

平成20年7月

高野智晴 学位論文審査要旨

主査	佐藤慶祐
副主査	宮川征男
同	長谷川純一

主論文

Neutrophil elastase inhibitor, sivelestat sodium hydrate prevents
ischemia-reperfusion injury in the rat bladder

(好中球エラスターゼ阻害薬、シベレスタットナトリウム水和物はラット膀胱の虚血-再灌流障害を予防する)

(著者：高野智晴、岡田晋一、齊藤源顕)

平成20年 Molecular and Cellular Biochemistry 311巻 87頁～92頁

学 位 論 文 要 旨

Neutrophil elastase inhibitor, sivelestat sodium hydrate prevents ischemia-reperfusion injury in the rat bladder

(好中球エラスターゼ阻害薬、シベレスタットナトリウム水和物はラット膀胱の虚血-再灌流障害を予防する)

目 的

臓器の血流が途絶後、血流が再開されると臓器に障害が生ずるのを虚血-再灌流障害という。肺、肝臓、腎臓の虚血-再灌流障害に好中球エラスターゼが重要な役割をしているという報告がある。この研究ではラット膀胱の虚血-再灌流障害に好中球エラスターゼ阻害作用をもつとされているシベレスタットナトリウム水和物に障害の軽減効果あるかどうか検討した。

方 法

8週齢の雄性Sprague-Dawleyラットを用いて、ペントバルビタール腹腔内注射で麻酔後開腹し、大動脈分岐部直上をクランプすることにより虚血状態を誘発した。30分間虚血状態を維持し、クランプをはずすことで60分間再灌流を行い虚血-再灌流(ischemia-reperfusion、IR)モデルとした。虚血開始から再灌流後60分までの血流量をレーザードップラー血流計にて、NO生成量をNOモニターにて同時に測定した。その後膀胱を摘出し、組織中のNO₂-NO₃濃度と酸化ストレスマーカーであるmalonaldehyde (MDA)濃度を測定した。このIRモデルに、薬物投与群としてシベレスタットナトリウム水和物15、60 mg/kgを虚血開始60分前に腹腔内投与した。対照としてIRのみの薬物非投与群と非IRのコントロール群の計4群で実験を行った。

結 果

非薬物投与群であるIR群では血流量は大動脈分岐部直上をクランプすることにより減少し、再灌流により1分以内に回復しその後クランプ前の血流量よりも増加傾向が続いた。同時に測定したNO生成量は、クランプにより直ちに増加し、再灌流後もNO生成量は減少するがクランプ前のNO生成量よりも有意な増加が続いた。一方薬物投与群では血流量はクランプすることによって減少し、再灌流により1分以内に回復したがその増加量はIR群に比べて

低値で、用量依存的に抑制された。同時に測定したNO生成量は、クランプにより直ちに増加したが、その生成量はIR群に比べ低値で、再灌流時にもその抑制は続いた。膀胱組織のNO₂-NO₃濃度はIR群がコントロール群に比べ有意に増加し、シベレスタットナトリウム水和物投与群ではIR群に比べ減少した。またMDA濃度はIR群がコントロール群に比べ有意に増加し、シベレスタットナトリウム水和物投与群ではIR群に比べ減少傾向を認め、シベレスタットナトリウム水和物60 mg/kg投与群ではIR群に比べ有意に減少した。

考 察

ラットの膀胱において虚血開始から60分までの血流量とNO生成量を同時に測定した結果、血流量は虚血直後より減少し、再灌流により増加した血流はその後持続的に増加傾向が続いた。この増加がシベレスタットナトリウム水和物投与群で抑制された。NOの生成量は虚血直後より増加し、再灌流後NO生成量は減少するが、クランプ前よりも有意な増加が続いた。このNO生成量の増加はシベレスタットナトリウム水和物投与群で抑制された。シベレスタットナトリウム水和物投与群が非投与群に比べ血流量が減少した理由としてシベレスタットナトリウム水和物によりNOの生成が抑制されたことでNOを介する血管拡張が抑えられた結果、血流量が減少したと考えられる。

また膀胱組織内の臓器障害のマーカーでかつ酸化ストレスマーカーであるMDA濃度は虚血-再灌流により増加し、その増加はシベレスタットナトリウム水和物により減少した。ラットの膀胱で虚血-再灌流時にNOの生成量が増加し、またその生成酵素NOSのサブタイプは血管内皮型NOS (eNOS) であることが報告されている。また、ラットの肺での出血性ショックにおける検討でシベレスタットナトリウム水和物がiNOSのmRNA発現を抑えることが報告されている。以上のことから、膀胱における虚血-再灌流時シベレスタットナトリウム水和物によりNOの生成は抑制されるが、eNOS及びiNOSの両方が抑制されたことが考えられた。

今回活性酸素種による細胞障害の程度をMDAにより評価し、シベレスタットナトリウム水和物投与群が非投与群と比較し障害の程度が抑制された。このことからシベレスタットナトリウム水和物はプロテアーゼによる直接的細胞障害だけでなく、活性化した好中球が関与し生成されたNOによる細胞障害を抑制すると考えられた。

結 論

シベレスタットナトリウム水和物投与群では酸化ストレスマーカーであるMDA濃度が用量依存的に減少したことから、虚血-再灌流時のラットの膀胱において好中球エラスターゼ阻害薬は虚血-再灌流障害を軽減すると考えられた。