

動脈管血管トーンスにおける一酸化窒素の役割とその制御

課題番号 14570715

平成 14 年度～ 16 年度科学研究費補助金
(基盤研究(C)(2))研究成果報告書

平成 17 年 5 月

研究代表者 梶野浩樹
(旭川医科大学医学部講師)

1. 概要

本研究の目的は、動脈管における一酸化窒素 (NO) 産生の制御因子を探り、動脈管の開存・閉鎖のコントロールを容易にすることにより、動脈管開存症を発症する未熟児や動脈管依存性心疾患をもつ新生児の生命予後を改善することにあつた。

仮説「胎児期の高濃度の血中 estrogen は NO を介して胎児の動脈管を開存させる機転に寄与している。また生後動脈管が閉鎖する機転にもその estrogen の供給が絶たれたことが関与している」に対し、in vivo と in vitro の実験を施行した。まず、estrogen receptor blocker の tamoxifen と ICI 182780、cyclooxygenase inhibitor の indomethacin、NOS inhibitor の L-NAME を妊娠ラットに皮下投与し、その後胎仔を摘出・瞬間凍結したのち組織切片を作成し、切片上の肺動脈と動脈管の血管径を比較し動脈管収縮の有無を調べた。indomethacin、L-NAME は予想通り動脈管を収縮させたが、estrogen receptor blocker である tamoxifen と ICI 182780 は有意な収縮をさせなかった。また、In vitro の実験で上記の薬剤を用いてラット胎仔の動脈管の等尺性張力の測定を試みたが、有用な情報を得ることができなかった。(結論) ラット動脈管において estrogen を介した NO の作用を証明することはできなかった。

仮説「未熟児において、indomethacin に反応する動脈管と反応しない動脈管では、ecNOS gene の polymorphism のパターンに差がある」に対し、正常新生児と動脈管開存を発症した未熟児における ecNOS gene Exon 7 の polymorphism、894 G/T; Glu296Asp の同定を行った。PCR で増幅後 direct sequence によって解析したが、症例数が不足しているためか、両群間に同遺伝子の polymorphism のパターンに有意差は認められていない。(結論) 症例数を増やすと有意差が認められる可能性があると考え、今後も検討を続ける。

国外研究協力者の R.I.Clyman 教授 (アメリカ合衆国) と協力し、NO の役割の検討に、やはり動脈管を拡張するプロスタグランジン E とそのリセプターサブタイプ (EP2,EP3,EP4) の役割に関する検討も加えて、後述の研究発表を行った。

2. 研究組織

研究代表者 : 梶野浩樹 (旭川医科大学医学部講師)

研究分担者 : 津田尚也 (旭川医科大学医学部助手)

研究分担者 : 藤枝憲二 (旭川医科大学医学部教授)

[研究協力者 : Ronald I. Clyman (University of California, San Francisco, USA)]

3. 交付決定額（配分額）

	直接経費	間接経費	合計
平成 14 年度	1,700,000	0	1,700,000
平成 15 年度	800,000	0	800,000
平成 16 年度	900,000	0	900,000
総計	3,400,000	0	3,400,000

4. 研究発表

ア. 学会誌

1. Kajino H, Goldbarg S, Roman C, Liu BM, Mauray F, Chen YQ, Takahashi Y, Koch CJ, Clyman RI. Vasa vasorum hypoperfusion is responsible for medial hypoxia and anatomic remodeling in the newborn lamb ductus arteriosus *Pediatr Res* 2002;51:228-235.

2. 梶野浩樹, Ronald I. Clyman 周産期における動脈管の制御 *日本小児循環器学会雑誌* 2002;18(3):364-371

3. Kajino H, Roman C, Clyman RI. Renal Effects of Cyclooxygenase-2 Inhibition in Fetal Lambs. *Biol Neonate* 2002;82(4):257-262

4. Waleh N*, Kajino H*, Marrache AM, Ginzinger D, Roman C, Seidner SR, Moss TJ, Fouron JC, Vazquez-Tello A, Chemtob S, Clyman RI. (*Both authors have equally contributed to the submitted work.) Prostaglandin E2-mediated relaxation of the ductus arteriosus: effects of gestational age on g protein-coupled receptor expression, signaling, and vasomotor control. *Circulation*. 2004;110(16):2326-32.

5. Kajino H, Taniguchi T, Fujieda K, Ushikubi F, Muramatsu I. An EP4 receptor agonist prevents indomethacin-induced closure of rat ductus arteriosus in vivo. *Pediatr Res*. 2004;56(4):586-90.

イ. 口頭発表

1. Hiroki Kajino, N Waleh, JC Fouron, A Vazquez, S Chemtob, RI Clyman Regulation of prostaglandin(PGE2)-mediated relaxation of the fetal lamb ductus arteiosus. *Pediatric*

Academic Societies' 2003 Annual Meeting (Seattle, May 3-6, 2003)

2. 梶野浩樹、津田尚也、杉本昌也、藤枝憲二、Ronald Clyman 未熟動脈管におけるPGE₂感受性亢進のメカニズム 第10回日本胎児心臓病研究会（奈良、2004年2月13～14日）

3. 梶野浩樹、津田尚也、杉本昌也、藤枝憲二 未熟動脈管におけるPGE₂感受性亢進のメカニズム 第40回日本小児循環器学会総会（東京、2004年6月30日～7月2日）

4. 梶野浩樹 ランチョンセミナー：動脈管におけるプロスタグランディン受容体の役割 第11回日本胎児心臓病研究会（東京、2005年2月11～12日）

ウ. 出版物

1. 梶野浩樹（共著）「赤ちゃんが生まれた時の心臓の話」 こどもクリニック 北海道小児科医会編、p150-151、平成16年

5. 研究成果による工業所有権の出願・所得状況
なし

6. 学会誌掲載論文

以下に示す。