

205

急性炎症における一酸化窒素と酸化的ストレス障害

岩田全広¹⁾・高木健次²⁾・堀 紀代美³⁾・野々垣 聡⁴⁾
鈴木重行²⁾

- 1) 名古屋大学大学院医学系研究科
- 2) 名古屋大学医学部保健学科
- 3) 名古屋大学医学部付属病院リハビリテーション科
- 4) 愛知県青い鳥医療福祉センター リハビリテーション科

key words

一酸化窒素・炎症・ペルオキシニトライト

【はじめに】我々は先行研究において急性炎症時に産生される一酸化窒素(NO)を阻害すると、炎症病巣への滲出細胞数や滲出液量が有意に増加することを示し、この反応には活性酸素(O₂⁻)が関与している可能性が示唆された。しかしNOとO₂⁻がいかに炎症反応を修飾しているかについては未だ不明な点が多い。そこで今回我々は急性炎症におけるNOの作用を、NOとO₂⁻が反応して生成されるペルオキシニトライト(ONOO⁻)との関連から検討した。

【対象と方法】実験動物はWistar系雄性ラット(150±20g, n=35)を使用した。胸膜炎の惹起には、1%カラゲニン(Cg; 0.15 ml)を右胸腔内にエーテル麻酔下に投与した(対照群)。またCg投与直前にNOS阻害剤(1) AE-ITU(選択的iNOS阻害剤; 1, 10 mg/kg)(2) L-NNA(非選択的NOS阻害剤; 0.1, 1 mg/kg)を同胸腔内に投与した。Cg投与から6h経過後エーテル麻酔下にラットを致死させ、胸腔内の滲出液量、滲出液中の細胞数をカウントした。その後、滲出液中のNO濃度、ONOO⁻濃度を測定した。

【結果】対照群の滲出液量と細胞数は1.16±0.09 mlと48.5±2×10⁶個であった。一方、AE-ITU投与群は滲出液量1.73±0.13 ml, 細胞数99.8±13×10⁶個と対照群に比べて両者とも有意に増加(p<0.01)し、またL-NNA投与群においても同様に滲出液量1.62±0.08 ml, 細胞数92.8±6×10⁶個と有意に増加(p<0.01)した。NO濃度は対照群14.5±1.0 μMであったが、AE-ITU及びL-NNA投与群ではそれぞれ5.3±1.0 μM, 7.3±1.0 μMと有意に減少(p<0.01)した。ONOO⁻は対照群49.1±2.9 nM/min/10⁶ cellsに対し、AE-ITU及びL-NNA投与群ではそれぞれ82.7±7.3 nM/min/10⁶ cells, 74.7±4.2 nM/min/10⁶ cellsと有意に増加(p<0.01)した。

【考察】Cg胸膜炎ラットにおけるNOSの阻害は、ONOO⁻産生を増大させるとともに炎症の増悪を引き起こした。FreemanらはNOがO₂⁻産生を下回る場合、NOによる細胞保護作用は発現されず、むしろONOO⁻の産生を介した細胞傷害をもたらすことを報告した。この仮説が正しいとすれば、今回の結果においてもNOとO₂⁻との相互作用により生じたONOO⁻が、炎症細胞の組織内浸潤を促進させることにより炎症を増悪させたと推測される。

103

206

廃用性萎縮骨格筋におけるストレス蛋白質発現の解析

鍋田千賀¹⁾²⁾・鳥越俊彦(MD)²⁾・中西勝也(MD)²⁾
上口権二郎(MD)²⁾・大谷静治³⁾²⁾・向井康詞¹⁾・乾 公美¹⁾
佐藤昇志(MD)²⁾³⁾

- 1) 札幌医科大学大学院保健医療学研究科
- 2) 札幌医科大学病理学第一講座
- 3) 札幌医科大学細胞組織学

key words

廃用性萎縮骨格筋・ストレス蛋白質・ラット

【目的】臨床において、長期臥床や不動化で生じた廃用性筋萎縮はリハビリテーション阻害因子の1つであり、その予防は重要な課題である。廃用性筋萎縮の発生メカニズムとして、初期の段階ではタンパク質合成が低下し、その後分解が亢進し筋萎縮が起こるといわれている。我々は不動という骨格筋機能の制限が筋細胞内のストレスタンパク質の発現に影響を与えているのではないかと考え、ラットヒラメ筋の廃用性筋萎縮モデルを作成し、各種ストレス蛋白質とその関連抗原の発現について検討した。

【対象と方法】13週齢のWistar系ラットを1)後肢懸垂法での飼育と、2)通常飼育に分けて2週間飼育した。麻酔下で摘出したヒラメ筋の筋組織からタンパク質を抽出し、各種ストレス蛋白質の発現をWestern blottingにて解析した。

【結果と考察】廃用萎縮筋ではmyosin heavy chain fast typeの増加とslow typeの減少が観察され、従来報告されている廃用性筋萎縮に特徴的な構造蛋白質の変化が確認された。各種ストレス蛋白質の発現を解析した結果、ポリユビキチン化蛋白質の顕著な増加が観察され、廃用萎縮筋におけるユビキチン/プロテアソーム蛋白質分解系の活性亢進が示唆された。HSP70の発現レベルに差は認められなかったが、HSP90, HSP110, GRP78の発現は増加し、BAG-3とHSP27には分子量の増加が観察され、リン酸化を受けている可能性が示唆された。廃用萎縮筋には、細胞質と小胞体のいずれにもストレス応答が生じていることが観察された。今後、筋萎縮の分子病理学的機序の解明を通して、筋萎縮を予防する有効な治療法の開発に寄与したい。