

氏 名	もり 森 ひろ 浩 こ 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1715 号
学位授与の日付	平 成 12 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Effects of 6-formylpterin, a xanthine oxidase inhibitor and a superoxide scavenger, on production of nitric oxide in RAW 264.7 macrophages (キサンチンオキシダーゼ阻害剤であり活性酸素消去剤でもある6-フォルミルプテリンがマクロファージ (RAW264.7) における一酸化窒素産生に及ぼす影響)
論文調査委員	(主 査) 教 授 淀 井 淳 司 教 授 光 山 正 雄 教 授 福 田 和 彦

論 文 内 容 の 要 旨

6-フォルミルプテリン (6-FP) は、スナネズミの一過性脳虚血モデルにおいて神経細胞の傷害を軽減する作用を有することが示されている。しかしながら、6-FP の神経保護作用の機序は明らかではなく、6-FP の有するキサンチンオキシダーゼ阻害作用ならびに活性酸素消去作用以外の機序によることが示唆されている。脳虚血において神経細胞の傷害をもたらす重要な因子として一酸化窒素 (NO) が知られているが、NO あるいは NO 産生系に及ぼす 6-FP の効果については明らかにされていない。本研究は、NO あるいは NO 産生系に及ぼす 6-FP の効果を解明することを目的とした。

NO 産生系としてマクロファージ (RAW264.7) をリポ多糖類 (LPS) ならびにインターフェロン- γ (IFN- γ) で刺激した系を用い、6-FP がマクロファージにおける NO 産生、誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) 発現ならびに iNOS 酵素活性におよぼす影響を検討した。LPS ならびに IFN- γ と共存させた 6-FP は、濃度依存性にマクロファージが産生する NO の量を減少させた。6-FP は、RT-PCR 法を用いて調べた iNOS mRNA の発現ならびにイムノブロット法を用いて調べた iNOS 蛋白の発現を、濃度依存性に抑制した。以上の結果は、6-FP は iNOS の発現を抑制することにより、NO 産生を抑制することを示している。また、6-FP 非存在下でマクロファージを LPS ならびに IFN- γ で刺激した後に 6-FP を投与すると、6-FP の濃度に依存してマクロファージによる NO 産生は減少した。この結果は、6-FP が iNOS の酵素活性を抑制することを示している。

次に、NO 産生系として NO 産生試薬 S-ニトロソ-N-アセチルペニシラミン (SNAP) を用い、6-FP に NO 消去能があるか否かを検討した。6-FP は、SNAP から発生する NO の量に影響を与えなかった。この結果は、6-FP が NO 消去能を有しないことを示している。

さらに、6-FP による iNOS 発現抑制の機序を解明するため、6-FP が iNOS 遺伝子の主要な転写因子である NF- κ B の活性化に及ぼす影響を検討した。6-FP は、NF- κ B のレポーター遺伝子を導入したマクロファージを LPS ならびに IFN- γ で刺激した時のレポーター遺伝子の発現に影響を与えなかった。この結果は、6-FP による iNOS 発現抑制の機序は、NF- κ B の活性化の抑制では説明できないことを示している。

以上より、6-FP はマクロファージにおける iNOS の発現と酵素活性を抑制するが、NO とは直接反応しないことが明らかとなった。従って、6-FP は炎症等において、炎症細胞からの NO 産生は抑制するが、血管内皮などで産生された NO の作用には影響しないと考えられ、抗炎症剤として役立つ可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

6-フォルミルプテリン (6-FP) はキサンチンオキシダーゼ阻害作用と活性酸素消去作用を有するが、その他の生理作用に関しては明らかにされていない。一方、脳虚血における神経細胞傷害は 6-FP により抑制されるが、その発生には一

酸化窒素 (NO) が重要な役割を果たすことから、6-FP が NO 自体あるいは NO 産生系に対して作用を及ぼす可能性が推測されている。そこで本研究では、マクロファージ細胞株を用いて、NO 自体あるいは NO 産生系に対する 6-FP の効果について検討した。

マクロファージをリボ多糖類とインターフェロン- γ で刺激すると、誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) が誘導されて NO 産生量が増加するが、6-FP は iNOS の誘導および誘導された iNOS の酵素活性を抑制した。この 6-FP の iNOS 誘導抑制作用は、iNOS 遺伝子の発現にかかわる転写因子の一つである NF- κ B の活性化抑制によるものではない。また、6-FP は NO 産生試薬 S-ニトロソ-N-アセチルペニシラミンが発生する NO 量には影響を与えず、NO と直接反応して消去する作用は有しないことが明らかになった。これらの結果は、6-FP は炎症組織中のマクロファージにおける iNOS を介する NO 産生を抑制し、抗炎症剤として有用である可能性を示唆している。

以上の研究は炎症および脳虚血における 6-FP の作用機構の解明に貢献し、麻酔学の研究の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお本学位授与申請者は、平成12年3月29日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。