

Title	Evaluation of reticuloendothelial system function by the vascular clearance of chondroitin sulfate iron colloid
Author(s)	石田, 秀之
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38402">https://hdl.handle.net/11094/38402</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏 名	石 田 秀 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 7 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 8 月 3 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Evaluation of reticuloendothelial system function by the vascular clearance of chondroitin sulfate iron colloid (コンドロイチン硫酸鉄コロイドを用いた細網内皮系機能検査法の確立とその臨床応用)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 森 武 貞 (副査) 教 授 木 谷 照 夫 教 授 北 村 幸 彦

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

侵襲が加わった際の生体の防御機構、特にその基礎をなす細網内皮系 (RES) 機能の変化は非常に興味深いテーマである。しかしながら、現状ではアイソトープを用いずにベッドサイドで RES の機能を評価する方法がない。コンドロイチン硫酸鉄コロイド (CSFe) は、陰イオンに荷電した異物として RES に取り込まれ、その血中消失率が RES の機能評価に使えることが報告されている。CSFe は貧血の治療薬として臨床の場で使用されており安全性に問題はない。また、血中鉄濃度として測定し消失率が求められるので、アイソトープを用いる必要もなく、RES 検査素材として有用である。今回、CSFe の貪食様式をさらに検討し、酵素論的な指標を用いて RES 機能を評価する方法を考案し、外科手術患者に臨床応用した。

### 【方法並びに成績】

CSFe として、ブルータル (大日本製薬, Na-CS20mg/ml+Fe4mg/ml) を用いた。溶液中の粒子系は  $71.5 \pm 24$ nm (平均±SD), 粒子数は約  $3 \times 10^{15}$ /ml, 全体として負の荷電を有したコロイドで、鉄はコロイドの中心部に3価の共有結合した状態で存在する。

A 動物実験—日本白色ウサギ (♂, 2.4kg) を用いた。

### [方 法]

- ① 耳静脈より  $^{59}\text{Fe}$  を投与、一定時間後屠殺、各臓器別の RI の集積をガンマカウンターで測定した。
- ② 耳静脈より CSFe を投与、IVC より経時的に採血、血中 CSFe 濃度を測定した。CSFe の測定は、血清 500  $\mu$ l に塩酸を加え煮沸した温浴中で15分間処理、 $\text{Fe}^{3+}$  を解離させた後、血清鉄と同様の手順で測定した。
- ③ CSFe のアッセイ法を修飾 (60° C, 48 hrs) し multiple blood sampling を可能とした後、一匹のウサギに CSFe を反復投与 (4-dose study),  $V_{\max}$  と  $K_p$  を求めた。
- ④ 血中消失率を測定したウサギに、一定時間後同量の CSFe と carbon colloid (80mg/kg) を同時投与することで carbon colloid による RES の阻害形式を検討した。

⑤  $V_{max}$  と  $K_p$  を求めたウサギ (3-dose study) に, carbon colloid (80mg/kg) を投与し, 24時間後再度  $V_{max}$  と  $K_p$  を求めた。

#### [成績]

- ① 60分後, 肝に49%・骨髄に41%・脾臓に4%集積した。肺には取り込まれず, 尿中・胆汁中への排泄もなかった。CSFeは血中で安定で, 血管外に逸脱せず, RESの貪食によってのみ処理されると考えられた。
- ② 血中消失率は各投与量で変化し, RESによるCSFeの貪食に飽和の過程を認めた。各投与群の平均を用い, CSFeの投与量とRESによる除去量をLineweaver-Burkの逆数プロットすると良好な直線性 ( $r=0.999$ ) を示し, y切片より  $V_{max}$  (Maximum phagocytic velocity) = 0.125mg/kg/min, x切片より  $K_p$  (CSFe concentration producing  $1/2V_{max}$ ) = 0.422mg/kg が計算された。RESによるCSFeの貪食に際しては, RESを酵素に見立てた速度論が成立した。血中消失率は投与量で変化するため, より普遍的な  $V_{max}$  と  $K_p$  を用いた評価が妥当であると考えられた。
- ③ 各ウサギでCSFeの投与量とRESによる除去量をLineweaver-Burkの逆数プロットすると良好な直線性を示し,  $V_{max}=0.129\pm 0.025$ mg/kg/min,  $K_p=0.417\pm 0.121$ mg/kg と計算された。CSFeを反復投与することにより一頭で  $V_{max}$  と  $K_p$  を求めることができた。その値は5群の平均より求めた値 (②) とほぼ一致した。
- ④ 各投与群で carbon colloid を同時投与すると血中消失率は有意 ( $p<0.001$ ) に低下した。3群の平均より carbon colloid 投与前  $V_{max}=0.128$ mg/kg/min,  $K_p=0.421$ mg/kg ( $r=0.999$ ), carbon colloid 同時投与時  $V_{max}=0.125$ mg/kg/min,  $K_p=1.167$ mg/kg ( $r=0.999$ ) と計算された。RESによるCSFeの貪食は, carbon colloid により競合阻害された。
- ⑤ control群 (生食のみ投与), carbon colloid 投与群とも初回及び carbon colloid 投与24時間後の  $V_{max}$ ,  $K_p$  は変わらなかった。carbon colloid によるRES機能の阻害は, 可逆的であった。

#### B 臨床応用

#### [方法]

- ① healthy volunteer にCSFeテストを施行し (3-dose study), 正常値を求めた。
- ② 胃癌にて胃幽門側切除を受けた患者を対象として, 術前・術後1日目・3日目・7日目にCSFeテストを施行した。

#### [成績]

- ① CSFeの投与量とRESによる除去量をLineweaver-Burkの逆数プロットすると良好な直線性が得られ,  $V_{max}=0.0310\pm 0.0052$ mg/kg/min,  $K_p=0.575\pm 0.205$ mg/kg と計算された。
- ② 術前の  $V_{max}$  と  $K_p$  は, healthy volunteer のものと変わらなかった。 $V_{max}$  は, 術後1日目に有意 ( $p<0.005$ ) に上昇し, 3日目にピークとなり, 7日目でも高値 ( $p<0.001$ ) を示した。 $K_p$  は術後3日目のみ有意 ( $p<0.001$ ) に上昇していた。手術侵襲に対し, RESのtotal capacity ( $V_{max}$ ) は増大したが, functional phagocytic efficiency ( $K_p$ ) は障害された。

#### 【総括】

ウサギを用いて, RESによるCSFeの貪食様式を検討し, CSFeを用いたRES機能検査法を確立した。この方法により酵素論的なRESの機能評価が可能であることが確認された。次にこの方法を臨床応用し, 手術侵襲によりRESは絶対量を増大させて対応するが機能効率が低下するを明らかにした。CSFeテストはベッドサイドで施行できる有用なRES機能検査法になり得ると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は, 細網内皮系 (RES) の本質的な機能である貪食能を, コンドロイチン硫酸鉄コロイド (CSFe) を用いてダイナミックに評価する方法を検討したものである。

まず、動物実験において、RESによるCSFeの貪食には酵素反応におけると同様の速度論が成立し、RESの機能を最大除去量 ( $V_{max}$ ) と  $1/2 V_{max}$  を与えるCSFe濃度 ( $K_p$ ) を用いて評価できることを確認した。次に、この方法を臨床応用し、手術侵襲時におけるRESは  $V_{max}$  を増大させて対応するが、 $K_p$  は障害されることを明らかにした。

CSFeは貧血の治療薬であり、アイソトープを用いずに血中濃度を測定できるという利点がある。ベッドサイドで施行できる安全で簡便なRES機能検査法を確立したという点において本研究の意義は大きく、学位に値すると思う。