

氏名(本籍)	石川成美(東京都)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博乙第843号		
学位授与年月日	平成5年2月28日		
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	Soluble terminal complex of complement increases lung endothelial hydraulic conductivity (可溶性の後期補体成分複合体は肺微小血管内皮の水の濾過係数を増加させる)		
主査	筑波大学教授	工学博士	大島宣雄
副査	筑波大学教授	医学博士	大野忠雄
副査	筑波大学教授	医学博士	杉下靖郎
副査	工業技術院機械技術研究所首席研究官(筑波大学併任教授)		
			立石哲也
副査	筑波大学教授	医学博士	能勢忠男

## 論文の要旨

### (目的)

成人呼吸促進症候群 (ARDS; adult respiratory distress syndrome) の病態生理を知る上で、その初期像である肺微小血管透過性の亢進の機序を知ることは重要である。敗血症や多発外傷などARDSの誘因となる病態で活性化されることが知られている補体は、白血球を介し、肺微小血管障害、透過性亢進を来すことが知られている。従来、肺血管透過性は表面積の定かでない血管床を対象に評価されてきたが、摘出肺の単一微小血管について微小穿刺の技術を用いることにより、血管内圧を規定した状態で単位面積当たりの水分の移動の流束の測定が可能であり、また試験物質を単一血管に直接到達させることもできる。そこで本研究では、活性化した補体が直接に肺の微小血管の透過性を変化させるかどうかを、肺の単一微小血管の水分の透過性を生体顕微鏡下で定量化する実験によって検討することを目的とした。

### (方法)

肺微小血管内の水分の移動流束を求めるため、Sprage-Dawley系ラット(体重400-600g)の新鮮摘出肺を灌流し、胸膜直下の細静脈(直径20-40 $\mu$ m)を生体顕微鏡下に観察した。単一微小血管における測定は、肺循環換気を短時間(3-15分)停止中に行い、これにより肺細静脈を目的の内圧に保った。マイクロピペットを用いて細静脈内にオイルを注入した後、このオイル滴内に試験血

清液を再穿刺によって微量注入してオイルをスプリット（分割）した。細静脈の直径とオイル滴間の距離の測定値の一分間の経時変化から注入血清の容量の変化率を求め、肺細静脈の単位時間、単位表面積当たりの流束（ $J_v$ ）を求めた。同一肺において、異なる血管内圧に対する $J_v$ を測定し、そのプロットから肺細静脈の水力的コンプライアンスないし透過係数（ $L_p$ ）および零濾過圧（ $P_{zf}$ ）を求めた。異なる総蛋白濃度をもつ血清をスプリット溶液とし、血管内膠質浸透圧の変化に対する $P_{zf}$ のプロットから、血清総蛋白浸透圧に対する反射係数（ $\sigma$ ）を求めた。

補体の活性化はザイモサンと血清を浸漬して行った（ザイモサン活性化血清）。血清については、50%溶血補体価（ $CH_{50}$ ）とエンザイムイムノアッセイ法による可溶性補体最終複合体（SC5b-9）の濃度を測定した。

また、肺の透過性亢進機序を検討するために用いた各種の薬物による肺微小血管の前処置は、肺灌流液中に薬物を直接に注入することによって行った。

#### （結果）

摘出灌流して実験に供したラットの肺の肺血管外水分量は、新鮮摘出肺のそれと差はなかった。ザイモサンとの浸漬は血清の蛋白濃度、osmolality（浸透圧重量モル濃度）、膠質浸透圧を変化させなかった。ラット血清をスプリット溶液として使用した場合（コントロール）、肺の細静脈の $L_p$ は $3.1 \pm 0.6 \times 10^{-7}$ （ $ml/cm^2 \cdot s \cdot cmH_2O$ ）、 $\sigma$ は $0.7 \pm 4.5$ （-）であった（ $n = 5$ ）。ザイモサン活性化血清をスプリット溶液とすると、 $L_p$ は $10.5 \pm 4.5 \times 10^{-7}$ （ $ml/cm^2 \cdot s \cdot cmH_2O$ ）となり、コントロール血清に比べ217%上昇した（ $n = 5$ ,  $p < 0.05$ ）。この効果は、ザイモサン活性化血清をコントロール血清で希釈を繰り返していくと漸減し、また血清がザイモサン活性化前に熱処理されていると阻害された。スプリット溶液としてのザイモサン活性化血清に加えたsuperoxide dismutase（SOD；200 U/ml）は $L_p$ の上昇効果を抑制しなかった。

ヒト血清でもザイモサン処置によって $L_p$ は137%上昇したが（ $n = 5$ ,  $p < 0.05$ ）、C6またはC8欠損血清ではザイモサン処理による $L_p$ の上昇はみられなかった。ザイモサン活性化ヒト血清から可溶性補体最終複合体SC5b-9を免疫沈降反応で除去すると $L_p$ は有意に低下し（ $n = 5$ ,  $p < 0.05$ ）、コントロール値に復した。血清中のSC5b-9値と $L_p$ は正の相関を示した（ $n = 31$ ,  $p < 0.05$ ）。 $CH_{50}$ 値は、ザイモサン活性化血清で5U/ml以下、コントロール血清で24U/mlであった。

薬物で前処置した肺で測定すると、ザイモサン活性化血清による $L_p$ の上昇はcyclooxygenase inhibitorであるindomethacin（ $10^{-6}$ ,  $10^{-4}M$ ）、melofenamate（ $10^{-4}M$ ）、およびthromboxone A2競合薬のSQ29548（ $10^{-4}M$ ）で阻害された。

ザイモサン活性化血清による $L_p$ 上昇は、カルシウムチャンネルブロッカーであるverapamilでは、高濃度（ $10^{-4}M$ ）では軽度ながら抑制されたが、低濃度（ $10^{-6}M$ ）では影響されず、nifedipine（ $10^{-6}M$ ）でも影響されなかった。

Arg-Gly-Asp tripeptideを微小穿刺注入した前処置した（1 mg/ml, 10分）細静脈では、ザイモサン活性化血清によって $L_p$ は低下した。

#### （結語）

胸膜直下の肺の単一細静脈において、血清総蛋白に対する水力学的コンダクタンス $L_p$ と反射係数 $\sigma$ を決定した。サイモサン活性化血清による $L_p$ の上昇は1分以内に起こる早い反応であり、かつ濃度依存的であり、白血球を介さないものと考えられた。この効果は補体の最終複体のうち、膜攻撃因子mC5b-9によるものではなく、血清中のSC5b-9によると考えられる。またその作用機序は、レセプターを介した血管内皮細胞のアラキドン酸代謝産物に依存して起こることが示唆された。

## 審 査 の 要 旨

本研究は、成人呼吸促迫症候群の成因の究明に関連するという臨床医学的意義を有し、また生理学的にもそれ自身が重要な主題である、肺の微小血管の透過性の亢進のメカニズムの究明を目的としたものである。実験は生体顕微鏡法を基礎として、新しく開発されたスプリット・ドロップ法を用いて、多数の精密な測定を行っており、実験結果の信頼性は高い。肺の毛細血管の著しい透過性の亢進が補体の最終複体によるという明快な結論は、この分野の臨床的、基礎的な研究に資するところが多く、学術的価値は高く評価できる。透過性の亢進のメカニズムについては、カルシウムイオンの関与など検討を要する課題も残されているが、実験の量と質は十分にあり、本研究の価値を殺ぐものではない。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。