

Title	Protective effects of a selective neutrophil elastase inhibitor
Author(s)	井上, 貴昭
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46176">https://hdl.handle.net/11094/46176</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	井上貴昭
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 19895 号
学位授与年月日	平成 18 年 1 月 19 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	Protective effects of a selective neutrophil elastase inhibitor (sivelestat) on lipopolysaccharide-induced acute dysfunction of the pulmonary microcirculation. (LPS 肺障害モデルの肺微小循環に対して選択的好中球エラスターゼ阻害剤・シベレスタットがもたらす予防的効果について)
論文審査委員	(主査) 教授 杉本 壽  (副査) 教授 眞下 節 教授 川瀬 一郎

## 論文内容の要旨

## 【目的】

重症外傷や過剰侵襲手術後に合併する急性肺障害 (acute lung injury : ALI) は著明な低酸素血症をきたして、多臓器不全を助長する致命的な合併症であり、これまでのところ、その発症機序も有効な治療法も明らかではない。我々はラット肺障害モデルの肺微小循環をリアルタイムに観察できる生体顕微鏡観察システムを開発し、ALI 発症時の肺微小循環の変化とその発症機序を明らかにし、好中球エラスターゼ (neutrophil elastase : NE) 阻害剤・sivelestat が ALI の肺微小循環に与える効果を検討することを目的に、本研究を実施した。

## 【方法】

雄性 Wistar ラット (各群 n=5) にペントバルビタールを腹腔内投与した後、気管切開・内頸静脈カニューレーションを行った。ペントバルビタール持続静脈麻酔・人工呼吸管理下に両側開胸してラット肺をスライドグラスに固定し、正立型の生体顕微鏡を用いてリアルタイムに循環動態を観察した。同モデルを以下に示す 3 群に分け、各種薬剤投与前を pre 値、投与 60 分後を post 値として、顕微鏡下でレーザードップラー血流計及び 2 点分光分析法を用いて以下に示す微小循環パラメータを測定し、その変化を定量評価した。また各種薬剤投与時にローダミンを投与して白血球染色を行い、蛍光顕微鏡を用いて 15 分毎に肺毛細血管に集積する白血球数を計測した。

また、肺組織全体に対する sivelestat の薬理学的作用を確認するために、雄性 Wistar ラット (各群 n=4) に同様の外科処置及び人工呼吸管理を行い、各種薬剤投与 60 分後に屠殺して下記に示す NE 活性及び血球成分を除外した乾湿重量比 (wet to dry ratio : W/D ratio) を測定し、投与前のそれらの値と比較検討した。

## (1) Grouping

- Control 群 : 生理的食塩水を投与
- LPS 群 : lipopoly saccharide (100  $\mu$ g/kg) を投与
- Sivelestat 群 : LPS を投与し、直前より sivelestat 10 mg/kg を投与

## (2) 測定項目

- a. 顕微分光分析法による肺毛細血管内の赤血球速度・ヘモグロビン (Hb) の酸素化率

- b. レーザードップラー計を用いた組織内の血液流速・赤血球速度
- c. ローダミン染色下に蛍光顕微鏡を用いた肺微小血管に集積する白血球数の経時的変化
- d. 血漿・肺組織・気管支肺胞洗浄液 (broncho alveolar lavage fluid : BALF) 内の NE 活性
- e. 血球成分を除外した W/D ratio

#### 【結果】

- a. 肺毛細血管内赤血球速度・Hb 酸素化率: LPS 群では Control 群に比べて有意に毛細血管内赤血球速度は低下し、Hb 酸素化率は低下した。Sivelestat 群では、肺毛細血管内赤血球速度は Control 群と差を認めず、Hb 酸素化率は LPS 群に比較して有意に改善した。
- b. 組織内血液流速・赤血球速度: 組織内血液流速・組織内赤血球速度は LPS 群において有意に増加した。Sivelestat 群では LPS 群に比して有意に抑制された。
- c. 肺微小血管に集積する白血球数: LPS 群では Control 群に比べて投与 15 分後より有意に増加した。Sivelestat 群では Control 群と差を認めなかった。(60 分後集積白血球数 ( $/190 \times 280 \mu m^2$ ): control  $46 \pm 21$ , LPS  $91 \pm 18^*$ , Sivelestat  $49 \pm 18^{\#}$ ,  $*p < 0.05$ : control vs. LPS,  $^{\#}p < 0.01$ : Sivelestat vs. LPS)
- d. BALF、肺組織内、血漿中 NE 活性: LPS 群では Control 群に比較していずれも有意に上昇が認められたが、Sivelestat 群では Control 群と差を認めなかった。
- e. W/D ratio: 血球成分を補正した W/D ratio は LPS 群では Control 群に対して有意に上昇を示したが、Sivelestat 群では Control 群と差を認めなかった。(W/D ratio: control  $2.73 \pm 0.73$ , LPS  $4.62 \pm 0.438^*$ , Sivelestat  $3.86 \pm 0.13^{\S}$ ,  $*p < 0.05$ : control vs. LPS,  $^{\S}p < 0.05$ : Sivelestat vs. LPS)

#### 【総括】

LPS 投与により、肺毛細血管に白血球が集積し、集積白血球による機械的な肺毛細血管の閉塞の結果、毛細血管-細血管における血流の再分布が認められた。また集積白血球が分泌する、好中球エラスターゼにより、肺間質浮腫は助長された。これらの微小循環における変化の結果、換気血流不均衡やシャント形成、拡散障害が惹起され、酸素化能の悪化をきたしていると考えられた。また、NE 活性阻害剤・sivelestat 投与により、肺微小循環における集積白血球数は抑制され、局所及び全身の NE 活性は低下して、肺微小循環動態及び酸素化能は改善した。

従って、ALI の発症には肺微小循環における白血球集積と NE が大きく関与しており、sivelestat により改善されることが明らかとなった。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、救急医学領域において難治性合併症のひとつである急性肺障害 (ALI) に着目し、LPS 静脈内投与によるモデルを作成して、生体顕微鏡により人工呼吸管理中の動的変化を観察すると共に、好中球エラスターゼ阻害剤の効果を検討した内容である。ALI 発症時の肺微小循環の変化を、リアルタイムに観察し、視覚的にも定量的にも観察できる優れた実験系である。LPS 投与によって生じた ALI では、肺毛細血管に白血球が集積し、毛細血管における血流低下と間質の浮腫を惹起し、血流分布の不均衡化を生じた結果、低酸素血症を生ずる過程を解明した。また臨床的にも使用されている好中球エラスターゼ阻害剤が肺毛細血管における白血球集積を抑制し、肺障害を抑制する過程を解明した良研究である。本研究は、急性肺障害の臨床症例において好中球エラスターゼ阻害剤を投与するタイミングなど、臨床に直結した結果を含んでおり、今後急性肺障害の治療法に寄与する可能性がある優れた研究であり、学位の授与に値する。