

氏 名（本籍） 久 保 裕 司

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 博 第 1 1 2 7 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 4 年 3 月 27 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

研 究 科 専 攻 東 北 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科  
（ 博 士 課 程 ） 外 科 学 系 専 攻

学 位 論 文 題 目 肺 血 管 壁 透 過 性 亢 進 に 対 す る 多 核 白 血 球 お よ び  
細 胞 接 着 分 子 CD18 の 関 与 に つ い て  
— 持 続 的 微 量 エ ン ド ト キ シ ン 刺 激 モ デ ル に お け  
る 検 討 —

（ 主 査 ）

論 文 審 査 委 員 教 授 藤 村 重 文 教 授 森 昌 造

教 授 毛 利 平

## 論文内容要旨

臨床的な持続的敗血症の状態における、肺血管壁透過性亢進の変化、多核白血球動態の変化、およびそのときの多核白血球膜表面の細胞接着分子 CD18 の意義を検討する目的で以下の実験を施行した。実験動物としてヒツジを使用した。肺動脈にスワン-ガンツカテーテルを、大動脈に動脈カテーテルを留置した後、Staub らの方法に準じ、尾側縦隔リンパ節輸出管にシリコン製カテーテルを挿入し、慢性肺リンパ瘻を作成した。実験は、体重あたりエンドトキシンを 10ng/kg/min の速度で持続注入ポンプを用い、持続的に 24 時間静脈内投与した。肺循環動態の指標として、平均肺動脈圧、肺動脈楔入圧、心拍出量を、肺リンパ動態の指標として、肺リンパ流量、リンパ血漿蛋白濃度比 (L/P 比) を、白血球動態として、末梢白血球数、および白血球分画百分率を 30 分毎に測定した。また、抗 CD18 モノクローナル抗体を用い、フローサイトメトリーにて、エンドトキシン投与前、投与開始 2 時間、10 時間、および 24 時間の時点における、末梢血中の CD18 陽性細胞の割合、および多核白血球膜表面の CD18 発現率の変化を測定した。エンドトキシン投与開始 2 時間の時点において、肺動脈圧の上昇を伴わずに、肺リンパ流量は、基準値  $4.11 \pm 1.23$  (g/30min) より  $13.42 \pm 1.26$ 、L/P 比は、基準値  $0.70 \pm 0.10$  より  $0.76 \pm 0.07$  と上昇した。その結果、リンパ流量  $\times$  L/P 比の式であらわされる。肺リンパ蛋白フリーアランスは、 $2.9 \pm 1.1$  より  $10.2 \pm 1.0$  と有意に増加し、肺血管壁透過性亢進が認められた。また、末梢血多核白血球数は、基準値  $2336 \pm 1011$  (/mm<sup>3</sup>) より  $66 \pm 46$  に減少した。このとき、末梢血中の CD18 陽性細胞の割合は、基準値の  $55.3 \pm 11.1\%$  より  $91.9 \pm 1.9$  と増加し、多核白血球膜表面の CD18 発現率は、基準値に比し  $126.8 \pm 14.3\%$  と増加した。エンドトキシン投与開始 10 時間以降は、肺循環動態に変化は認められなかった。肺リンパ流量は、投与開始 10 時間  $5.34 \pm 0.81$ 、24 時間  $4.81 \pm 0.43$ 、L/P 比は、10 時間  $0.73 \pm 0.08$ 、24 時間  $0.75 \pm 0.10$  とほぼ基準値に回復した。その結果、肺リンパ蛋白クリアランスは、10 時間  $4.0 \pm 1.1$ 、24 時間  $2.4 \pm 2.2$  と減少し、肺血管壁透過性亢進の改善が認められた。また、末梢血多核白血球数は、10 時間  $8778 \pm 2710$ 、24 時間  $7384 \pm 5059$  と増加した。このとき、末梢血中の CD18 陽性細胞の割合は、10 時間  $34.0 \pm 8.6\%$ 、24 時間  $39.6 \pm 15.7$  と減少し、CD18 発現率は基準値に比し、10 時間  $88.5 \pm 6.3\%$ 、24 時間  $96.6 \pm 7.2$  と変化した。

末梢血多核白血球数は、エンドトキシン投与開始直後より減少し、2 時間の時点においても低値を持続した。この末梢白血球数の減少は、白血球が肺へ集積したためと考えられている。このとき、CD18 陽性細胞数の増加が認められた。このため、肺血管内皮細胞に接着する多核白血球数が増加し、その場で、種々の生理活性物質の放出、内皮細胞障害等を引き起こし、壁透過性亢進を招いたと推定される。また、このとき多核白血球の CD18 発現率の増加が認められた。膜表

面の CD18発現率の増加と、内皮細胞との接着量との間に相関があるとの報告もあり、この発現率増加が、さらに内皮細胞との接着を促進し、壁透過性亢進を増強させたと考えられる。投与開始10時間以降においては、基準値のほぼ2倍以上の末梢血白血球数の増加が認められた。それらのほとんどは、成熟多核白血球であったことから、肺、骨髄、肝臓、脾臓といったプーリング臓器より放出されたと考えられる。ヒツジの場合、白血球の主なプーリング臓器は、肺であることから、増加した多核白血球の由来臓器として、肺が重要な位置を占めていると考えられる。このとき、CD18陽性細胞の減少、および CD18発現率の低下が認められた。同時期に、肺リンパにおいては、リンパ流量の低下が認められ、肺血管壁透過性亢進の改善が認められた。すでに述べたように、この増加した末梢多核白血球は、主に肺由来と考えられるため、末梢多核白血球数の増加の一因は、CD18発現率の低下により、肺血管内皮細胞との接着が剥がれ、末梢血液中に流出したことと考えられる。また、このことが、多核白血球による内皮細胞傷害の軽減につながり、壁透過性亢進の改善をもたらしたと考えられる。

以上のことから、エンドトキシン持続刺激によって、多核白血球は肺に集積し、肺血管壁透過性亢進をもたらすと考えられた。また、この肺血管壁透過性亢進には、多核白血球膜表面の細胞接着分子 CD18が関与していると考えられた。

## 審査結果の要旨

本論文は、臨床的な持続的敗血症の状態における肺血管壁透過性亢進と多核白血球動態の変化、およびそれに伴う多核白血球膜表面の細胞接着分子 CD18 の関与について検討したものである。敗血症時にみられるエンドトキシンの刺激により、肺がいかに傷害され、またそれはいかなる機序によるのかという点に焦点をあて、最新の手法により細胞接着分子を測定した研究である。

臨床において敗血症時等に生じる肺血管壁透過性亢進による病態は、ARDS (adult respiratory distress syndrome) と呼ばれ、現在まで動物実験モデルや臨床症例を用いて様々な検討がなされてきた。しかし、未だ明らかな病態は解明されておらず、治療方法に関しても確立されたものはない状態である。この ARDS の病態を解明するための動物実験モデルとしては、ヒツジのエンドトキシン一回刺激モデルが代表的である。本論文においては、この実験モデルをさらに発展させ、微量エンドトキシンの 24 時間持続投与という斬新な手法を提起した。この新しいモデルは、時間変化を捉えられるヒツジモデルの利点を最大限にいかし、24 時間という時間の中で、種々のパラメーターのダイナミックな動きが観察され、いままでの一回刺激と違い、より臨床的な病態の検討が可能と考えられる。また、持続投与という手法により、エンドトキシンの on, off といったノイズを除外しこの物質の反応をみようとしたところに新しさが感じられる。このモデルは、今後様々な因子に関して、より臨床に即した研究に応用することができる。

また、本研究では、肺循環動態、肺リンパ動態、多核白血球動態の検討だけではなく、最近のトピックである細胞接着分子にも検討を加え、多くの new finding を得ている。特に、この細胞接着分子に関しては、肺傷害においても重要な働きを果たしていると推定され、今後ますます重要視されると考えられるが、未だ肺傷害の分野においては明確な報告はなく、本論文は、今後この分野で、細胞接着分子が脚光を浴びてゆく足掛りとしても重要である。内容としても、肺血管壁透過性亢進と末梢多核白血球数との関連、さらに、細胞接着分子との相関も示され、この肺傷害時の細胞接着分子の意義について、実に示唆に富んだ結論を導き出している点で評価できる。

以上の点から、本論文は学位論文に値すると考える。