

氏名 (本籍)	恩 田 芳 郎 (岐阜県)
学 位 の 種 類	博 士 (医学)
学位授与番号	乙 第 9 9 9 号
学位授与日付	平成 7 年 9 月 13 日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	ブレオマイシン肺線維症の発生機序と抑制に関する実験的研究 (Ⅴ) 特にカタクロットとインドメサシンの抑制効果の比較について
審 査 委 員	(主査) 教授 岡 伸 光 (副査) 教授 高 見 剛 教授 植 松 俊 彦

論 文 内 容 の 要 旨

Bleomycin (BLM) は、水溶性塩基性ペプチド系抗生物質で、扁平上皮癌の治療に対する抗腫瘍効果が高く、口腔癌の化学療法で頻用されている。しかし、副作用として肺に対して不可逆性の障害を併発し、重篤な肺線維症に至ることが知られている。この肺線維症の発生機序に関しては、従来より病理組織学的、生化学的研究が行われてきているが、いまだ十分明らかにされていないのが現状である。BLMによる肺線維症で見られる初期病変における血管透過性亢進には、トロンボキサン A_2 (TXA $_2$) が重要な役割を演じていると考えられている。

今回、著者らは、ICRマウスのBLMによる肺線維症に対して、非ステロイド系抗炎症剤であるindomethacin (INDO) とTXA $_2$ 合成阻害剤のcataclot (CATA) の併用を行い、光顕的な経時の変化を観察した。また、生化学的にはコラーゲンに特異的なアミノ酸であるヒドロキシプロリン (Hyp) 量の推移を比較し、肺線維症に対する抑制効果を検討した。

実験材料および方法

実験動物として生後15週齢の雌性ICRマウスを使用し、投与薬剤別に4群に分類した。Ⅰ群はBLM7.5mg/kg単独投与群、Ⅱ群はBLM7.5mg/kgとINDO 2 mg/kgの併用群、Ⅲ群はBLM7.5mg/kgとCATA30mg/kgの併用群とした。Ⅳ群はcontrol群 (CTL) とした。薬剤の投与方法、期間については、BLMは連日10日間腹腔内投与を行った。それぞれの薬剤はBLMと同時に投与開始し屠殺前日まで連日腹腔内投与を行い、1週、3週、5週後に各群を8-10匹としエーテル吸入麻酔下で断頭し屠殺後、脱血させ肺を摘出した。左肺を光学顕微鏡 (光顕) 標本用とし、右肺の乾燥重量をHyp定量用とした。さらにBLM単独群における右肺組織中のトロンボキサン B_2 (TXB $_2$) 量の測定をした。また、3週群のみにおいて各薬剤の用量作用関係を検討し、CATAは15mg、INDOは1mgの用量を投与し屠殺後、右肺の乾燥重量をHyp定量用として3週後のBLM単独群およびコントロール群と比較した。光顕的観察として摘出した左肺を、ヘマトキシリンエオジン染色、アザンマロリー染色、コラーゲン染色を行い、肺線維症の組織学的変化を観察した。さらに、コンピュータ画像解析装置を用いて線維化した部分の面積を線維化面積比 (%) として評価した。Hypの定量法はProckopの方法に従ってエールリッヒ試薬で発色させ、分光光度計を用いてHyp量を測定し、右肺の乾燥重量100mgあたりの総Hyp量 (mg/100mg) を算出した。

実験結果

マウスの体重変動は、薬剤投与開始5-7日目から、徐々に体重の減少がみられたが、各群ともに有意差は認められなかった。右肺湿重量では、Ⅳ群と比較してⅠ群の湿重量は有意に増加し、Ⅰ群の湿重量の増加に対してINDO、CATA併用群は、抑制傾向がみられた。トロンボキサン量は、3週群にトロンボキサン B_2 量が、増加傾向にあり有意差を認めた。しかし、5週群では1週群と同等量を示した。光顕的所見は、Ⅰ群の所見として投与1週後では、胸膜下、肺胞周囲、血管周囲に炎症性細胞浸潤があり、軽度のコラーゲン線維の増生を認めた。投与3週後では、胸膜は、さらに線維性に肥厚し、コラーゲン染色により赤染するコラーゲン線維の過増生に伴い肺胞腔の狭小化ないし消失が認められた。さらに、投与5週後では、線維芽細胞、コラーゲン線維は、さらに著明

に増生し、線維化巣は胸膜下から肺中心部にいたるまで広範囲に認められた。Ⅱ群、Ⅲ群の所見では、投与1週後では、後述のⅣ群と同様な組織像であった。3週後では、肺胞腔の狭小化やフィブリンの析出、増加は軽度で基本的肺胞構造が保たれた状態であった。5週後においても、3週後の所見と大きな変化はなかった。Ⅳ群の所見としては、1週から5週にかけて肺線維症の初期にみられる胸膜下の線維化巣や肺胞上皮の腫大、胞隔の浮腫状の肥厚などは認められなかった。線維化面積の経時的推移では、Ⅰ群は、CTL群と比較すると経時的に線維化面積の増加を示した。Ⅰ群と比較して、Ⅱ群、Ⅲ群、共に、光顕的には肺組織中における線維化の抑制傾向を示した ($P<0.05$)。肺組織一定重量あたりのHyp量の経時的推移では、Ⅳ群は、日数の増加による増齢とともに軽度の増加を示した。Ⅰ群では、投与後、増加傾向を示し、経時的にHyp量の増加を示した。Ⅱ群、Ⅲ群においては、1週では、Ⅳ群とほぼ同等のHyp量であった。3週から5週にかけては、増加傾向を示し、Ⅱ群では、Ⅰ群と比較して5週において有意差を認め、Ⅲ群においては、同じくⅠ群と比較して3週に有意差を認めた ($P<0.05$)。3週後の肺組織一定重量あたりのHyp量に及ぼす薬物の用量作用関係では、Ⅰ群と比較して、Ⅱ群においては、1mgと2mg/kgの投与量では、ほとんど差のない抑制作用であったが、Ⅲ群においては、15mgから30mg/kgと投与量を増大するにつれ抑制作用も増強し、CATAは用量依存性に抑制効果を示した ($P<0.05$)。

考 察

BLM肺線維症の初期病変は、3つの構成部分で特徴づけられ、第一に広範な間質の水腫の所見、第二に水腫に引き続いて、リンパ球、形質細胞などの細胞浸潤の所見、第三に、肺胞腔内に多数の肺胞マクロファージが存在する所見である。水腫の出現によって肺胞壁の拡大や肺胞の進展が局所でみられる。さらに進行した間質性水腫の結果、毛細血管の内皮細胞の剥離、細動脈や動脈の基底膜下に内皮膜下水泡を形成する。続いて、増殖期では、Ⅰ型肺胞上皮の壊死、フィブリンの肺胞腔内の付着、Ⅱ型肺胞上皮と線維芽細胞の増殖がおこり、全体として肺胞腔の狭小化が見られる。さらに、進んだ時期では、血管透過性亢進により、気管支動脈を栄養血管としている胸膜周囲より線維化が進行すると考えられた。組織学的な線維化の程度とHyp量との相関については、本実験では、Ⅰ群は1週から3週にかけてHyp量の増加傾向が強く、Ⅳ群と比較して3週と5週に有意差が認められた。光顕的な線維化像とHyp量とは、1週から5週まで経時的に両者とも増加傾向を示しており相関性が認められた。INDO、CATAの抑制効果については、INDOではシクロオキシゲナーゼ阻害剤であり、抗炎症作用、血小板凝集抑制作用を有し、同系のアスピリンは、血小板からのTXA₂の産生を阻害することにより抗血小板作用を示すことから、本実験においても光顕像から明らかのように、膜像、肺胞上皮や血管周囲に軽度の線維化を認めたがBLM投与後の急性炎症によって発症すると考えられる線維芽細胞の増殖、コラーゲン線維の増生は著明に抑制された。CATAは強力な血小板凝集抑制作用と血管収縮抑制作用を有し、肺血栓によって放出すると考えられるTXA₂の白血球に対する作用、すなわち内皮細胞への粘着性の亢進が、CATAにより抑制されたため、結果として、肺組織中における肺線維症は有意に抑制され、また、3週後における肺組織中のHyp量の増加を用量依存性に有意に抑制した。このように、今回の実験では、INDOとCATAが、ICRマウスにおける肺線維症を抑制することが明らかになった。BLMによる血管内障害は凝固系異常によることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者 恩田芳郎はブレオマイシン肺線維症の発症に関し、トロンボキサンA₂が関与していることから、この合成阻害剤カタクロットを用い、線維化抑制効果をインドメサシンと対比し、カタクロットが用量依存性に抑制効果がある事を明らかにした。この結果は、ブレオマイシン肺線維症の発症予防に新たな知見を加え、癌の化学療法に寄与するところ大であると認める。

[主論文公表誌]

ブレオマイシン肺線維症の発生機序と抑制に関する実験的研究 (V)

平成7年5月発行 岐阜大医紀 43 (3) : 377~384