

## 論文審査の結果の要旨

# The effects of xanthine oxidoreductase inhibitors on oxidative stress markers following global brain ischemia reperfusion injury in C57BL/6 mice

全脳虚血再灌流モデルマウスにおけるキサンチン酸化還元酵素阻害薬による脳保護効果に対する検討

日本医科大学大学院医学研究科 侵襲生体管理学  
大学院生 山口昌紘

PLOS ONE (DOI:10.1371/journal.pone.0133980) 2015年7月31日掲載

Xanthine Oxidoreductase (XOR)阻害薬は活性酸素産生を抑制することで組織保護効果を示す報告がある。本研究に先立つ研究において、我々は海馬領域での脳保護効果を病理組織学的に検討したが、保護効果を確認できなかった。申請者はこの研究を進め、マウスの3-vessel occlusionモデル虚血再灌流組織で種々の酸化ストレスマーカー検出とWestern blotによる3-Nitrotyrosine, 4-HNE経時的変化、組織免疫染色による局在の検討、Western blotによる3-Nitrotyrosine, 4-HNEの半定量、RT-PCRによるNFκB系のIL-1β, TNF-α, ICAM-1, MMP-9とXanthine Dehydrogenase(XDH)のmRNAの半定量を用いXOR阻害薬投与による抑制効果の検討を行った。

Western blotによる3-Nitrotyrosine, 4-HNE経時的変化の観察では、再灌流後徐々に3-Nitrotyrosine (45 kDa), 4-HNE (43 kDa)において有意にシグナルが増強した。また、事後比較検定において再灌流8時間後、96時間後ではcontrolと比較して有意にシグナルの増強を認めた。組織免疫染色による検討では再灌流8時間後でCA1, CA2, 運動野皮質の神経細胞において3-Nitrotyrosine, 4-HNE, NFκBの染色を強く認めた。また、各領域の血管内皮細胞にも染色が認められた。再灌流24時間後、96時間後においても同様な結果であった。以上の結果を用い、プラセボとXOR阻害薬であるアロプリノール、フェブキソスタット投与の効果を検討した。Western blotの検討ではcontrol群に比しプラセボ群において有意にシグナルの増強を認めたが、プラセボ、アロプリノール、フェブキソスタットの3群間で有意差を認めなかった。RT-PCRの検討では、controlと比較してプラセボ群において酸化ストレス応答遺伝子mRNA量の増加を有意に認めた。またプラセボ群と比較してアロプリノール群においてmRNA量を有意に抑制した。フェブキソスタット群はプラセボ群と比較して有意差を認めなかった。

脳組織ではXORが活性酸素生成源であるかは未だ議論されている。我々の過去の報告では脳組織中のXORの活性は非常に低く、虚血再灌流で誘導される割合は無視できる量であった。今回の検討でも脳組織でのXOR活性酸素生成は軽微であると考えられた。フェブキソスタットはアロプリノールに比べ優れたXOR阻害作用を持つにもかかわらず、我々のRT-PCRの検討では神経保護効果はアロプリノールより限定的であった。理由として、フェブキソスタットは血液脳関門を通過しないが、アロプリノールは通過すること、アロプリノールはXORを介さないラジカルスカベンジャー効果を有することが考えられた。以上より、アロプリノールの神経保護作用は、XOR阻害ではなく、直接のスカベンジャー作用によるものと考察した。二次審査では、今回使用した酸化ストレスマーカーの経時的検討の妥当性について、臨床応用への展望、3-vessel occlusionモデルの虚血時間、評価の時間、直接のスカベンジャー効果についての考察などに関して議論され、いずれも的確な回答を得た。本研究は、側副血行路の発達しているマウスでの全脳虚血モデルでの検討である点、未だ議論されているところがある脳組織におけるXORと活性酸素の関係を現在比較的報告の少ないフェブキソスタットを使用し検討をした研究であり、学位論文として価値のあるものと判定した。