

ヒト臍帯動脈におけるフリーラジカルの NO 産生障害 に対するメラトニンの抗酸化作用について

Melatonin protects against the free radical-induced impairment of nitric oxide production in the human umbilical artery

高知医科大学産科婦人科学教室

渡辺員支、若槻明彦、岡谷裕二、深谷孝夫

Department of Obstetrics and Gynecology, Kochi Medical School

Kazushi Watanabe, Akihiko Wakatsuki, Yuji Okatani, Takao Fukaya

(目的)我々は、妊娠中毒症妊婦では、フリーラジカルにより血管内皮由来の血管弛緩性物質である Nitric oxide (NO)の産生が障害され、血管の vasospasms を亢進させることを報告してきた。一方、強力な抗酸化作用を有するメラトニンは、フリーラジカルによる vasospasms を抑制することも明らかにしてきた。今回、ヒト臍帯血管を用い、フリーラジカルの NO 産生障害に対し、メラトニンがどのような影響を与えるかについて検討した。(方法)正常正期産より得られた臍帯動脈切片を用い、(1)modified krebs buffer 中で 10 分間インキュベートした後、NO の産生基質の L-Arginine $100\mu\text{M}$ を添加し、10-60 分間インキュベート後、NO の産生量を測定した。NO の濃度は NO_2^- 濃度を HPLC で測定した。(2) H_2O_2 (1,10,100 μM) を前投与し、L-Arginine $100\mu\text{M}$ を添加後、60 分間インキュベートし、 NO_2^- 濃度を測定した。(3) hydroxyl radical の scavenger であるマニトール 50 μM を前投与後、 H_2O_2 10 μM を添加し、60 分間インキュベート後、 NO_2^- 濃度を測定した。(4) メラトニン(20,100,500 μM)を前投与後、 H_2O_2 10 μM を添加し、60 分間インキュベート後、 NO_2^- 濃度を測定した。(結果)(1) NO_2^- の産生は、L-Arginine 添加後、インキュベーションにより増量し、60 分後に最大となった。(図 1)(2) H_2O_2 添加により濃度依存的に NO_2^- 産生は減少した。

(図 2)(3) H_2O_2 による NO_2^- 産生の抑制は、マニトール前投与によりコントロールレベルまで改善し、 NO_2^- 産生障害は、hydroxyl radical によるものと考えられた。(図 3)(4) H_2O_2 による NO_2^- 産生の抑制は、メラトニン前投与により濃度依存的に改善した。(図 4)(考察)以上の成績より、 H_2O_2 投与は hydroxyl radical を発生することにより、臍帯血管内皮由来の NO 産生を障害することが明らかとなった。又、メラトニンの前投与は、hydroxyl radical を scavenge することで内皮の NO 産生障害に抑制的に作用するものものと考えられた。即ち、フリーラジカルによる vasospasms が基本病態である妊娠中毒症に対するメラトニンの抗酸化治療薬としての可能性が考えられた。

(文献)

- 1) Kaku S, M Tanaka, M Muramatsu et al.
Determination of nitrite by high-performance liquid chromatography system with electrochemical detector: Measurement of nitrite oxide synthase activity in rat cerebellum cytosol. Biomed. Chromatogr.1994 8:14-18.
- 2) Okatani Y, K Watanabe, A Wakatsuki et al.
Melatonin inhibits vasospastic action of hydrogen peroxide in human umbilical artery. J. Pineal Res. 1997 22:163-168.

3)Wakatsuki A, Y Okatani, N Ikenoue et al.

Melatonin protects against ischemia and reperfusion-induced oxidative lipid and DNA damage in fetal rat brain.

J.Pineal Res. 1999 26:147-152.

図 1 L-Arginine添加後のNO産生量の経時的变化

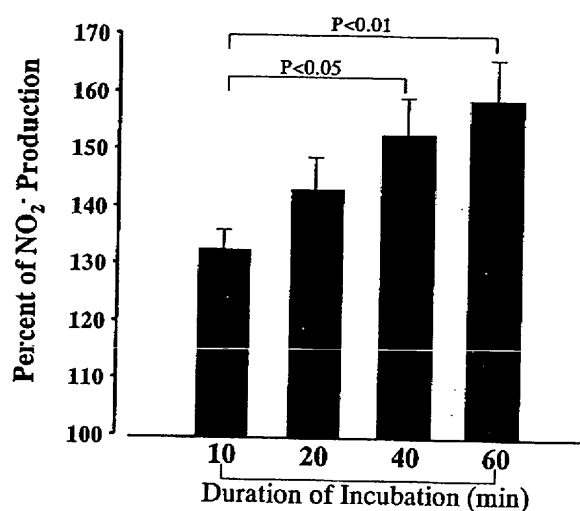


図 3 H₂O₂のNO産生障害に及ぼすマニトールの影響

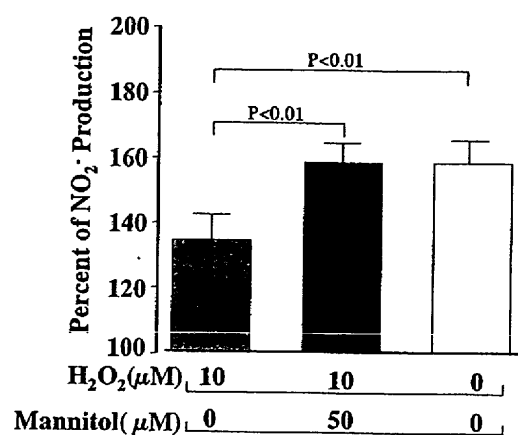


図 2 H₂O₂ (1,10,100μM)前投与によるNO産生量に及ぼす影響 図 4 H₂O₂のNO産生障害に及ぼすメラトニンの影響

