

氏名(生年月日)
 本 籍
 学位の種類
 学位授与の番号
 学位授与の日付
 学位授与の要件
 学位論文題目
 論文審査委員

ヤナギ サワ アキ ヨ
 柳 沢 明 子

博士(医学)
 乙第2125号
 平成13年12月21日
 学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
 水浸拘束下ラット急性胃粘膜病変の形成における Nitric Oxide の役割について
 の検討

(主査) 教授 林 直諒
 (副査) 教授 小林 楨雄, 鈴木 忠

論文内容の要旨

〔目的〕
 Nitric oxide (NO) は胃粘膜病変において、粘膜保護的および傷害性に働くと考えられているが、急性胃粘膜病変における NO の役割についての詳細は明らかではない。そこで、水浸拘束ストレスラット急性胃粘膜病変モデルを用いて、NO の役割を明らかにするため、NO の代謝産物である NOx および nitric oxide synthase (NOS) mRNA (endothelial NOS (eNOS), neuronal NOS (nNOS), inducible type NOS (iNOS)) の発現について検討を行い、さらに、NO の基質である L-arginine を投与した際の胃粘膜病変への影響を検討した。

〔対照および方法〕
 体重約 200 g の Wistar 系雄性ラットを用い、24 時間絶食後ストレスケージ内に拘束し、23℃ の水槽中に剣状突起まで沈め、0, 5, 30, 60, 180, 360 分の 6 群を作製し A 群とした。更に、L-arginine (100 mg/kg) を水浸拘束 30 分前に腹腔内投与し同様に水浸拘束を行い B 群とした。麻酔下で胃を摘出した後、①胃組織中の NOx 測定 (Griess 法) と NOS (eNOS, nNOS, iNOS) mRNA (RT-PCR 法) 発現の測定を行った。②潰瘍係数の算定および NOS の免疫組織学的染色を行った。

〔結果〕
 ラット水浸拘束実験において A 群では、拘束時間経過とともに胃粘膜病変の増加を認めた。L-arginine を腹腔内前投与した B 群では、30, 60 分で急性胃粘膜病変の形成が抑制された。A 群で拘束時間経過とともに

NOx は減少傾向を示し、拘束前と拘束後 (5~360 分) の群では有意 ($p < 0.05$) な減少を認めた。病変形成が抑制された 30, 60 分で、A 群と比較して B 群では NOx は高値であった。A 群では eNOS mRNA の増加を認めなかったが、B 群では 30, 60 分で eNOS mRNA 発現量の増加を認め、A 群と比較し 60 分では有意 ($p < 0.05$) に高値であった。nNOS mRNA は水浸拘束に伴う変化を認めず、iNOS mRNA の発現は認めなかった。免疫組織学的染色では、胃粘膜下層、漿膜下層の動静脈の血管内皮細胞に eNOS の局在を認めた。

〔考察〕

A 群で水浸拘束により経時的に潰瘍係数は増加、NOx は減少を示し、eNOS mRNA 発現の増加は認められなかった。これは、ストレス負荷することで、粘膜血流低下に基づく低酸素状態の持続が、NOS mRNA の発現を低下させることや、ET などにより NOS が活性化されたことにより NO が消費されたことなどが考えられ、このように、NO の減少や eNOS mRNA 発現が増加できないことが、胃粘膜病変の形成に関わる可能性があると考えられた。

L-arginine を体外から加えると、内因性 NOS 阻害物質が増加し、外因性の L-arginine が効果的に利用され NO の合成が促進すると報告されている。L-arginine を腹腔内前投与した B 群では A 群と比較して、30, 60 分で潰瘍係数は抑制され、NOx, eNOS mRNA は高値であった。このことから、NO の増加により胃粘膜病変が抑制され、そして、30, 60 分で NOx の増加とともに

eNOS mRNA が有意に増加し、iNOS mRNA の発現を認めず、nNOS mRNA 発現と胃粘膜病変の形成に相関性が得られなかったことから、eNOS mRNA の発現により合成された NO の増加が、胃粘膜病変の抑制に重要であると示唆され、急性胃粘膜病変において保護的に働いていると考えられた。

免疫組織学的染色においても、胃粘膜下層、漿膜下層の動静脈の血管内皮細胞に eNOS の局在を認めることから、血管内皮細胞のストレスに対する反応が保たれ、内皮細胞の1つとして eNOS mRNA を発現し

NO を合成することが、急性胃粘膜病変形成の抑制に重要であると考えられた。

〔結論〕

NO の減少や eNOS mRNA 発現が増加しないことが、急性胃粘膜病変の形成に関わる可能性が示唆され、これは、L-arginine 前投与により、NO_x、eNOS mRNA の発現が増加し胃粘膜病変が抑制されたことから、eNOS 由来の NO が重要であり、NO が保護的に作用している可能性が考えられた。

論 文 審 査 の 要 旨

本論文は急性胃粘膜病変における NOS (nitric oxide synthetase) の役割を検討したものである。対象・方法として、水浸拘束ストレスラットを作製、予め NOS の負荷のため L-Arg を腹腔内投与し、対照群には投与せず、各々の群について胃粘膜病変、胃組織内 NO_x と NOS mRNA を経時的に測定し、NOS の胃組織局在については免疫染色を行った。

〔結果〕

①拘束時間とともに胃粘膜病変は増強したが、L-Arg 投与群では 30、60 分で病変出現が抑制された。②L-Arg 投与群では 30、60 分に NO_x、eNOS mRNA 発現量の増加を認めた。nNOS mRNA は水浸拘束に伴う変化は認めず、また iNOS mRNA の発現も認めなかった。免疫組織染色で、eNOS の局在を胃粘膜下層、漿膜下層を血管内皮細胞に認めた。

以上から L-Arg 投与により NO、eNOS mRNA の発現が増加し急性胃粘膜病変が抑制されたことから、eNOS 由来の NO が急性胃粘膜病変に対し保護的な役割を果たしていると推定した。本論文は学問的にも価値のあるものと判断する。

主論文公表誌

水浸拘束下ラット急性胃粘膜病変の形成における Nitric Oxide の役割についての検討

東京女子医科大学雑誌 第 71 巻 第 7・8 号

398-406 頁 (平成 13 年 8 月 25 日発行) 柳沢明子

副論文公表誌

- 1) 総肝管と膵管が癒合したと思われる、特異な形態を示した膵胆管合流異常の 1 例. 胆道 11 (3): 315-321 (1997) 柳沢明子, 土岐文武, 田所洋行, 他 13 名

- 2) 腹部エコー, 超音波内視鏡, CT にて特徴的な画像所見を呈した腹部 Lymphangioma の 1 例. Prog Dis Endosc 51: 226-227 (1997) 土谷まり子, 柳沢明子, 北村容子, 他 13 名
- 3) 検診における内視鏡検査で発見された胃癌の検討. 消集検 35(1): 10-16 (1997) 前田 淳, 柳沢明子, 板橋聖子, 他 13 名
- 4) NSAIDs 胃病変の臨床像について—*H. pylori* 菌の検討も含めて—. 新薬と臨 50 (8): 808-810 (2001) 前田 淳, 柳沢明子, 秋本真寿美, 他 9 名