

論文審査の要旨

本研究は笑気の鎮痛作用発現時に賦活化される神経伝達経路を既知である神経伝達回路に基づき明らかにし、鎮痛効果発現のメカニズムを解明することを目的とし、成人雄フィッシャーラットを用いて、オピオイドレセプターアンタゴニスト（ナロキソン）または γ -aminobutyric acid (GABA) レセプターアゴニスト（マシモロール）を中脳中心灰白質（periaqueductal gray matter : PAG）と橋に存在するノルアドレナリン作動系ニューロン（A7）に直接注入し、笑気を吸入させ、腰部脊髄を取り出し免疫組織染色にて神経細胞活性の指標である cFos の数を測定し、活性下降性抑制系神経細胞の定量化、プランターテストにても笑気鎮痛作用抑制の判定を行った。

その結果、PAG に投与されたナロキソン、マシモロールは脊髄、橋での笑気により発現される神経細胞の cFos 発現を抑制した。特に A7 での cFos 発現を抑制した。また A7 に投与されたマシモロール、ナロキソンも脊髄での笑気による cFos 発現を抑制し、プランターテストで笑気の鎮痛効果を抑制した。

すなわち、笑気の鎮痛作用には脳幹でのオピオイドニューロンと GABA ニューロンが関与していると考えられる。脊髄でのノルアドレナリック下降性抑制系は常に脳幹の GABA ニューロンによって抑制されており、笑気により脳幹で放出されるオピオイドが、この抑制を脱抑制（賦活化）することにより、笑気の鎮痛作用が発現すると考えられ、麻酔科領域で極めて意義のある研究であると審査された。

7

氏名(生年月日)	鈴木 まゆみ
本籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第 2430 号
学位授与の日付	平成 19 年 4 月 20 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	Oxidative stress increases Fas ligand expression in endothelial cells (血管内皮細胞の Fas ligand 発現に与える酸化ストレスの影響に関する研究)
主論文公表誌	Journal of Inflammation 2006 年 (doi: 10.1186/1476-9255-3-11)
論文審査委員	(主査) 教授 永井 厚志 (副査) 教授 泉二登志子, 松岡 雅人

論文内容の要旨

〔目的〕

血管内皮細胞膜が発現した Fas ligand (FasL) は、血管外へ遊走する好中球にアポトーシスを誘導する働きがあると考えられている。本研究では、血管内皮細胞の FasL 発現に与える酸化ストレスやタバコ煙の影響について検討した。

〔対象および方法〕

ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVECs) を培養したのち細胞死を起こさない低濃度 (100 μ M 以下) の H₂O₂ または 1% 以下のタバコ煙濃縮液 (CSE) に曝露した。HUVECs の membrane FasL 発現量は spectrofluorometry および flow cytometry により測定した。soluble FasL の発現量は ELISA 法により測定した。また H₂O₂ に曝露した HUVECs と健常者末梢血より分離した好中球を共培養したのち、ジアミノベンチジン染色とギムザ染色を施して、好中球のアポトーシスの割合を判定した。またラットの胸部大動脈を摘出して H₂O₂ を曝露したのち membrane FasL の発現を免疫組織化学的手法により検討した。

〔結果〕

H₂O₂ の曝露は、HUVECs の membrane および soluble FasL 発現量を増加させた。CSE の曝露も membrane

FasL の発現量を増加させたが、その効果はカタラーゼにより部分的に抑制された。H₂O₂ を曝露した HUVECs は共培養した好中球のアポトーシスを誘導した。また H₂O₂ を曝露したラットの胸部大動脈壁では内皮細胞の FasL 発現が増加していた。

〔考察〕

本研究では、①低濃度の H₂O₂ の曝露は HUVECs や大動脈内皮細胞の FasL 発現を増加させること、②喫煙中の H₂O₂ は HUVECs の FasL 発現を増加させること、③ H₂O₂ の曝露により内皮細胞に発現した好中球のアポトーシスを誘導することが示された。以上の結果から低レベルの酸化ストレスの曝露は血管内皮細胞の FasL の発現を増強して好中球のアポトーシスを誘導するものと考えられた。さらに予備研究の結果では、HUVECs の FasL 発現に対する H₂O₂ の効果は、チロシンホスファターゼ阻害薬である vanadate の存在下で増強され、チロシンキナーゼ阻害薬の genistein の存在下では抑制されていたことから（未発表データ）、細胞内シグナリングのチロシンリン酸化が H₂O₂ 曝露による FasL の発現増加の機序に関与する可能性が考えられた。本研究では、H₂O₂ の曝露が membrane FasL のみならず soluble FasL の発現量も増加させることが示された。soluble FasL は弱い活性ながらもアポトーシス誘導作用を有することから、membrane FasL と共同して炎症細胞にアポトーシスを誘導するものと考えられる。本研究で見出された酸化ストレスによる血管内皮細胞の FasL 発現増加作用は、好中球などの炎症細胞にアポトーシスを誘導することにより酸化ストレスによる催炎症作用に拮抗するように働くものと考えられる。

〔結論〕

低濃度の H₂O₂ や喫煙の曝露は血管内皮細胞の FasL の発現を増強して、血管外への好中球の遊走を抑制する可能性が考えられた。

論文審査の要旨

血管内皮細胞が Fas ligand (FasL) を発現し好中球のアポトーシスを誘導することが知られている。本研究では、血管内皮細胞の FasL 発現が酸化ストレスやタバコ煙によっていかなる影響を受けるかについて検討された。その結果、血管内皮細胞は酸化ストレスにより FasL の発現量を増加させ好中球アポトーシスを誘導することが知られ、血管外への好中球遊走を制御する働きのあることが明らかにされた。

以上より、本研究は学術的にも臨床的にも価値のあるものと評価できる。

氏名(生年月日)	河野康治
本籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第2431号
学位授与の日付	平成19年4月20日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	Experimental investigation of techniques for harvesting the internal thoracic artery (skeletonized versus pedicled) and pharmacological pretreatment (papaverin versus olprinone) (内胸動脈の spasm に対する剥離法 (skeletonized 対 pedicled) ならびに薬理学的前処置 (パパベリン対オルプリン) の実験的検討)
主論文公表誌	東京女子医科大学雑誌 第77巻 第2号 62-68頁 2007頁
論文審査委員	(主査) 教授 黒澤 博身 (副査) 教授 笠貫 宏, 川島 眞