



Phospholipid Analysis on Pulmonary Surfactant and Alveolar Macrophages in Bleomycin-induced Pulmonary Injury

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 安田, 和雄 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/963

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 110号	学位授与年月日	平成 3年 3月26日
氏名	安田和雅		
論文題目	Phospholipid Analysis on Pulmonary Surfactant and Alveolar Macrophages in Bleomycin-induced Pulmonary Injury (ブレオマイシンによる肺傷害における肺表面活性物質および肺胞マクロファージのリン脂質分析)		

医学博士 安田和雅

論文題目

Phospholipid Analysis on Pulmonary Surfactant and Alveolar Macrophages in Bleomycin-induced Pulmonary Injury

(ブレオマイシンによる肺傷害における肺表面活性物質および肺胞マクロファージのリン脂質分析)

論文の内容の要旨

(目的) 肺胞マクロファージ (AM) は活性酸素の産生、インターロイキン1など種々の伝達物質を放出することによって肺の炎症、線維化に重要な役割を果たしている。一方、AMの機能は、肺表面活性物質により様々な影響を受けることが示されている。

特発性間質性肺炎や種々の実験動物では肺の炎症、線維化に伴って、肺表面活性物質の脂質に変化が起こる。しかし、これらの過程における肺胞内細胞の脂質の変動についての報告は極めて少ない。

今回、肺傷害時の肺表面活性物質および肺胞内細胞のリン脂質 (PL) の変化を、家兔のブレオマイシン (BLM) による肺傷害モデルを用いて検討した。加えてPLがAMの活性酸素産生能に及ぼす影響を与えるかについても検討した。

(方法) 1) ニュージーランド白色家兔にBLM (15mg/kg) を経気管的に投与し、投与前、7、14、21、28日後に気管支肺胞洗浄 (BAL) を施行した。回収液は $130 \times g$ 、5分間遠沈し、上清と細胞分画に分離した。2) PLは脂質抽出の後、陰イオン交換樹脂ならびに高速液体クロマトグラフィーを用いて分離した。PLはBartlett法に従い定量した。3) BLM投与および非投与家兔のAMをPL含有 (ジパルミトイルフォスファチジルコリン/ジパルミトイルフォスファチジルグリセロール、9:1、最終濃度 $300 \mu g/ml$)、あるいはPL非含有培養液中で24時間培養した。4) AM (4×10^6) の活性酸素産生能はルミノール依存性化学発光法を用いて測定した。

(結果) 1) 健常家兔のBAL細胞の99%はAMであった。BLM投与後7日では好中球、投与後21日ではリンパ球が有意に増加していた。2) BLM投与家兔ではBAL上清、細胞共にPL含有量が増加した。3) BLM投与後、BAL上清のフォスファチジルコリン (PC) の含有比率は減少傾向を示したが、フォスファチジルグリセロール (PG) の含有比率は有意の変動を示さなかった。4) BLM投与により、BAL細胞のPCは含有比率を増したが、PGは有意の変動を示さなかった。5) AMをPL含有培養液中で培養すると、その活性酸素産生能は抑制された。しかし、BLM投与家兔のAMではPLの抑制は軽度となった。

(考案ならびに結語)

今回の検討では、BLM投与によりBAL上清ならびに細胞のPLの量組成が変化することが示された。これまでもBLM投与後にBAL上清中のPLが変化することは指摘されているが、その増加、減少に関しては未だ一定の見解は得られていない。しかし、これらの変化はII型肺胞細胞における肺表面活性物質の産生系の変化の結果であることが形態学的検討から推察されている。BLMによる肺傷害時におけるAMのPLの変化を報告した文献はこれまでにない。我々の検討では肺胞内のいずれの細胞のPL変化がBAL細胞のPL変化に寄与しているのかは明らかにしえなかったが、細胞数の絶対的多数、ならびに好中球に比してAMのPL含有量が多いことが示されていることから、BAL細胞のPL変化はAMのPL変化を示していると考えられる。実際、BLM投与後にはPL含有量が多い泡沫化したAMが増加していた。

これらのPLがAMの機能に及ぼす影響を化学発光法を用いて検討したところ、PLはAMの活性酸素産生能を抑制した。この傾向はこれまでの報告に一致している。PLは細胞膜の主要成分であり、その安定化に関与していると考えられる。しかし、BLM投与家兔のAMを用いるとPLの抑制は軽度であったことから、BLMはAMに対するPLの抑制作用を変調させていることが考えられる。今後、これらの炎症、線維化の過程におけるPLと、肺胞内細胞の相互作用についてさらに検討する必要があると考えられた。

論文審査の結果の要旨

間質性肺疾患において肺表面活性物質 (pulmonary surfactant) のリン脂質が変化することが知られているが、間質性肺疾患における肺胞マクロファージ (alveolar macrophages; AM) と気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid; BALF) のリン脂質の変化について検討した報告は極めて少ない。本研究は家兎を用いプレオマイシン投与による肺間質の傷害においてAMと肺表面活性物質のリン脂質の変化について検討し、さらに本病態時におけるAMの活性酸素産生能に対するリン脂質の影響について生化学的ならびに組織学的に検討したものである。

その結果、プレオマイシン投与による間質性肺傷害においてAMとBALF中のリン脂質総量の増加とその組成に変化がもたらされることが確認された。さらにまた、リン脂質がAMの活性酸素産生能を抑制するが、プレオマイシン投与と家兎のAMではリン脂質による活性酸素産生能の抑制効果が有意に減弱するのを認めている。プレオマイシン投与による間質性肺傷害におけるAMのリン脂質に対する影響をみた論文は殆どみられないことから、本研究は間質性肺疾患の病態の解明と治療法の開発をおこなう上で重要な示唆を与える研究として高く評価された。

なお、この研究に対して審査委員から次のような質疑がなされた。

1. 経気管的なプレオマイシン投与による肺の傷害は局所性かびまん性か
2. BALFのリン脂質の増加の機序について
3. BALF上清中リン脂質が増加し、フォスファチジルコリン (PC) の含有率が低下しているが、PCの絶対量としてはどうか。
4. AMに添加したリン脂質の濃度を300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした根拠
5. リン脂質をAMにこの濃度で添加した場合、培養液中でのリン脂質の容態は
6. 肺表面活性物質の生成部位と生成機序について
7. リン脂質によるAMの活性酸素産生能の抑制の機序等について

以上の試問に対する回答はおおむね適切であった。

以上の審査の結果、本審査委員会は本論文が学位授与に値する十分な内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	山 崎	昇			
	副査	教授	白 澤	春 之	副査	教授	西 村 顯 治
	副査	教授	馬 場	正 三	副査	教授	山 下 昭