

氏 名	奥 巖	ス 淳	チャ ン 謙
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	医 博 第 2135 号		
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当		
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻		
学 位 論 文 題 目	Involvement of Nitric Oxide in Survival of Random Pattern Skin Flap. (乱走皮弁生着における一酸化窒素の関与) (主査)		
論 文 調 査 委 員	教 授 宮 地 良 樹	教 授 開 祐 示	教 授 西 村 善 彦

論 文 内 容 の 要 旨

皮弁とは血行を維持した状態で移動し、欠損部を被覆するものであるが、血流量が不十分だと壊死に陥る。この壊死にはスーパーオキシドが関与することが明らかにされている。同じくフリーラジカルである一酸化窒素（以下NO）は近年になり、生理的に有用な作用を行うのみならず細胞傷害性に作用する場合があることが明らかになってきた。皮弁においても、NOが血管平滑筋を弛緩させ末梢循環を維持し生着に寄与している面と、ラジカルとして組織傷害性に働いている面の二面性があると考えられる。特にNOはスーパーオキシドと反応し、傷害性の強いパーオキシライトを形成し、このパーオキシライトはタンパク質のチロシン残基と反応して 3-nitro-L-tyrosine を生成することがわかっている。本研究ではラット皮弁モデルの生着メカニズムにおけるNOの影響を検討した。

方 法

体重200～220 g のウィスター系雄ラットの背部に尾側を基とする15×70mmの正中皮弁を作製しdye distanceを測定した。動物は対照（生食投与）群、血管内皮型一酸化窒素合成酵素（以下ecNOS）阻害剤であるN^g-nitro-L-arginine（以下L-NNA）投与群、NOの基質であるL-arginine投与群の3群に分けた。対照群は生食 2 ml/kg, L-NNAは50mg/kg, L-arginineは1 g/kgをそれぞれ生食（2 ml/kg）に溶解し、皮弁作製後、腹腔内投与した。各群20匹、計60匹を使用し、7日後生着長を測定した。また、各群10匹についてレーザードップラー血流計で、皮弁作製30分後、24時間後および72時間後にcritical dye levelより10mm近位と遠位の点で血流量を測定した。

別に27匹のラットに皮弁を作製し同様の3群に分けた。皮弁作製30分後、24時間後、72時間後にdye levelより近位および遠位部で円状の組織を採取し、ecNOS及び3-nitro-L-tyrosineについてウェスタンブロットを行った。

結 果

対照群、L-NNA群、L-arginine群のdye distanceには差を認めなかったが、生着長は37.8±7.3mm（平均値±標準偏差）、26.5±6.3mm、45.3±5.0mmで各群間で有意差が認められた。皮弁血流量に関しては、L-NNA群では近位部、遠位部ともに薬物投与後に血流量の減少をみた。L-arginine群では薬物投与直後にいったん減少したがその後増加を示した。対照群では生食投与後近位部で漸増、遠位部では漸減した。ウェスタンブロットでは、3-nitro-L-tyrosineは遠位部では24、72時間ともにL-arginine群で最も生成量が多かった。一方近位部ではL-arginine群が3群中最も少なく、正常対照群とほぼ同じであった。ecNOSも遠位部ではL-arginine群で最も多量に存在し、生食投与対照群がそれに次ぎ、L-NNA群が最も少なかった。近位部でもL-NNA群が最も少なかった。正常皮膚は近位部、遠位部すべての皮弁群より多量に存在した。

ま と め

L-NNAの投与により皮弁末梢部の血流量は減少し生着長が短縮したが、L-arginineの授与では血流は増加し生着長が延長した。L-NNA群の遠位部、近位部ともにウェスタンブロットでecNOS量が低下していることは組織の壊死を反映しているものと推測される。3-nitro-L-tyrosineがL-arginine群の末梢で多量に存在したことは、NOの産生が増大したことを裏付

けていると同時に何らかのフリーラジカルによる組織傷害を示している。しかし、本実験系においてはL-arginine投与群で皮弁生着は延長したことから、NOはラジカルとしての組織傷害作用よりも皮弁末梢の血流維持に働く効果が上回るものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

ラット背部に乱走皮弁を作製し、対照群（生食のみ）、L-NNA（eNOS阻害剤）投与群、L-arginine（NO合成基質）投与群の3群に分け、1週間後の生着長の測定、経時的皮弁組織血流測定、および経時的皮弁組織サンプリングによるeNOSおよび3-nitro-L-tyrosineのWestern blot analysisを行った。生着長はL-NNA投与群で短縮し、L-arginine投与群で延長した。血流量はL-NNA投与群で減少したが、L-arginine投与群では増加した。皮弁遠位部においてeNOS、3-nitro-L-tyrosineともにL-arginine投与群では強く、L-NNA投与群では弱く発現された。L-NNA投与群では近位部でもeNOSの発現は弱かった。これらの結果、eNOS由来NOが皮弁末梢部の血流維持に必要なこと、またL-arginineは皮弁末梢部に酸化的損傷を引き起こすものの、血流改善効果の方が優り皮弁生着を延長させることが明らかになった。

以上の研究は、皮弁生着におけるNOの関与を解明し、臨床における皮弁生着率の向上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11年3月2日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。