

氏名(本籍)	ひら やま あき 平 山 暁 (千 葉 県)
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	博 乙 第 1565 号
学位授与年月日	平成 11 年 10 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	S-Nitrosothiols Are Stored by Platelets and Released during Platelet-Neutrophil Interactions (S-ニトロソチオール <small>の</small> 血小板への貯蔵と血小板好中球相互反応における放出)
主 査	筑波大学教授 医学博士 長 澤 俊 郎
副 査	筑波大学教授 理学博士 坂 内 四 郎
副 査	筑波大学教授 医学博士 関 沢 清 久
副 査	筑波大学助教授 医学博士 玉 岡 晃

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

一酸化窒素 (NO) は強力な血小板凝集阻害物質として知られている。本研究では炎症の場に近い状況で血小板 NO の関与を明らかにするため、NO 供与体および NO 合成酵素 (NOS) 阻害剤の投与下における血小板-好中球相互反応を観察し、また、産生された NO もしくは類似の作用を持つ等価物が血小板内に貯蔵される可能性について検討した。

### (方法)

ヒト多血小板血漿 (Platelet rich plasma : PRP) をずり応力により血小板を活性化した後好中球を添加、好中球より発生する活性酸素種をスーパーオキシド ( $O_2^-$ ) 特異的であるルシゲニン、および  $O_2^-$ 、過酸化水素 ( $H_2O_2$ )、パーオキシナイトライト ( $ONOO^-$ ) 等との反応するルミノールの二種の異なる増強剤を用いて記録した。NO 供与体 S-nitrosoglutathione (GSNO) 20  $\mu$  M, NOS 阻害剤 L-N- (1-iminoethyl) ornithine (L-NIO) 20  $\mu$  M を活性化前に PRP に添加し処理した。血小板内の S-ニトロソチオール量は Saville 法と 2,7-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCFDA) の発光の組み合わせにより測定した。

### (結果)

ずり応力により活性化された血小板は好中球とロゼットを形成し、反応開始後 25 分に最大となり、約 60 分にわたり続く活性酸素種の発生を誘発し、血小板と好中球の接着を阻害すると活性酸素などの発生が抑制された。GSNO 添加活性化 PRP はルミノール発光を無添加活性化 PRP に比べ増強し、ルシゲニン発光を抑制した。一方 L-NIO 処理活性化 PRP においてはルミノール発光が抑制され、ルシゲニン発光を増強した。ずり応力により活性化された PRP の細胞内 S-ニトロソチオールは非活性化 PRP に比して有意な増加を認めた。

### (考察)

NO は血小板のリクルートメントや凝集を抑制し、血栓形成を抑制するとされているが、本研究では、NO の存

在下では活性化血小板-好中球相互反応により  $\text{ONOO}^-$  が発生し、生成されたS-ニトロソチオールは血小板内に貯蔵され、これはさらなる血小板の活性化に通じて血小板-好中球相互反応を増強するメカニズムの存在が示唆された。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は従来から一酸化窒素 (NO) は強力な血小板凝集阻害物質と考えられていたが、ずり応力で活性化した血小板は好中球を活性化してNOを産出し、産出されたNOは血小板に貯蔵され、血小板を活性化するポジティブフィードバック機構が存在する可能性を示した。In vivoでNOの役割を考える上で価値ある研究と評価した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。