



Experimental haemolytic uremic syndrome induced by lipopolysaccharide irritation on celiac ganglia in rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 余, 力平 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1107

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 254号	学位授与年月日	平成10年 3月26日
氏 名	余 力 平		
論文題目	<p>Experimental haemolytic uremic syndrome induced by lipopolysaccharide irritation on celiac ganglia in rats (ラット腹腔神経節への LPS 刺激による溶血性尿毒症症候群に関する実験的研究)</p>		

博士(医学) 余 力 平

論文題目

Experimental haemolytic uremic syndrome induced by lipopolysaccharide irritation on celiac ganglia in rats

(ラット腹腔神経節へのLPS刺激による溶血性尿毒症症候群に関する実験的研究)

論文内容の要旨

〔はじめに〕

溶血性尿毒症症候群(HUS)は細血管性溶血性貧血、血小板減少、腎機能不全を三主徴とする病因不明な症候群で、病理組織学的には腎臓の血栓性微小血管症(thrombotic microangiopathy)を特徴とする。原因はさまざまであるが、病原性大腸菌 O157などの細菌感染はその九割を占めている。多くの患者では胃腸症状が先行して発症する。細菌毒素は腸管神経繊維に沿って神経細胞を障害すると報告されている。しかし、神経障害によりどのような変化を来すのかは不明である。本研究では、直接腎臓を支配する腹腔神経節(CG)に刺激を与えHUS様な症状が得られるか否かを検討した。

〔材料ならびに方法〕

lipopolysaccharide (LPS) を滅菌生理食塩水に溶解し、0.1、1.0、10mg/ml濃度に調整した。各濃度LPS15 μ lを滅菌ガーゼ(2×2 cm)にそれぞれ吸収させた。

雄Wistarラット(体重170±20g)を用い、ネブタール(50mg/kg、腹腔内投与)麻酔下で開腹し、CGを露出した。ラットを以下の三群に分け検討した。

A群(n=6): ガーゼに吸収した15 μ l滅菌生理食塩水をCG上に置く。

B群: 露出したCGの上に0.1、1.0、10mg/ml濃度のLPS(各群n=6)を吸収したガーゼを付着させた。

C群: 各濃度のLPSを吸収した滅菌ガーゼを左腎臓下1 cmの後腹膜に乗せた(各群n=6)。

LPS或いは生理食塩水をCGに投与する前と投与後5、10、180分の時点でsphygmomanometry法(MK-1000、室町工業)によりラットの血圧を測定した。

実験3時間後ラットのガーゼの位置は実験前と一致していることを確認し、尿蛋白と尿潜血を測定した。ラットを心腔穿刺採血し、CG、腎臓、副腎を摘出した。血液は血小板数、血清尿素窒素値(BUN)、血漿アドレナリンとノルアドレナリン値の測定を行った。組織はhematoxylin eosin染色により組織学的検索を行った。また、腎臓組織についてはvon Willebrand factor(vWF)とfibrinogen抗体による免疫組織化学的検討も行った。

〔結果〕

A群とC群のラットでは血圧に変動は認められなかった。B群では、0.1と1.0mg/mlLPS刺激ラットにおいては実験後5分と10分の時点で血圧がともに上昇した。180分の時点では0.1mg/mlLPS刺激ラットの血圧は正常に戻った。1.0mg/mlLPS刺激したラットの血圧は引き続き高値を維持した。10mg/mlLPS刺激ラットの各時点での血圧は低下した。

A群では有意な血小板数変化が見られなかった。B群は低濃度LPS(0.1mg/ml)刺激を除いて、血小板数は有意に減少した。C群では高濃度LPS(10mg/ml)投与により有意に血小板数が減少した。

血清尿素窒素値及び血漿アドレナリンとノルアドレナリン値はB群の1.0と10mg/mlLPSで刺激したラ

ットに有意に増加が認められた。それ以外のラットには有意な変化はなかった。

尿検査では、A群とC群のラットに有意な変化はみられなかった。B群ラットはLPS濃度増加とともに尿蛋白と尿潜血が検出された。

組織検査では、B群の1.0mg/mlLPS刺激したラットでは細動脈の収縮と糸球体虚血性変化がみられた。10mg/mlLPS刺激ラットでは毛細血管が拡張し、内皮細胞が腫大、内腔が不明瞭となり、ボウマン嚢内漿液濾出が著明であった。またB群では血管内皮にvWFとfibrinogenの局在が強くみられた。また、副腎のzona fasciculataに選択的に出血がみられた。腹腔神経節の神経細胞の空泡変性も見られた。B群の0.1mg/mlLPS刺激ラットではA群とC群ラットに比して有意な変化は認められなかった。

〔考察〕

典型的HUSの発症はまず嘔吐。下痢など胃腸症状が先行し、その後急速に貧血、乏尿が出現し、急性腎不全に陥る。腎不全に伴う痙攣、高血圧が併発しやすい。発症機序については、毒素の直接血管内皮障害により微小循環不全が発症すると考えられていた。しかし、なぜ腎の血管系が特異的に障害されるのかは不明であった。

自律神経の過剰刺激はその支配する臓器と組織に血管運動障害を来す。今回の研究では、高濃度LPSをCGに投与したラットではHUS症例と同様に血小板減少、血圧変化、BUN増加、蛋白尿と血尿出現、組織的には腎細小動脈、糸球体血管内皮細胞の腫大、血管腔の狭小化が見られた。また血管内皮がvWFとfibrinogen抗体により強く染色された。これらの結果から、細菌毒素は腸管神経繊維に沿って腹腔神経節を障害し、腹腔神経節が支配する腎臓に微小循環不全や血管内皮障害を惹起する可能性があると考えられた。

〔結論〕

本実験の結果から、自律神経はHUSの発病に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

溶血性尿毒症症候群（HUS）は急性腎不全、細血管性溶血性貧血、血小板減少を三主徴とし、病理学的には腎臓の血栓性微小血管症を特徴とする。HUSではしばしば神経症状が認められ、HUSの原因の一つであるペロ毒素は神経細胞を障害することが知られている。しかし、神経障害とHUSの関連に関しては未だ不明である。そこで、申請者は腎臓を支配する腹腔神経節（CG）に刺激を与えHUS様の症状が認められるかどうかを検討した。すなわち、各濃度のlipopolysaccharide（LPS）をガーゼに吸収させ雄Wisterラットの開腹露出したCGに付着し、これを刺激した（B群）。また、コントロールとして、LPSの代わりに生理食塩水を用いた群（A群）、LPSを吸収したガーゼを後腹膜に乗せた群（C群）も用意した。申請者は、これらのラットにHUS様の症状が出現するか否かを以下の方法で検討した。

1）血圧を経時的に測定し、刺激3時間後、2）尿検査（蛋白、尿潜血）、3）血小板、4）血清尿素窒素（BUN）、5）血漿アドレナリン、ノルアドレナリンの測定を行った。また、6）CG、腎臓、副腎の組織学的検索、7）腎組織においては、von Willebrand factor（vWF）とフィブリノーゲンに対する抗体による免疫組織化学的検索も併せて行った。

その結果、1）血圧の変化はB群にのみ認められ、0.1mg/mlと1.0mg/mlLPSで刺激したラットの血圧は上昇した。これに反し、10mg/mlLPS刺激では血圧が低下した。2）尿検査でもB群のみにLPS濃

度依存的に尿蛋白と尿潜血が検出された。3) 血小板数の減少はB群の1.0mg/ml、10mg/mlLPS刺激とC群の10mg/mlLPS刺激に認められた。4) BUNおよび血漿アドレナリン、ノルアドレナリンはB群の1.0mg/ml、10mg/mlLPS刺激でのみ増加していた。また、5) 組織学的検査ではB群の高濃度LPS刺激でのみ変化が認められ、腎細小動脈、糸球体血管内皮細胞の腫大、血管腔の狭小化が認められた。副腎の出血、CGの空胞変性も認められた。6) 免疫組織化学的検索では腎血管内皮に vWF とフィブリノーゲンの局在が強く認められた。

これらの結果より、申請者はCGの刺激は、これが支配する腎臓に微小循環不全や血管内皮障害を惹起し、この結果、HUS様の症状が発現すると推察している。審査委員会では自律神経がHUSの発症に重要な役割を果たすという研究成果の独創性を高く評価した。

以上の研究に対し、審査委員会では以下の質疑を行った。

- 1) LPSをCG刺激に選んだ理由
- 2) CGにLPS受容体は存在するか
- 3) 感染症でLPSがHUSを惹起することはあるか
- 4) なぜペロ毒素を使わなかったか
- 5) LPSをガーゼに吸収させCGを刺激する方法は確立された方法か
- 6) 高濃度LPS刺激による血圧低下のメカニズムについて
- 7) LPS刺激3時間後では乏尿になっているはずだが、尿検査に十分な尿量は得られたか
- 8) カテコールアミン上昇の原因について
- 9) 腎血管内皮細胞の傷害はなぜ起きるか
- 10) ボウマン嚢内漿液漏出の原因は
- 11) vWFはなぜ神経刺激で出現するか
- 12) 自律神経の過剰刺激がHUSの主要な原因であるという理由
- 13) 腎細動脈の血流を測定したか

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士（医学）の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 小 出 幸 夫

副査 教授 筒 井 祥 博 副査 助教授 菱 田 明