

氏 名 (本 籍)	かとうのりゆき 加 藤 徳 之 (茨 城 県)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 2918 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	脳虚血再灌流障害からの脳保護に関する研究
主 査	筑波大学教授 医学博士 岡 戸 信 男
副 査	筑波大学助教授 博士 (医学) 桜 井 武
副 査	筑波大学助教授 医学博士 宮 部 雅 幸
副 査	筑波大学講師 医学博士 大 塚 定 徳

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

虚血性脳血管障害に対する治療として可及的速やかな血流再開が挙げられるが、近年血流再開による二次的障害（再灌流障害）の存在が注目されている。血流途絶による直接障害に対しては、近年血管内手術手技を用いた血栓溶解療法による早期血流再開が可能となった。しかし再灌流障害を防ぐ方法は今だ明らかではない。再灌流時にはフリーラジカルが多量に発生し細胞障害を引き起こすと考えられている。

フリーラジカルの中でもヒドロキシルラジカルの細胞障害性が強く、細胞膜脂質二重鎖における脂質過酸化を惹起し細胞死を誘導する。本研究では虚血再灌流時におけるヒドロキシルラジカル産生に着目し、意図した時間での再灌流が可能なラット中大脳動脈閉塞モデルを用いて、虚血再灌流中のヒドロキシルラジカルの産生の評価並びにヒドロキシルラジカル捕捉作用のある薬剤、ビタミンの投与による脳保護効果の検討を試みた。

### (対象と方法)

雄生 250 - 350g (約 8 週令) Sprague-Dawley ラットを用いてナイロン糸による中大脳動脈閉塞モデルを作成した。虚血再灌流中のヒドロキシルラジカルの定量として、サリチル酸トラップを用いた微量透析法でラット線状体部の細胞外液を採取し、サリチル酸とヒドロキシルラジカルの反応物である 2,3-dihydroxybenzoic acid (DHBA) を定量した (n = 10)。

虚血 1 時間、再灌流 4 時間ならびに 24 時間を負荷の後、ラットを断頭して脳組織を摘出し、以下の 2 項目を検討した。過酸化脂質の評価としてチオバルビツール酸との反応で生じる赤色反応物質 (thiobarbituric acid reactive substances: TBARS) を比色分析した。また脳梗塞体積の評価として塩化テトラゾリウム (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride: TTC) を用い染色を行い、画像透析により脳梗塞体積を測定した。ヒドロキシルラジカル捕捉作用のある 4-hydroxyl-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl (Tempol) (n = 16)、ビタミン C (n = 10)、ビタミン E (n = 14)、ならびにビタミン C と E の合剤である L-ascorbic acid 2- [3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2- (4,8,12-trimethyltridecyl) - 2H-1-benzopyran-6-yl-hydrogen Phosphate] potassium salt (EPC-K1) (n = 18) を投与し、生理食塩水投与群 (n = 18) と TBARS、脳梗塞体積を比較検討した。

## (結果)

虚血周辺部の2,3-DHBA値は虚血中から上昇し、再灌流により一時低下し、再灌流から30-45分、1時間30分に虚血時を上回る産生が確認された。再灌流早期の2,3-DHBA値は虚血中心部と比べ有意に高値を示した。

Tempolの再灌流時投与は再灌流4時間後で生理食塩水投与群と比べ有意にTBARSを減少させ、脳梗塞体積を縮小した。ビタミンC、EPC-K1の再灌流時投与が再灌流24時間後のTBARS、脳梗塞体積を有意に減少させた。本実験では再灌流24時間でのビタミンEの能梗塞縮小効果は認められなかった。

## (考察)

2,3-DHBAの定量、TBARSの結果から虚血、再灌流時にはヒドロキシルラジカルの産生が亢進し、脂質過酸化が亢進することが示された。またTempol、ビタミンCならびにEPC-K1の再灌流時投与が脳保護効果を有することが示された。Tempolは生体内半減期が短いため、再灌流の投与が至適時期と考えられた。ビタミンCは生体内でラジカル捕捉したあとのビタミンEラジカルをビタミンEへ再生させる相互反応が知られている。ビタミンEの抗酸化能は強力であり、ビタミンCの脳保護効果は充分量存在する内因性vitamin Eの再生による可能性があると考えられた。本実験からは、EPC-K1はvitamin C単独投与の効果とほぼ同等であったが、正確な効果判定には更なる検討が必要と考えられた。これらヒドロキシルラジカル捕捉剤は臨床における血栓溶解術との併用により、脳梗塞治療効果を増加させる可能性が示唆された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は虚血再灌流時のヒドロキシルラジカルの産生をサリチル酸トラップ法を用いた微小透析法から定量解析し、ヒドロキシルラジカル捕捉剤の脳保護効果を検討したものであり、虚血周辺部における再灌流時のヒドロキシルラジカルの産生亢進、ならびにヒドロキシルラジカル捕捉剤の脂質過酸化抑制、能梗塞体積縮小効果を示したものである。この成果を基に、今後、再灌流障害の病態解明ならびに脳梗塞治療におけるラジカル捕捉剤の臨床応用に向けて更なる進展が期待される優れた研究であり、学位論文として高く評価できる。

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。