

Title	THE EFFECT OF ANTITHROMBIN ON PULMONARY ENDOTHELIAL DAMAGE INDUCED BY CRUSH INJURY
Author(s)	園井, 英輝
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49855
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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	園 井 英 輝
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 22778 号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学位論文名	THE EFFECT OF ANTITHROMBIN ON PULMONARY ENDOTHELIAL DAMAGE INDUCED BY CRUSH INJURY (クラッシュ損傷による肺血管内皮障害に対するアンチトロンビンの効果)
論文審査委員	(主査) 教授 杉本 壽 (副査) 教授 眞下 節 教授 青笹 克之

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

重症のクラッシュ損傷後にMultiple organ dysfunction syndrome (MODS)を来たすことは臨床的にはよく知られているが、そのメカニズムは十分に解明されてはいない。従って、重症のクラッシュ症候群では、個々の合併症に対する対症療法を行うのみで有効な根本的な治療法も確立されておらず、その為か、治療が後手に回ることが多く、依然致死率が高い。また、クラッシュ症候群は、地震などの災害、大事故、戦争など、混乱した現場において、同時に多数の患者が発生する特性があり、なかなか系統だった研究がなされていないのが現状である。そのような中、我々は再現性の高い安定した動物モデルを開発し、これまでに、重症度は挫滅筋肉量に相関すること、早期からのトロンボモジュリン投与と大量輸液療法の併用療法が生存率を大幅に改善することなどを報告してきた。

今回、我々は、MODSの一因として注目されている血管内皮細胞障害に着目し、全身侵襲時の標的臓器となりやすい肺を中心に、クラッシュ損傷後の遠隔臓器障害の病態に迫ると同時に、近年、抗凝固作用のみに留まらず、抗炎症作用、血管内皮保護作用が注目されつつあるAntithrombin (AT)の効果を検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

麻酔下に、12週齢の雄のWisterラットの両下肢に3.5kgずつの重りを載せ、6時間圧挫した。初めの5時間は生理食塩水で1ml/kg/hの維持輸液を行い、圧挫解除1時間前から解除後3時間までの4時間は10ml/kg/hの輸液負荷を行った。AT投与する群は、この輸液負荷のタイミングでATを投与した。

まず、7日後の生存率を比較すると、クラッシュ群 (CR群) では23.1%まで低下するのに対し、AT投与を行うと、濃度依存的に生存率を改善し、500単位/kg投与した群 (以後AT群) においては、69.2%と有意に改善していた。また、24時間後まではどの群も余り死んでいないのに、CR群では48時間後までに他群と有意差を持って死亡していました。

次に、解除後24時間後、48時間後の血清中のMonocyte Chemotactic Protein-1 (MCP-1)、Interleukin-6 (IL-6)、HMGB-1、血漿中のVon Willebrand factor (vWF)、AT、tPA/PAI-1複合体を測定した。まず、AT濃度はAT群でのみ有意に上昇し、48時間後まで他群に比べ有意差を持って高い濃度を維持していた。CR群ではMCP-1、IL-6、tPA/PAI-1複合体が有意に上昇し、そのうちMCP-1は48時間後も高濃度であったが、IL-6、tPA/PAI-1複合体は48時間後までに減少に転じていた。HMGB-1、vWFはコントロール群と比較すると有意な上昇を認めたが、Sham群との間には有意差を認めなかった。また、AT濃度以外は、いずれもAT群とCR群との間に有意差を認めなかった。

HE染色標本で肺、肝、腎、回腸末端などを観察し、多くの臓器で明らかな変化を捉えられない中、48時間後の肺において、multifocalな肺泡出血を伴う肺泡構造の乱れを認めた。この結果を受け、その後の組織学的検索を肺に絞って行うこととした。

肺の蛍光免疫染色標本でvWFとVCAM-1の発現を評価したところ、CR群では24時間、48時間と時間の経過と共にその発現を増していったが、AT群ではその発現を明らかに抑えていた。強拡大ではvWFやVCAM-1が肺泡レベルの血管内皮に沿って染まっている様子が観察された。また、細胞膜抗原の一つであるOX-42を用いて炎症細胞を染め、DAPIで染まる全ての細胞数と、OX-42陽性細胞数の比率を、各検体、ランダムに10視野ずつ選び、その平均を求めることで、肺での炎症の程度を評価した。CR群では24時間後、48時間後と経時的に炎症細胞が有意に増加したが、AT群では24時間後はやはり増加するもののSham群と有意差は無く、48時間後ではCR群と有意差を持って増加が抑えられていた。

[総 括]

クラッシュ損傷が、肺の血管内皮細胞障害と肺への炎症細胞の集積を引き起こし、これらに伴って、遠隔臓器である肺に障害をもたらすことが示唆された。また、AT投与により、肺血管内皮障害と肺への炎症細胞の集積が抑えられ、クラッシュ損傷に引き続いて起こる肺障害に対して有効と考えられた。さらに、AT投与により、クラッシュ損傷後の生存率を改善することが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

ラットクラッシュ損傷モデルを用いて、血清学的に炎症及び血管内皮障害の重症度を、形態学的に血管内皮を中心とした肺障害の程度を、各々経時的に評価した。クラッシュ損傷により、血中のtPA/PAI-1複合体、Monocyte Chemotactic Protein-1 (MCP-1)、Interleukin-6 (IL-6)は有意な上昇を認めた。圧解除24時間後には、肺においてOX-42陽性細胞(炎症細胞)の集積、Von Willebrand factor (vWF)やvascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)の発現が有意に増加し、48時間後には、肺泡構造の乱れや肺泡内出血を認めた。また、近年、血管内皮保護作用が注目されるAntithrombin (AT)投与により、肺での炎症細胞の集積、vWFやVCAM-1の発現が抑制され、生存率が有意に改善した。

この論文は、クラッシュ損傷により遠隔臓器障害である肺に障害を与えることを証明し、その一因と考えられる肺血管内皮障害を、ATが軽減することを示した初めての論文であり、学位に値するものと認められる。