容の要旨

【緒言】NOの作用には2面性があり、血管拡張や、血小板、白血球凝集抑制、線溶活性亢進による微小循環改善作用と、活性酸素と反応しperoxynitriteを形成するcytotoxicな作用がある。本研究では肝虚血再灌流におけるNOの役割について検討した。

【材料、方法】Wistar系雄性ラットの肝動脈、門脈を30分clampする肝虚血再灌流モデルを作製した。コントロール群としてNO合成酵素阻害薬非投与群とL-NAME投与群およびaminoguanidine投与群の計3群を設けた。肝上部大動脈より採血し全血中活性酸素、血漿中NO、血清transaminase、末梢白血球数を測定し、さらに肝摘出し病理組織学的検索を行ない、蛍光免疫染色により組織中のiNOS、nitrotyrosine発現を調べた。また、in vivo microscopeを用いて虚血再灌流時の白血球の血行動態について観察した。

【結果】コントロール群において、再灌流後血漿中NOは時間経過と共に増加し、肝組織中のiNOSとnitrotyrosineの発現を認めた。一方、NO合成酵素阻害薬投与群では、コントロール群と比較し、血漿中NOの低下とnitrotyrosineの発現減弱を認めた。血清transaminase、病理組織像、in vivo microscopeで示される微小循環障害の程度はL-NAME投与群>コントロール群>aminoguanidine投与群の順であった。再灌流後6時間でL-NAME投与群はコントロール群、aminoguanidine投与群と比較し有意な生存率の低下を認めた。

【考察】NO合成酵素を阻害することでperoxynitriteを生成するNOが減少し、肝組織中のnitrotyrosineの発現は減弱した。再灌流後の血中transaminase値の上昇は、aminoguanidine投与群で有意に軽減したのに対し、逆にL-NAME投与群では増加した。Aminoguanidine投与によりperoxynitrite生成が抑制され内皮細胞障害が軽減し、微小循環が改善されたが、L-NAMEを投与すると再灌流後、血管内皮に接着する白血球が極めて多くなり、類洞に血栓が形成され循環不良となった。L-NAME投与群は病理組織学的にもうっ血が高度であり、再灌流後の生存率も低下した。cNOS由来のNOを温存し、peroxynitrite生成を抑えることが、虚血再灌流を軽減する方法として重要で、aminoguanidineのようにiNOSを特異的阻害する薬剤は有用と考えられた。

【結論】肝虚血再灌流において、iNOS阻害によりhigh-output NOおよびperoxynitrite産生を抑制し、cNOSは阻害せず、微小循環維持に必要なNOは確保しておくことが障害軽減に重要であることが示された。

## 論文審査の要旨

肝移植、肝切除において虚血再灌流障害は切実な問題である。本研究では肝虚血再灌流におけるNOの意義をin vivoでラット肝虚血再灌流モデルを用いて検討した。

審査では、まずL-NAME投与群とaminoguanidine投与群におけるNO産生量の違いについて問われ、L-NAMEがcNOSを阻害する分の差であるとの回答がなされた。L-NAME投与群とaminoguanidine投与群でNO産生量に差が検出できなかった部分も認められたが、これはcNOSによるNO産生量が極めて微量であるほかに、各時間の群間に個体差が含まれたためと説明がなされた。またiNOS mRNA、iNOS蛋白の発現時間の推移について質疑が出され、それに対してaminoguanidineが実際に効果を表しているか質問がなされた。再灌流4時間後の肝組織免疫染色においては肝細胞、あるいはKupffer細胞の細胞質の一部が染色され、iNOSとnitrotyrosineの発現が示されていた。再灌流後4時間以内のとりわけ早期の段階でNO合成酵素阻害薬がiNOSを阻害する可能性については、虚血1時間前に麻酔をかけてNO合成酵素阻害薬を投与している段階でiNOSを誘導させるような侵襲が加わっていることや、再灌流開始の1時間半前にNO合成酵素阻害薬を投与していることも関与した可能性があると回答された。またaminoguanidineが再灌流直後から白血球の類洞内での接着を阻害した理由として、肝微小循環内では再灌流後の非常に早期から検出できないレベルのiNOSが発現し、これがNOを産生することによる微小循環への影響があることなどが説明された。全血中活性酸素産生量は、虚血再灌流の刺激を受けた白血球にルミノールを添加して生じた化学発光を測定したものであるが、NOにはsuperoxideを消去する作用があるため、再灌流直後の活性酸素産生量はaminoguanidine投与群で上昇し、一方のL-NAME投与群では、微小循環を維持する程度のNO産生も抑制するため、白血球が類洞内に多数接着する結果、肝動脈と門脈をdeclampしても、再灌流直後の血液流量が極めて少ないため活性酸素産生量は増加しなかったものと説明された。本研究は2種類のNO合成酵素阻害薬の特性を利用して、iNOSあるいはcNOS由来のNOの意義について検討しているが、aminoguanidine自身にiNOSとは無関係に微小循環を改善させる作用がないのか、またL-NAME投与群で示された微小循環障害と生存率低下についても、NOSとは無関係なcytotoxicな作用がないか、検討する必要があったと指摘された。以上、本研究では今後検討すべき課題が少なからずあるものの、肝虚血再灌流におけるNOの役割を解明する手がかりとなる有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹  
医化学 末松 誠 内科学 石井 裕正  
解剖学 相磯 貞和  
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7月23日