【261】

氏名（国籍）	皮（び） 静（せい） 波（は）（中国）
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博甲第2969号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	Impairment of nitric oxide formation and increased oxidative stress caused by chronic arsenic exposure （慢性砒素曝露によって生じる一酸化窒素生成の障害と酸化ストレスの増加）
主査	筑波大学教授　医学博士　大野忠雄
副査	筑波大学助教授　医学博士　磯博康
副査	筑波大学助教授　理学博士　石井哲郎

論文の内容の要旨

（目的）

砒素は自然界に広範に存在し，地下水汚染等により慢性中毒を引き起こす。慢性砒素中毒の事例として循環器疾患その他が知られているが，その発症機序は未だ不明である。また，実験動物や培養細胞に砒素を曝露すると酸化的ストレスが誘発されるが，その機序も明らかにされていない。一方，体内で産生される一酸化窒素（NO）には血管弛緩等の作用があるが，慢性砒素中毒の症状とNO産生抑制時の症状に類似性が認められる。本研究は，「慢性砒素中毒で生じる循環疾患の一因は体内NO産生低下による」という作業仮説のもとに，1）砒素汚染地域の住民の体内砒素濃度とNOおよび酸化的ストレスとの関係，2）ヒト血管内皮細胞のNO合成酵素（eNOS）活性に及ぼす砒素化合物の直接効果，3）砒素代謝がヒトに類似のウサギにおける砒素慢性摂取によるNO産生低下の機序の解明を目的として行った。

（対象と方法）

①フィールド調査：被験者は，中国内蒙古自治区五原県に住む慢性砒素曝露患者33名（男性21名，女性12名）と対照の10名（男女各5名）である。血漿中NO濃度は，NO_3^-とNO_2^-の総量として算定した。砒素濃度は，超低温捕集一還元気化原子吸光光度法で行った。②eNOS活性への砒素の効果：培養したヒト臍帯静脈血管の内皮細胞から得られたeNOSの活性は，[^{3}H] アルギニンからNOと等モル産生される [^{3}H] シトルリンの量を基に算定した。③ウサギの砒素曝露実験：ウサギに5価無機砒素（5mg/L）を18週間摂取させた。血中の脂質過酸化物（LPO）量，尿中の過酸化水素量および組織中のテトラヒドビオプテリン（BH_4）量を，既法に従って測定した。組織中のアルギニン等の量は，新たに開発したHPLC同時分析法により決定した。血管収縮・弛緩の指標として，リング状に切り出した大動脈標本の張力を測定した。スーパーオキサイド産生はそのTiron反応物としてESRで測定した。組織中GTP-CHI遺伝子発現の判定は，ノーザン・ブロット分析で行った。

（結果と考察）

①フィールド調査対象地域の井戸水中の砒素の化学形態は，85％が5価の無機砒素であった。砒素曝露群および対照群における井戸水中の砒素濃度は，それぞれ0.41および0.02mg/Lであった。血中の全砒素濃度は，砒素暴

露群では平均42.1 μ Mで，対照群の約6倍であった。②砒素暴露群の血中NO濃度は対照群の約半分に減少し，LPO濃度は有意に増加した。この結果は，慢性砒素曝露がヒトの体内NO産生を低下させ，酸化的ストレスを誘導することを示唆する。また，このNO濃度の減少とLPO濃度の増加は，血中砒素濃度と有意な相関があり，体内NO産生量が慢性砒素曝露のバイオマーカーになり得ることが示された。③eNOS活性は無機砒素により有意に阻害された。これは，砒素によるeNOSの直接的阻害が，砒素曝露群におけるNO濃度減少の原因の1つであることを示唆する。④5価の無機砒素を18週間曝露したウサギでは，血中NO代謝物が有意に減少し，尿中過酸化水素は有意に増加した。⑤砒素曝露群では，カルシウム・イオノフォアA23187による大動脈リングのeNOS依存性弛緩が抑制される傾向があり，ニトロプルシド・ナトリウムによる弛緩も有意に抑制された。砒素曝露群では，eNOS機能障害を介する酸化的ストレスが誘発されたものと考えられる。⑥砒素曝露群の大動脈リングでは，A23187投与直後に一過性の収縮が起り，スーパーオキサイド産生も見られた。この結果は，上記の考えを支持するものである。⑦砒素暴露群では，肝臓のBH_4濃度が，有意に減少したが，BH_4合成の律速酵素であるGTP-CHIの遺伝子の発現に変化は見られなかった。よって，このBH_4産生の低下は，GTP-CHI遺伝子のダウンレギュレーションを伴わない機序で生じていることが示唆された。⑧心臓のアルギニン量は，両群間で有意差がなかった。

審査の結果の要旨

本研究は，5価の無機砒素を慢性的に摂取すると，eNOS機能障害に起因する体内のNO産生が低下し，その結果，NO依存性血管調節の破錠や酸化的ストレスが誘発されることを示した。また，このeNOS機能障害の原因として，砒素によるeNOSの直接的阻害と，eNOSの補酵素であるBH_4の産生低下が指摘された。さらに，このBH_4の産性低下は，その律速酵素の障害によるものではないことが示された。この結果は，慢性砒素中毒における循環器系症状の発現機序の解明を目指す研究の今後の方向性を示すとともに，臨床的にも治療法開発への新たな道を開くもので，高く評価できる。

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。