

氏 名 (本 籍)	森 毅 (滋賀県)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 5 0 9 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 7 年 9 月 1 4 日
学 位 論 文 題 目	A free radical scavenger, edaravone (MCI-186), diminishes intestinal neutrophil lipid peroxidation and bacterial translocation in a rat hemorrhagic shock model (フリーラジカルスカベンジャーであるエダラボン(MCI-186)は、ラット出血性ショックモデルにおいて、好中球の過酸化とバクテリアルトランスロケーションを軽減する)
審 査 委 員	主 査 教 授 田 中 俊 宏 副 査 教 授 岡 田 裕 作 副 査 教 授 岡 部 英 俊

論文内容要旨

*整理番号	515	(ふりがな) 氏名	もり 森 つよし 毅
学位論文題目	A free radical scavenger, edaravone (MCI-186), diminishes intestinal neutrophil lipid peroxidation and bacterial translocation in a rat hemorrhagic shock model. (フリーラジカルスカベンジャーであるエダラボン (MCI-186) は、ラット出血性ショックモデルにおいて、好中球の過酸化とバクテリアトランスロケーションを軽減する)		
<p>(目的)</p> <p>これまで、我々は出血性ショックという無菌的な侵襲に対し、腸管より体内に細菌や菌体成分が侵入してくる現象、Bacterial translocation(BT)について研究を行ってきた。出血性ショックのみならず外傷や熱傷などの侵襲においても BT は生じ、その発生のメカニズムとしてフリーラジカルが関与している事が報告されている。また、出血性ショック後の蘇生モデルにおいて、フリーラジカルスカベンジャーが生存率を改善、炎症性サイトカインを減少させる事も報告されている。</p> <p>数年前より脳梗塞後の治療薬として、フリーラジカルスカベンジャーであるエダラボン(商品名;ラジカット)が臨床使用されている。我々は出血性ショックの低灌流時より BT が生じることを報告しており、この病態にフリーラジカルが関与し、エダラボンが出血性ショック時のBTに対し何らかの効果を持つのではないかと考えた。以上のことから、ラット出血性ショックモデルを用いフリーラジカルスカベンジャーとしての Edaravon の出血性ショック下での BT 抑制効果を調べるとともに、出血性ショック時にフリーラジカルがBT発生に関与しているかを検討した。</p> <p>(方法)</p> <p>雄 SD rat を腹腔内麻酔し、大腿動脈にカニューレーションを行い、血圧をリアルタイムでモニターした。本ルートより脱血し、平均血圧 30mmHg で 60 分間維持した。ラットは Edaravone 3mg/kg(2ml/kg)を投与する群 (Ed)、Edaravone と同量の生理食塩水を投与する群 (saline)、ショックを与えない群 (sham) の 3 群にわけ、Ed 群および saline 群に対しては、ショック開始直後に大腿静脈より静脈投与した。ラットはショック終了直後に蘇生をせず犠死させ、腸間膜リンパ節と末梢血を採取した。BT の指標として、腸間膜リンパ節培養と末梢血の silk worm larvae plasma (SLP) test とエンドトキシン値を測定し各群で比較検討した。また、組織学的検討のため灌流固定した小腸を用い、酸化ストレスの指標である 4-hydroxy-2-nonenal(4-HNE)の免疫染色を行い各群間で比較検討した。4HNE 陽性細胞同定のためにミエロペルオキシダーゼと 4HNE との二重染色を行い、4HNE 陽性細胞の細胞内局在</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

を調べるため免疫電顕を行った。

(結果)

腸間膜リンパ節への BT および末梢血 SLP 値は、saline 群の出血性ショック 60 分で増加し Edaravone の投与にて有意に抑制された。また、4-HNE の免疫染色では、saline 群で小腸の lamina propria に多数の 4-HNE 陽性細胞を認めたが、エダラボン投与にて有意に抑制された。また、4-HNE 陽性細胞の同定のためにミエロペルオキシダーゼとの二重染色を行ったところ、その多くがミエロペルオキシダーゼ陽性細胞と一致した。Ed 群、saline 群、sham 群のミエロペルオキシダーゼ反応陽性細胞数をカウントしたところ、その数はほぼ同じであったが、4-HNE 陽性細胞数は Ed 群は saline 群に比べ有意に数が減少していた。さらに saline 群の 4-HNE 陽性細胞の細胞内局在を電子顕微鏡で検討すると好中球のライソソーム膜に 4-HNE 陽性反応物が確認された。

(考察)

以前より出血性ショックという無菌的な侵襲下において、敗血症や多臓器不全を生じる事実が報告されており、この病態メカニズムに BT が関与している事が示唆されている。我々は SLP が BT を反映する事実を報告しており、今回の検討によりフリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンが出血性ショック下で BT を抑制する事を示した。一方、出血性ショックと酸化ストレスとの関係を研究した報告の多くは、ショック後の蘇生モデル、いわゆる、再灌流傷害モデルでの実験であり、出血性ショック時の低灌流時の酸化ストレスについて検討した報告はほとんどない。各臓器において虚血後に再灌流することで大量のフリーラジカルが産生されるとされているが、今回の結果は再灌流時だけではなくそれ以前の低灌流時においてさえ小腸が何らかの酸化ストレスを受けている事を示している。以前、我々は出血性ショック時の低灌流時に好中球が活性化されている事実を報告しており、出血性ショック時の BT には好中球の活性化とそれによる好中球自身の過酸化が関与している可能性が示唆された。

(結論)

フリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンはラットの出血性ショックの低灌流時において好中球の過酸化を抑制し BT を軽減した。出血性ショック時の BT のメカニズムに小腸内好中球の酸化が関係している可能性がある。また、エダラボンの早期投与が出血性ショック時の有効な治療薬となりうると考えられる。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	515	氏名	森 毅
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>全身或いは局所の侵襲時に、腸管より体内に細菌や菌体成分が侵入してくる現象、Bacterial translocation (BT) が発生することが言われており、その発生のメカニズムにフリーラジカルの関与が報告されている。本研究は出血性ショックの虚血時の BT 抑制に、フリーラジカルスカベンジャーである Edaravone が有効であるか否かを検討すると同時に、その BT 発生のメカニズムに好中球からのフリーラジカルが関与している事を明らかにしようとしたものである。</p> <p>その結果、腸間膜リンパ節培養の結果などから、Edaravone により BT が抑制され、酸化ストレスの指標である 4-hydroxy-2-nonenal の免疫染色から、Edaravone が好中球の酸化を抑制している事を明らかにした。</p> <p>このように本論文は、出血性ショックの虚血時の BT 発生抑制に Edaravone が有効である事を示すとともに、その発生のメカニズムにフリーラジカルが関与する可能性を示唆したものであり、博士 (医学) の学位授与に値するものと認められる。</p>			
(平成17年 9月 5日)			