

主論文の要旨

**Reduced function of endothelial nitric oxide and
hyperpolarization in artery grafts with poor runoff**

〔 低血流動脈グラフトにおける一酸化窒素と
内皮由来過分極因子の機能低下 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態外科学講座 血管外科学分野

(指導：古森 公浩 教授)

榊原 昌志

【緒言】

内皮細胞は、一酸化窒素 (Nitric Oxide : NO) と内皮由来過分極因子 (endothelium-derived hyperpolarizing factor : EDHF) の生成・遊離により血管トーンを調整している。低血流下の静脈グラフトではこれらの因子の機能が消失し、その結果として高度な内膜肥厚を来す。しかし、低血流条件下の動脈グラフトにおけるこれらの内皮由来血管弛緩因子の機能変化と内膜肥厚に関する詳細な検討はない。今回、ウサギ自家動脈の正常血流グラフトモデルと低血流グラフトモデルを用いて、これらの点について検討した。

【対象及び方法】

雄の日本白色種ウサギ (2.5-3.0kg) を使用した。全身麻酔下で頸部を切開し、2.5cm の長さの右総頸動脈を摘出した。内腔をヘパリン化生理食塩水で洗浄後、速やかに元の部位に戻し、端々吻合を行うことにより正常血流の非結紮総頸動脈グラフト (nonoccluded graft) モデルを作成した。また、低血流総頸動脈グラフト (poor runoff graft) モデルは、nonoccluded graft モデルの外頸動脈の末梢の 1 分枝のみを温存し他の分枝を結紮することにより作成した。

術後 28 日目に、両モデルウサギのグラフト血流量、平均血圧、脈拍を測定した。Elastica van Gieson 染色により、摘出グラフトの血管壁厚ならびに血管内腔径を評価した。グラフト血管の内皮機能は、NO 合成阻害薬である L-NNA の非存在および存在下でのアセチルコリン (ACh) による内皮依存性弛緩反応を測定することにより検討した。EDHF の機能評価は、内皮細胞の受容体刺激薬である ACh と Substance P、および非受容体刺激薬である A23187 による平滑筋細胞の膜過分極反応により検討した。

【結果】

Nonoccluded graft と poor runoff graft の血流はそれぞれ、 24.2 ± 3.0 mL/min、 2.8 ± 1.8 mL/min であり poor runoff graft の血流は有意に減少した ($n=5$ 、 $P<.001$ 、Figure 1)。平均血圧は 74.6 ± 5.1 mmHg、 76.8 ± 11.7 mmHg ($n=5$ 、 $P=.71$)、脈拍は 130 ± 14 bpm、 148 ± 39 bpm ($n=5$ 、 $P=.355$) でありいずれも有意差は認めなかった。グラフト血管の内腔径は、nonoccluded graft が poor runoff graft より有意に大きかった ($n=7$ 、 0.56 ± 0.28 mm² vs 0.29 ± 0.09 mm²; $P<.05$; Figure 2B-d)。両グラフトで顕著な内膜肥厚は認められず、中膜の厚さや細胞数も有意な差を認めなかった (Figure 2B)。

ACh による内皮依存性弛緩反応は、L-NNA 非存在および存在下ともに、nonoccluded graft と比較して poor runoff graft では有意に低下した (Figure 3、4)。

ACh および Substance P による平滑筋細胞の過分極は、nonoccluded graft と比較して、poor runoff graft で有意に低下した。一方、A23187 による平滑筋細胞の過分極は両グラフト間で差を認めなかった (Figure 5B)。

【考察】

本研究において、正常血流動脈グラフトに比較して低血流動脈グラフトでは、受容体活性化による NO と EDHF の機能がともに半減したが、両グラフトともに明らかな内膜肥厚過形成は認められなかった。この結果は、低血流動脈グラフトに残存している NO と EDHF の機能が、低血流動脈グラフトの内膜肥厚を抑制するのに十分である可能性を示唆している。

正常血流動脈グラフトと比較して低血流動脈グラフトでは、ACh による弛緩反応が NO 合成阻害薬の非存在および存在下においてともに低下していた。このことより、低血流動脈グラフトでは受容体活性化による NO 放出が低下する可能性が示唆された。また、正常血流動脈グラフトと比較して低血流動脈グラフトでの内皮細胞の受容体活性化薬である ACh および Substance P による平滑筋細胞の過分極が減少した (EDHF の機能低下)。一方、内皮細胞の非受容体活性化薬である A23187 による平滑筋細胞の過分極は、正常血流動脈グラフトと比較して低血流動脈グラフトで同程度であった。このことより、低血流動脈グラフトでは、内皮細胞の受容体活性化による Ca^{2+} 動員機構が選択的に障害されることにより EDHF の機能障害が発生している可能性が示唆された。重要なことは、低血流動脈グラフトでは NO と EDHF の機能が半減するにもかかわらず、内膜肥厚が発生しなかったことである。

これまでの研究によって我々は、低血流静脈グラフトでは NO と EDHF の反応が著しく低下または消失するとともに、高度の内膜肥厚が発生することを明らかにしてきた。今回の研究で我々は、低血流動脈グラフトでは NO と EDHF の機能は半減するが、残存内皮由来弛緩因子は過剰な内膜肥厚を抑制する可能性を明らかにした。冠動脈バイパス術において動脈グラフトは、静脈グラフトと比較し良好な開存率をしめすことが報告されている。本研究結果は、低血流動脈グラフトでは NO や EDHF の機能が残存することによりグラフトの内膜肥厚が抑制され、良好な開存率をもたらす可能性を示唆している。

【結論】

本研究は、低血流条件下で総頸動脈グラフトのウサギモデルを開発することにより、血管リモデリングにおける NO と EDHF の機能に対する外科手術の影響を報告した最初の研究である。低血流動脈グラフトでは、受容体刺激による内皮細胞の Ca^{2+} 動員機構が障害されることにより NO と EDHF の機能が半減したが、明らかな内膜肥厚は認められなかった。これらの結果は、NO と EDHF の機能が完全に失われ著明な内膜肥厚を発生する低血流静脈グラフトの場合とは対照的である。これらの結果から、低血流動脈グラフトでは NO と EDHF の機能が部分的に維持され、そのことにより内膜肥厚が抑制され、グラフト開存率の向上に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。