

|            |   |
|------------|---|
| 氏名         | 浅野 伸将   |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士（医学）  |
| 学位記番号      | 医工農博乙 第10号  |
| 学位授与年月日    | 令和2年9月28日   |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第2項該当  |
| 専攻名        | 博士課程医学専攻  |
| 学位論文題名     | Effects of $\beta$ 1-adrenergic receptor blockade on the cerebral microcirculation in the normal state and during global brain ischemia/reperfusion injury in rabbits<br>( $\beta$ 1 アドレナリン受容体遮断が正常な脳血管と虚血再灌流後の脳血管に与える影響) |
| 論文審査委員     | 委員長 教授 木内 博之<br>委員 准教授 新藤 和雅<br>委員 講師 篠崎 陽一   |

## 学位論文内容の要旨

### (研究の目的)

虚血性脳障害は、世界中で多くの人が罹患し主要な死亡原因となっている。様々な薬が虚血性脳障害に対し神経保護作用を有するか研究されており、動物実験モデルを使用した研究では、 $\beta$ 1 アドレナリン受容体遮断薬が脳血管系に潜在的な保護効果を持つことが示唆されている。作用機序として、アポトーシスや炎症反応の抑制などの神経保護効果にはいくつかのメカニズムが提案されているが、正確なメカニズムは明らかになっていない。

$\beta$ 1 アドレナリン受容体遮断の薬理作用が、虚血性脳障害に対する治療となり得る可能性があるにもかかわらず、脳微小血管系に対して直接的にどのような影響を及ぼすか研究されていない。この研究の目的は、選択的 $\beta$ 1アドレナリン受容体遮断薬であるランジオロールが正常状態と虚血再灌流状態の脳血管に対しどのような影響を与えるか、クラニアルウインドウ法を用いて調べることである。

### (方法)

日本シロウサギを用いた。耳に静脈ラインを確保し、静脈麻酔で導入、維持した。気管切開後挿管し、人工呼吸器で血中二酸化炭素分圧が35~45mmHgになるように調節した。

ウサギを腹臥位にして頭部を切開し、マイクロモーターで開頭した後、硬膜を切除し脳血管を露出した後クラニアルウインドウを作成した。

脳虚血モデルは腕頭動脈、左総頸動脈、左鎖骨下動脈を露出し15分遮断することで作成した。  
実験1： $10^{-14}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-4}$  mol/L のランジオロールをクラニアルウインドウに灌流し正常の脳血管に対してどのように作用するのか調べた。ランジオロールを投与する直前の血管径

をベースラインとした。ランジオロール投与後 5 分経過したところで血管径を測定した。その後脳灌流液を 30 分投与し、異なる濃度のランジオロールを投与することを繰り返した。

実験 2: ランジオロールが、脳虚血再灌流状態の脳血管に対してどのように作用するのか調べた。 $10^{-6}$  mol/L のランジオロール群と、脳灌流液群 (コントロール) で比較した。血管径の計測は、遮断直前、遮断開始後 10 分、遮断解除後 5 分、10 分、20 分、40 分、60 分、80 分、100 分、120 分で行った。

#### (結果)

実験 1:  $10^{-14}$  ~  $10^{-10}$  mol/L のランジオロールは脳血管径に影響を与えなかった。 $10^{-8}$  ~  $10^{-4}$  mol/L のランジオロールは脳血管径を拡張させた。(  $10^{-8}$  mol/L:  $4.3 \pm 3.4\%$ ,  $10^{-6}$  mol/L:  $8.0 \pm 5.8\%$ ,  $10^{-4}$  mol/L:  $7.3 \pm 4.0\%$ )

実験 2: ランジオロール群では脳虚血再灌流状態で脳血管径を拡張させた。(ischemia:  $30.6 \pm 38.6\%$ , 5min:  $47.3 \pm 42.2\%$ , 10min:  $47.8 \pm 34.2\%$ , 20min:  $38.0 \pm 39.0\%$ , 40min:  $6.6 \pm 23.0\%$ , 60min:  $12.8 \pm 29.7\%$ , 80min:  $2.5 \pm 24.3\%$ , 100min:  $3.1 \pm 24.9\%$ ) コントロール群では虚血中脳血管が収縮し、再灌流直後はベースラインに回復し 120 分かけて徐々に収縮した。

#### (考察)

この研究で、ランジオロールは特に虚血再灌流状態の脳血管に対して血管拡張作用を有することが示された。これはノルエピネフリンの放出抑制によるもの、内皮細胞由来の過分極の増強によるものの可能性がある。細動脈は単一上皮層の内膜、平滑筋層の中膜、結合組織層の外膜で構成されている。外膜には神経終末が含まれ、交感神経による血管の収縮拡張調節に重要な役割を果たしていること、微小血管はカテコラミン誘発性血管収縮の影響を受けやすいこと、 $\beta 1$  アドレナリン受容体遮断がシナプス前  $\beta 1$  アドレナリン受容体を阻害することによりノルエピネフリンの放出を低下させることが報告されている。

内皮細胞には一酸化窒素とは独立した内皮由来過分極による血管拡張機序がある。血管内皮細胞には中間コンダクタンス  $\text{Ca}^{2+}$  活性化  $\text{K}^{+}$  チャネル (IKCa) が含まれており、 $\beta 1$  受容体の活性化により血管内皮 IKCa 過分極と血管拡張を抑制することが報告されている。

$\beta 1$  受容体の遮断により、ノルエピネフリンの放出の低下、IKCa の過分極の低下により血管拡張が引き起こされたと仮定することができる。

#### (結語)

$\beta 1$  アドレナリン受容体遮断により、虚血再灌流後に細動脈の著しい血管拡張が誘発された。対照的に、正常状態では細動脈のわずかな拡張が観察された。虚血性脳微小血管は、正常の微小血管よりも  $\beta 1$  アドレナリン受容体の選択的遮断により誘導される血管拡張作用の影響を受けやすいことを示した。

## 論文審査結果の要旨

審査対象論文: Effect of  $\beta 1$ -adrenergic receptor blockade on the cerebral microcirculation in the normal state and during global brain ischemia/reperfusion injury in rabbits. ( $\beta$

## 1 アドレナリン受容体遮断が正常な脳血管と虚血再灌流後の脳血管に与える影響

本研究では、選択的 $\beta_1$  アドレナリン受容体遮断薬であるランジオロールが正常状態と虚血再灌流状態の脳血管に対してどのような影響をあたえるか、ウサギのクラニアルウインドウ法を用いて検討したものである。その結果、アドレナリン遮断により、正常状態では軽度に認められた脳表細動脈の拡張が、虚血再灌流後において著明に誘発されることを明らかにした

この論文について以下の審査が行われた。

**Q1.** 脳虚血再灌流後の血管拡張作用については、ノルエピネフリンを介した作用機序も関与している可能性を考えているようであるが、これまでランジオロール投与後のノルエピネフリン濃度については、どの程度解明されているのか？

→これまで、それについての論文は渉猟できず、検討はまったくなされていないと考えている。

**Q2.** 今回の実験では細動脈に対する作用を検証している。このような血管の場合、ランジオロールが作用する可能性のある部位はどこか？

→内皮細胞だけでなく、周囲の血管平滑筋にも作用して弛緩作用を誘導している可能性があります。受容体の発現や作用の有無など今後の検討課題としたい。

**Q3.** 実験2で、虚血再灌流後にランジオロールの効果が著明に大きくなるが、この作用に関して想定されるメカニズムはあるか？

→本文中の考察にもあるように、交感神経刺激は細動脈の収縮を誘導する事から、再灌流時に過剰な交感神経終末からのノルエピネフリン放出による作用に対して拮抗している可能性が推察される。虚血中ならびに虚血再灌流の初期に拡張してるので虚血中に発生しているフリーラジカルやサイトカインの効果かもしれない。脳保護効果を解明するうえで、重要な点であり、今後も検討を進めていきたい。

**Q4.** 外膜のある血管を観察しており、外膜の中の一部の交感神経終末が虚血により障害されて、脱神経過敏の状態が作られて、そこに $\beta$ ブロッカー投与されたので、拡張の程度が、よりいっそう強調されて観察された可能性はどうか？

→その可能性もあると思う。ノルエピネフリンの局所濃度が計れば、その点が明らかとなると思われるので、これについても今後、検討を進めていきたい。

本研究者は、このように指摘された点全てについて適切な回答、考察を行い、今後の研究の展望も含め、本研究が博士論文の資格を十分に有するものであると全員が一致して判定した。