

Title	虚血肺細胞内ATPレベル低下にともなう細胞障害と界面活性物質分泌能の変化 : 気管支肺胞洗浄法による評価
Author(s)	明石, 章則
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.11501/3052213
DOI	10.11501/3052213
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	あ 明	し 石	あ 章	の り 則
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9 3 8 6	号	
学位授与の日付	平	成	2 年 11 月 6 日	
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	虚血肺細胞内ATPレベル低下にともなう細胞障害と界面活性物質分泌能の変化 — 気管支肺胞洗浄法による評価 —			
論文審査委員	(主査) 教授	川島 康生		
	(副査) 教授	杉本 侃	教授	田川 邦夫

論文内容の要旨

〔目的〕

肺はエネルギー代謝回転が遅く、脳、心臓、肝臓などに比べ無酸素障害に対しては抵抗性の強い臓器と一般に考えられている。しかし、無酸素下では細胞内ATPレベルがかなり急速に低下するので、それに伴って種々の細胞障害が起こることが推察される。本研究は、細胞内ATPレベルの変動を基礎にして、気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid : BALF) 中の界面活性物質及び細胞内局在物質の回収の面から虚血肺の細胞障害について検討した。

〔方法〕

250g 雄性 Sprague-Dawley ラットの摘出肺を、1) 保存前の control 肺 (n=10)、2) 虚脱肺 (n=10)、3) 95%N₂+5%CO₂ 混合ガスで持続的に膨張させた窒素膨張肺 (n=18)、4) 95% room air+5%CO₂ 混合ガスによる空気膨張肺 (n=18) の4群に分け、37℃の保存液中に120分間浸漬保存した。

I. 経時的肺生検。虚血肺組織の adenine nucleotide とプリン代謝物の変化量を検討した。

control 肺 (n=5) は摘出直後に、虚脱肺 (n=5)、窒素膨張肺 (n=6)、空気膨張肺 (n=6) の各群は温虚血120分間、経時的に肺生検を行った。

II. 気管支肺胞洗浄法 (bronchoalveolar lavage : BAL)。BALの手技を使って虚血肺の細胞障害と界面活性物質の虚血性変化を検討した。細胞成分が除去されたBALF中の液性成分である dipalmitoyl phosphatidylcholine (DPPC)、unsaturated PC (USPC)、可溶

性蛋白, LDH, cytoplasmic aspartate aminotransferase (cAST), mitochondrial AST (mAST) の細胞内酵素, そしてプリン代謝物を測定した。

実験1: BALによる液性成分の回収量をみるために, control肺 (n=5) と虚血後120分の虚脱肺 (n=5) に対して連続7回のBALを行った。

実験2: 4群間の虚血性細胞障害を比較検討するために, 実験1に加えて虚血後120分の窒素膨張肺 (n=6) と空気膨張肺 (n=6) に対して連続4回のBALを行い, 回収液について液性成分の分析をした。

実験3: 肺胞表面の界面活性物質であるDPPC及びアポ蛋白を除去するために保存前に1回のBALを行った。保存前に洗浄された窒素膨張肺 (n=6) と空気膨張肺 (n=6) は, 虚血後120分にBALを行い, 回収されたDPPC量を測定した。洗浄後の肺組織はadenine nucleotideを測定するために液体窒素内でfreeze clampし凍結乾燥した。

〔結果〕

- (1) 虚血肺の細胞内ATP量 ($\mu\text{mol/g dw}$)は, 虚血後120分で空気膨張肺は 8.0 ± 1.2 であったが, 虚脱肺では 0.8 ± 0.7 , 窒素膨張肺では 2.0 ± 0.7 となり, 虚脱肺や窒素膨張肺と比べて空気膨張肺は有意 ($p < 0.001$) に高レベルに保たれた。虚脱肺の全プリン代謝物量 ($\mu\text{mol/g dw}$) は虚血後120分で 10.6 ± 1.3 と蓄積し, total adenine nucleotidesの減少量に相当した。
- (2) 虚血後120分に連続4回のBALを行うと, BALF中の界面活性物質の主成分であるDPPCは4群間で有意差がなく一定であった。一方, 酵素であるLDH, cAST, mASTの細胞内物質やUSPC, 可溶性蛋白の細胞膜成分, プリン代謝物は空気膨張肺の方が虚脱肺や窒素膨張肺と比べてBALF中に有意 ($p < 0.001$) に少なかった。
- (3) 保存前に洗浄された空気膨張肺は虚血後120分でのDPPC回収量が $0.46 \pm 0.07 \mu\text{mol}$ であったが, 窒素膨張肺のDPPC量は $0.18 \pm 0.03 \mu\text{mol}$ と空気膨張肺は窒素膨張肺よりも有意 ($p < 0.001$) に高値を示した。その時の肺組織ATP量は空気膨張肺で 6.8 ± 0.8 , 窒素膨張肺で 2.1 ± 0.7 と空気膨張肺は窒素膨張肺よりも有意 ($p < 0.001$) に高値を示した。

〔総括〕

- (1) 空気膨張肺では虚脱肺や窒素膨張肺よりも細胞内ATPレベルが有意 ($p < 0.001$) に高く維持された。
- (2) 空気膨張肺では虚脱肺や窒素膨張肺よりも細胞内物質である細胞内酵素や可溶性蛋白, 細胞膜成分, プリン代謝物のBALF中への漏出が有意 ($p < 0.001$) に少なかった。
- (3) 空気膨張肺では窒素膨張肺よりも界面活性物質の分泌能が有意 ($p < 0.001$) に保持された。

以上より, 虚血肺ではATP低下に伴って細胞内物質の漏出, 細胞膜成分の遊離及び界面活性物質分泌能の低下が起こるが, 経気道的に空気を供給すればこれらの障害は抑えられることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ラット虚血肺を好気的あるいは嫌気的条件下においた時の細胞内ATPレベルの変動と細胞膜障害の関係を、実験的に検討したものである。

その結果、虚脱肺や窒素膨張肺では、細胞内ATP量は急速に減少し、これにともない様々の細胞膜障害が現れることを、気管支肺胞洗浄液中への細胞内酵素の漏出、細胞膜成分の遊離で確認している。一方、空気膨張肺では、ATP量は維持され、障害から保護され、また、界面活性物質の分泌能が保持されることも明らかにしている。

これらの知見は虚血肺において経気道的に空気を供給すれば細胞内ATPレベルが保持されて虚血障害が抑えられることを明らかにしたものである。