

Title	Mechanisms of increased pulmonary microvascular permeability induced by FMLP in isolated rabbit lungs
Author(s)	田中, 裕
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39310
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	たなか ひろし 田 中 裕
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 5 6 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 1 0 月 5 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	Mechanisms of increased pulmonary microvascular permeability induced by FMLP in isolated rabbit lungs (兔摘出灌流肺における FMLP による肺毛細血管透過性亢進の機序について)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 杉 本 侃 (副査) 教 授 志 賀 健 教 授 谷 口 直 之

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

重度外傷や熱傷、敗血症時には、成人性呼吸窮迫症候群 (ARDS) といった毛細血管透過性の亢進を特徴とする急性肺障害をしばしば合併する。その発生機序には不明な点が多く、特に敗血症に合併する場合は致命的ともなる。敗血症時には補体や細菌由来のペプチド (N - formyl - methionyl - leucyl - phenylalanine, FMLP) などの走化性因子により多核白血球 (PMN) が肺内に集積し、これが肺障害の引き金になることが考えられている。なかでも FMLP は PMN に作用して、活性酸素やアラキドン酸代謝産物の産生を引き起こす。著者らは兔摘出灌流肺モデルを確立し、FMLP が肺血管の収縮を引き起こすことを世界で初めて報告した。この変化には PMN が強く関与し、FMLP の刺激によって PMN より放出された活性酸素が重要なメディエーターであることを明らかにした。さらにこの時毛細血管の透過性亢進型の肺水腫が発生することを見出し、FMLP が ARDS の病態に関与している可能性が示唆された。しかし肺障害の発生機序における PMN の役割および活性酸素や他のメディエーターの関与等については明らかでない。本研究の目的は同モデルを用い、FMLP による毛細血管透過性におよぼす作用について検討し、肺障害の発生機序を明らかにすることである。

[方法ならびに成績]

家兔 (2 - 3kg) を全麻下で脱血死させた後肺を摘出、灌流を開始した。灌流液には、Krebs - Henseleit buffer, 4% ヒトアルブミンを用いた。灌流液の温度は 37 度に、pH は 10% CO₂ を用いて 7.3 から 7.5 に維持した。灌流条件は閉鎖回路とし、定常流 (100ml/min) で、肺静脈圧 (Pla) を 3 - 5cm H₂O, 気道内圧を 1 - 2cm H₂O に設定した。換気条件は 15% O₂, 5% CO₂ を用い、一回換気量 5ml, 換気回数を毎分 20 回とした。経過中肺動脈圧 (Ppa), Pla および肺重量の変化を持続的に測定した。肺毛細血管圧 (Pdo) は肺動脈静脈同時閉塞法により評価した。また毛細血管の透過性 (Kf) は、Pdo の上昇に対する肺重量の増加量であらわした。PMN は兔腹腔内洗浄法 (>95% PMN, >95% cell viability) にて得た。また肺内の PMN 量の指標として、肺組織の myeloperoxidase (MPO) 活性を比色定量法にて測定した。

(実験1): FMLP の毛細血管透過性の変化におけるPMN の関与について検討した。FMLP (10^{-6} M) を投与前に、生食 (対照群), 5×10^6 または 1×10^8 個の PMN を灌流液中に注入し30分後に Pdo, Kf の測定を行った。その後 FMLP を投与し, 5分後に Pdo を, 30分後に Pdo, Kf を測定した。また FMLP 投与前後で灌流液中の leukotriene C_4 , D_4 , E_4 , (LTs) 濃度を高速液体クロマトグラフィーにて測定した。その結果投与した PMN はすべて肺に集積し, FMLP 投与後の Pdo は投与した PMN の量に依存して増加した。FMLP 投与後の Kf は MPO 活性と有意な正の相関を示し ($r = 0.72$, $P < 0.05$), 10^8 個の PMN を投与した場合には FMLP の刺激で Kf は約80%増加した。また肺の湿重量, 乾燥重量比 (W/D ratio) も対照群に比し有意に高く (5.86 ± 0.18 対 6.66 ± 0.22), 透過性の亢進による肺水腫が生じたものと考えられた。LTs 濃度は FMLP 投与前値 (LTC₄ 5.5, LTD₄ 3.4, LTE₄ 5.9 pg/ml) から FMLP 投与後30分値 (LTC₄ 234.0, LTD₄ 85.4, LTE₄ 239.4 pg/ml) と著明に増加した。

(実験2): FMLP による Kf の変化にいかなるメディエーターが関与するか検討した。PMN (10^8 個) を投与後に活性酵素の消去剤であるカタラーゼ (CAT, 5000単位), サイクロオキシゲナーゼ インヒビターのメクロフェナメート (MEC, 10^{-6} M), イブプロフェン (IBU, 10^{-5} M), リボキシゲナーゼ インヒビターの MK886 (10^{-6} M) をそれぞれ灌流液中に投与し, 以下実験1に準じた。その結果実験1で見られた FMLP 投与後の Kf の上昇および W/D ratio の増加は CAT, MK886により有意に抑制された。さらに LTs 濃度の上昇も CAT, MK886 は抑制した。これに対して MEC, IBU には効果を認めなかった。

[総括]

兎摘出灌流肺モデルを用い, 細菌由来のペプチド FMLP による肺障害の発生機序について検討した。その結果 FMLP は毛細血管の透過性を亢進させ, この変化には肺内に集積した PMN が強く関与した。透過性亢進の機序としては, FMLP の刺激によって PMN で産生された LTA₄ が肺で LTC₄ や LTD₄ に変換されたか, あるいは PMN より放出された活性酸素が, 肺において LTC₄, LTD₄ の産生を引き起こし, その結果血管内皮の透過性が亢進したことが考えられた。

論文審査の結果の要旨

重度外傷や敗血症時に生じる急性肺障害は肺血管抵抗の増大や毛細血管透過性亢進を特徴とするが, その発生機序にはいまなお不明な点が多い。本研究で著者らは兎摘出灌流肺モデルを確立し, 細菌由来の走化性ペプチド N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (FMLP) による肺障害機序について解析した。

FMLP の投与により肺血管抵抗および透過性亢進型の肺障害が生じ, 臨床例にみられる急性肺障害に近いモデルが作成された。この肺障害には肺に集積した多核白血球が強く関与することが明らかとなった。さらに著者らは肺血管抵抗の増加には活性酸素が関与すること, 透過性の亢進には活性酸素および leukotriene C_4 , D_4 が重要な役割を果たすことを見出した。

本研究は臨床例に似た急性肺障害のモデルを確立し, この病態に多核白血球が重要な因子であり, 活性酸素や leukotriene といった mediator が関与することを明らかにした研究として学位に値するものと認める。