



肺再灌流障害に対する抗接着分子抗体の抑制効果

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 今泉, 勉 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1014

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 161号	学位授与年月日	平成 6年 3月25日
氏 名	今 泉 強		
論文題目	肺再灌流障害に対する抗接着分子抗体の抑制効果		

医学博士 今 泉 強

論文題目

肺再灌流障害に対する抗接着分子抗体の抑制効果

論文の内容の要旨

目的：

肺移植時に再灌流障害による術後肺機能低下は、移植後早期の問題となっている。この肺再灌流障害の原因として、好中球による血管内皮細胞傷害が考えられている。好中球によるこの血管内皮細胞傷害は、まず好中球が血管内皮細胞に接着することが必要で、再灌流により活性化された好中球と血管内皮細胞は接着分子の発現が増強し、相互の結合性が増強することが近年明かになってきた。接着分子による好中球・血管内皮細胞間の接着は複数のレセプター・リガンド系によって支配されているが主要な系の一つに LFA-1 (lymphocyte function associated antigen-1)・ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) 系がある。今回この系に対する抗接着分子抗体を用いて肺再灌流傷害に対する効果を検討した。

方法：

wister 系雄成熟ラットを用いて、気管内挿管下に人口呼吸器により FIO_2 0.21 の調節呼吸を行った。左第 5 肋間で開胸の後、肺動静脈をクランプし、ついで主気管支を肺虚脱状態でクランプすることにより温阻血モデルラットを作成した。温阻血時間は 45 分とし、再灌流時間は 8 時間とした。

今回 LFA-1・ICAM-1 系に対する抗体として、抗 LFA-1 単クローン抗体である WT.1 と抗 ICAM-1 単クローン抗体である 1A29 を用いた。

control 抗体として mouse IgG をクランプ 10 分前に大腿静脈より 1 mg/kg 体重静注した control 群、WT.1 を 1 mg/kg 静注した WT.1 投与群、WT.1 と 1A29 を各 1 mg/kg ずつ同時投与した WT.1/1A29 投与群に分けた。阻血前、阻血後、再灌流 2 時間および 8 時間後に肺組織と大腿動脈血を採取し、好中球の集積を見るために lung tissue myeloperoxidase activity を、好中球による血管内皮細胞傷害に伴う肺血管外水分量の増加を見るために lung tissue wet/dry weight ratio を、それに伴う呼吸機能低下を見るために respiratory index をそれぞれ測定した。

結果：

各指標とも阻血前と阻血終了直後では、3 群間で有意差を認めなかった。

lung tissue wet/dry ratio は、再灌流 2 時間後で control 群 4.74 ± 0.35 (wet g/dry g)、WT.1 投与群 3.71 ± 0.21 、WT.1/1A29 投与群 3.79 ± 0.38 で、control 群に比べ WT.1 投与群および WT.1/1A29 投与群が有意に低値であった。再灌流 8 時間後では、control 群 5.41 ± 0.22 、WT.1 投与群 4.65 ± 0.21 、WT.1/1A29 投与群 4.02 ± 0.32 で、control 群に比べ WT.1 投与群および WT.1/1A29 投与群が有意に低値であった。また再灌流 8 時間後で、WT.1 投与群に比べ WT.1/1A29 投与群が有意に低値であった。

lung tissue myeloperoxidase activity は、再灌流 2 時間後では、control 群 1.52 ± 0.34 (U/g)、WT.1 投与群 0.61 ± 0.14 、WT.1/1A29 投与群 0.58 ± 0.21 で、control 群に比べ WT.1 投与群および WT.1/1A29 投与群が有意に低値であった。再灌流 8 時間後では、control 群 1.44 ± 0.36 、WT.1 投与群 0.67 ± 0.10 、WT.1/1A29 投与群 0.71 ± 0.12 で、control 群に比べ WT.1 投与群および WT.1/1A29 投与群が有意に低値であった。

respiratory index は、再灌流 2 時間後では、control 群 0.96 ± 0.09 、WT-1 投与群 0.66 ± 0.16 、WT-1 / 1 A29 投与群 0.63 ± 0.22 で、control 群に比べ WT-1 投与群および WT-1 / 1 A29 投与群が有意に低値であった。再灌流 8 時間後では、control 群 1.29 ± 0.16 、WT-1 投与群 0.84 ± 0.06 、WT-1 / 1 A29 投与群 0.70 ± 0.12 で、control 群に比べ WT-1 投与群及び WT-1 / 1 A29 投与群が有意に低値であった。更に再灌流 8 時間後で、WT-1 投与群に比べ WT-1 / 1 A29 投与群が有意に低値であった。

結論：

以上の結果より、温阻血モデルラットにおける肺再灌流時に抗 LFA-1 抗体 WT-1 を投与すると好中球の血管内皮細胞への接着が抑制され、肺組織障害の程度が軽減・抑制されることが明らかにされた。さらに、抗 ICAM-1 抗体 1 A29 を併用投与すると、その抑制効果は有意に増強された。

肺再灌流障害が抗接着分子抗体の投与によって軽減・抑制されることから、その原因として好中球-血管内皮細胞間接着現象に基づき血管内皮細胞傷害が関与することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

肺移植の際早期に問題になることは、再灌流障害に基づく術後の肺機能低下であるが、最近その原因として、血液好中球による血管内皮細胞傷害が重視されている。本申請者は本研究において、再灌流により活性化された血管内皮細胞と血液好中球が細胞間接着現象に基づき結合し、血管内皮が傷害されるか否かを抗接着分子抗体を用いて in vivo 系で実証しようとした。

審査委員会において、申請者によりなされた口頭発表と論文内容について審査した結果、本論文の特徴として次の点が評価された。

1. ラットを用い人口呼吸器による調節呼吸下で肺動静脈と主気管支をクランプして温阻血状態を惹起させ、その後クランプをはずして再灌流をおこなうことにより温阻血再灌流の実験モデルを作成しているが、本研究目的を解析する方法としては適切であると判断された。
また、好中球と血管内皮細胞間の細胞接着に関与する主要な接着分子である lymphocyte function associated antigen (LFA-1、CD11a/CD18) と intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1、CD54) をそれぞれ特異的に認識する単クローン抗体である WT-1 と 1 A29 を本研究では用いているが、その調整法、および特異性、純度、活性など、いずれも適切であると判断された。その他、各パラメーターの解析法にもほぼ問題がないことが確認された。
2. 正常マウス IgG 投与の対照群と、WT-1 投与群と WT-1 + 1 A29 投与群において、阻血前と阻血終了後、再灌流 2 時間と 8 時間で解析したところ、肺血管外水分量の増加の指標である肺重量の wet/dry ratio は、再灌流 2 時間において WT-1 投与群と WT-1 / 1 A29 投与群で有意に減少していた。さらに 8 時間後では、WT-1 投与群と比べ WT-1 / 1 A29 投与群で減少の程度が顕著であった。
3. 好中球の酵素活性の指標である myeloperoxidase activity と、呼吸機能低下の指標である respiratory index も、肺重量の wet/dry ratio の変動とほぼ同様の変化を示した。
4. 病理組織学的検索によっても、肺組織内への好中球の浸潤と間質の肥厚の程度が対照群と比べ WT-1 / 1 A29 群で軽度であることを確認している。

以上の所見から申請者は、抗接着分子抗体の in vivo 投与により肺再灌流障害が軽減される可能性を主張した。審査委員会では、この所見は、再灌流後にしばしば惹起される肺組織障害の発症に、活性化

好中球の血管内皮細胞接着現象に起因する細胞傷害作用が密接に関与する可能性を in vivo 系で実証するものであるとして評価された。また、肺移植時において本抗体の臨床的応用の可能性も示唆されるとして、今後の研究の発展が期待された。

また、審査の過程において、申請者に対し次のような質疑がおこなわれた。

1. 実験のプロトコールの妥当性
2. 対照マウス血清の適切性
3. 抗接着分子抗体の特異性、純度、活性
4. 各パラメーター測定法の妥当性
5. 内皮細胞上での血液好中球のローリング現象について
6. 再灌流後に起きる血管内皮の変化、とくに内皮細胞の活性化の証明
7. 抗接着分子抗体投与による肺組織像の変化
8. 好中球の内皮細胞傷害作用の機序

以上の質疑に対し、申請者はほぼ適切な解答をおこなった。本審査委員会は審議の結果、本論文が博士（医学）の学位授与に値するものであると全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 山下 昭

副査 教授 原田 幸雄 副査 教授 藤田 道也

副査 助教授 佐藤 篤彦 副査 助教授 林 秀晴