

氏 名	後 藤 和 生
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2079 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 脳 統 御 医 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Nitric oxide synthase immunoreactivity in the edematous brain. (浮腫状脳におけるNO合成酵素の発現に関する研究) (主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 川 口 三 郎 教 授 金 子 武 嗣 教 授 橋 本 信 夫

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

Nitric oxide (NO) は血管拡張などの生理的役割を持つと共に、さまざまな病因にも関与していると言われている。脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (stroke-prone spontaneously hypertensive rat [SHRSP]) 脳のアストロサイトにおいてoxidoreductase活性の増加が、病変部のみならず、脳浮腫以外には明らかな実質的变化を認めない部位にも認められることは知られており、一方oxidoreductaseの一種であるNADPH diaphoraseのparaformaldehyde固定標本における発現はNO synthase (NOS) の局在を反映していると言われる。このことより脳における高血圧性病変にNOが関与している可能性があると考え、免疫組織化学的にこれを検討した。また浮腫のみによりNO発現が増加されるかを確認するために、凍結損傷モデルを用いて免疫組織化学的手法、免疫電顕染色法を用いて検討した。

【方法】

実験動物は雄SHRSPとコントロールとしてWistar Kyoto Rat (WKY) を用いた。凍結損傷モデルには、WKYを用い、硬膜の上から液体窒素にて金属プローブを接触させる方法をとった。paraformaldehydeにて灌流固定後、脳をパラフィン包埋し、hematoxylin and eosin (HE), Luxol fast blue染色用に4 μ m, 免疫組織化学染色用に2 μ m切片とした。NOS抗体はTransduction Laboratoriesの抗brainNOS抗体のmonoclonal typeを使用。浮腫や脱髄との関連を見るためにfibringen, Luxol fast Lablue染色を、その他、HE, glial fibrillary acidic protein (GFAP), Ricinus communis agglutinin (RCA)-1 lectin各染色も同時に実施した。今回使用した抗brainNOS抗体はinducible NOSにも交叉性反応がある。凍結損傷モデルにおいては同じNOS抗体を用いて、免疫電顕染色法も実施した。

【結果】

コントロールにおいては、NOS活性はこれまで言われているように皮質や基底核の一部の神経細胞に強く見られるのみであった。SHRSPにおいては上記に加え病変部に起因する浮腫、脱髄領域において、神経細胞に弱く、そして反応性アストロサイトと一部のマイクログリア/マクロファージに中等度に各々NOS活性を認めた。また凍結損傷モデルにおいても、同様に浮腫領域に一致して、NOS活性を認めた。免疫電顕染色法では反応性アストロサイトの粗面小胞体に沿ってNOS活性を認め、NOSが外から取り込まれたものではなく細胞内で産生されたものであることを示唆した。

【考察】

今回用いたNOS抗体はbrain-constitutiveNOS (cNOS) に対する抗体であるが、inducible NOS (iNOS) にも反応するものだった。従来の報告によるとアストロサイト、マイクログリア/マクロファージに認められたのはiNOSで、神経細胞に認められたのはcNOSと思われるが、神経細胞にiNOSを認めたという報告もあり、いずれであるかは断定し難い。

NOSの誘導機構は定かでないが、浮腫以外に器質的变化をきたしていない部位にも誘導されていることから、浮腫による低酸素状態からフリーラジカルが産生され、これがNOS発現に関与する可能性がある。或るいは、サイトカインやフィ

プリノーゲンを含む漏出血漿成分がNOS発現に関与しているのかも知れない。

慢性高血圧下におけるNOの働きについては、フリーラジカルとして、オリゴデンドロサイトのDNAや細胞膜を傷害し脱髄などの変性を引き起こす可能性とそれとは逆にNOがvasodilatorとして働き、虚血から脳を保護している可能性もある。

論文審査の結果の要旨

【目的】

高血圧性脳病変には脳浮腫が付随しているが、この浮腫によりnitric oxidesynthase (NOS) が誘導されるか否かを検討するために脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (stroke-prone spontaneously hypertensive rat [SHRSP]), 脳凍結損傷モデルを用い、免疫組織化学的に検討した。

【方法】

雄SHRSPとコントロールにWistar Kyoto Rat (WKY) を使用した。脳凍結損傷モデルはWKYの硬膜上から冷却した金属プローブを接触されることにより作成した。NOS抗体として、Transduction Laboratoriesの抗brainNOS抗体のmonoclonal typeを使用した。これはinducible NOSと交差反応性がある。

【結果】

コントロールでは、NOS活性は皮質や基底核の一部の神経細胞に強く見られた。SHRSPでは上記に加え、病変周囲の皮質から対側にまで及ぶ皮質下白質の浮腫領域において、神経細胞に弱く、反応性アストロサイトと一部のマイクログリア／マクロファージに中等度に各々NOS活性を認めた。脳凍結損傷モデルでも、浮腫領域に一致してNOS活性を認めた。

【考察】

浮腫領域に新たに誘導されたNOSはinducible typeである可能性が高く、この発現には浮腫による低酸素状態で産生されたフリーラジカル、あるいはサイトカインが関与し、産生されたnitric oxide (NO) が傷害性に働き、高血圧性脳皮質病変の形成、また浮腫状皮質下白質の脱髄の形成に関与している可能性があることが示唆された。

以上の研究は、高血圧性脳病変の浮腫領域によく一致してNOSの発現を認めたことから、浮腫によりNOSが誘導され、産生されたNOが浮腫領域の組織傷害に関与している可能性の解明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1月18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。