

論 文 内 容 要 旨

Protective effects of (6R)-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin on  
local ischemia/reperfusion-induced  
suppression of reactive hyperemia in rat gingiva

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

抗加齢歯科医学講座 田中 優作

(指 導： 高橋 俊介 准教授)

## 論文内容要旨

酸素や栄養、免疫細胞を含む血液供給は、組織のホメオスタシスの維持に不可欠であり、局所血液循環の制御機構が重要な役割を演じている。一時的な虚血後の再灌流による血流増加、つまり反応性充血 (RH) は、血液供給血管が一時的に閉塞した後の虚血組織に対する血液供給の効率的な血管拡張反応で、代償性循環反応である。液性、筋原性、神経性の因子がRH における血管拡張性制御に関与しているといわれている。

われわれは、一酸化窒素 (NO) がRH のメディエーターであることをイヌの歯肉を用いた研究で報告してきた。これまでにNO とRH との関連性は口腔領域以外の四肢や心臓、脳などの組織や器官で報告されている。NO はNO 合成酵素 (NOS) によりL-アルギニンを基質として産生され、生理作用は血管平滑筋の弛緩だけでなく、抗血小板凝集や神経伝達、免疫反応、アポトーシスにまで及ぶ。

一時的な虚血/再灌流後の RH は代償性循環制御機構であるが、長時間の虚血後に再灌流させると、組織傷害を生じさせる場合がある。これは、虚血/再灌流 (I/R) 傷害と呼ばれ、脳や心臓などの様々な組織で生じることが報告されている。これまでの研究で、このI/R傷害の病態生理学的解析が行われてきた。現在では活性酸素種とりわけスーパーオキシドアニオン ( $O_2^{\cdot-}$ ) がI/R 傷害に重要な役割を担っていると考えられている。しかし、口腔領域でのI/R 傷害については解明されておらず、歯肉の局所循環制御に対するこの傷害の影響についても不明である。そのため、本研究の目的は、局所循環の重要なメディエーターと考えられているNO の歯肉での循環制御における役割を解明すること、および、歯肉の循環制御に対するI/R の影響を明らかにすることであった。これらの目的を達成するため、以下の実験計画を立案し、遂行した。1) ラットの歯肉のRH におけるNO の役割を薬理的に検討した。2) NO が関連する歯肉循環制御に対するI/R の影響を検討した。3) I/R による歯周病の予防と治療法について考察を加えた。

レーザードップラー 血流計を用いてラット歯肉RH を解析した。油圧式マイクロマニピュレータに装着した血流測定用プローブ (直径2.0 mm) を用いてラット口蓋歯肉の圧迫と開放を行いRH とI/R を誘発させた。圧迫時間が30 秒から20 分の範囲では、RHが圧迫時間依存的に増加した。この増加は、非選択的NOS 阻害薬の

$N^G$ -nitro-L-arginine-methyl-ester (L-NAME) や 選択的神経型NOS 阻害薬の

7-nitroindazole (7-NI)、そして、NOS の補因子である

(6R)-5, 6, 7, 8-tetrahydro-L-biopterin ( $BH_4$ ) 産生阻害薬の

2, 4-diamino-6-hydroxypyrimidine (DAHP) を投与することで有意に抑制された。しかし、

60 分間圧迫すると、RH が著明に抑制された。この抑制は、 $O_2^{\cdot-}$  消去剤であるスーパーオキシドジスムターゼ (SOD)、NOS の補因子である $BH_4$  とセピアプテリンで有意に抑制された。

また、 $O_2^{\cdot-}$  との反応で発光する2-methyl-6-(4-methoxyphenyl)-3, 7-dihydroimidazo-[1, 2-a]pyrazine-3-one (MCLA) の発光強度はSOD と $BH_4$  で著明に低下したが、セピアプテリンではわずかな低下にとどまった。また、 $BH_4$  の $O_2^{\cdot-}$  消去活性のみ時間依存的に低下した。これら

の結果は、NO 作動性神経により分泌されるNO が、ラット歯肉の局所循環を制御するのに何らかの役割を果たしていることを示唆している。また、このNO に関連する局所循環の制御は、I/R により一時的に抑制された。これは、 $O_2^-$ によりNOS 補因子の $BH_4$  枯渇が生じたことを示している。さらにその結果生じるNOS の抑制によるNO 産生の低下が、この局所循環制御のI/R 処置による一過性の抑制において部分的な役割を演じていることを示唆している。これらのことから、歯肉局所循環におけるRH に果たすNO の役割、さらに歯周病を含むI/Rによる歯肉局所循環障害に対する $BH_4$  の予防的効果が明らかとなった。

以上の事が示唆された。