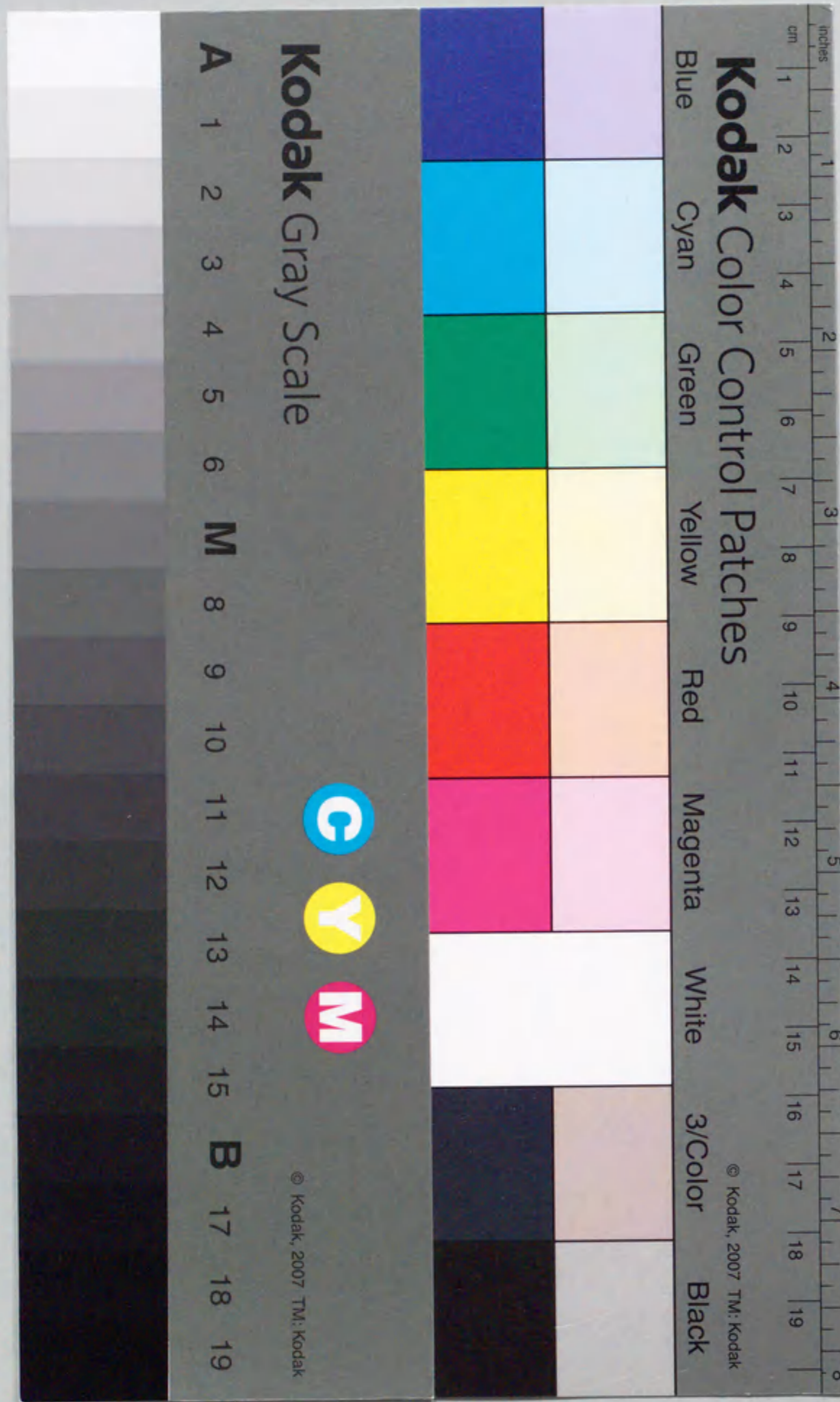


論文目録

岐阜大学

報告番号	乙第 999 号	氏名	恩田 芳郎
主論文			
1)	プ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 平成7年5月発行 岐阜大医紀 43 (3) : 377~384		1冊
参考論文			
1)	シャンピーチタンミニプレートを用いたBuckley-Terry法による習慣性顎関節脱臼の 外科的治験例 平成2年11月発行 日本口腔外科学会 36 (11) : 2596~2603		1冊
2)	顎関節内障を伴った下顎前突症の1例 平成3年3月発行 下呂病院年報 18 : 79~84		1冊
3)	顎関節症を伴った下顎前突症の1症例 平成6年3月発行 東海中病医誌 7 : 27~30		1冊



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

恩田 芳郎, 奥村 康明, 立松 憲親, 岡 伸光

岐阜大学医学部口腔外科学講座 (主任 岡 伸光教授)

Experimental Study on the Mechanism and Inhibition of Etiopathogenesis
of Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis (V)

Comparison of Inhibitory Effect between Cataclot and Indomethacin

Yoshirou ONDA, Yasuaki OKUMURA, Norichika TATEMATSU and Nobumitsu OKA

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Gifu University School of Medicine
(Director : Prof. N. OKA)

Reprinted from
ACTA SCHOLAE MEDICINALIS UNIVERSITATIS IN GIFU

Vol. 43 No. 3 May 1995.

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

恩田芳郎, 奥村康明, 立松憲親, 岡 伸光

岐阜大学医学部口腔外科学講座 (主任 岡 伸光教授)

Experimental Study on the Mechanism and Inhibition of Etiopathogenesis
of Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis (V)

Comparison of Inhibitory Effect between Cataclot and Indomethacin

Yoshiro ONDA, Yasuaki OKUMURA, Norichika TATEMATSU and Nobumitsu OKA

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Gifu University School of Medicine
(Director: Prof. N. OKA)

Although bleomycin (BLM) is a useful antineoplastic agent, it often produces pulmonary fibrosis as a side effect in a time or dose dependent fashion. The mechanism of induction of pulmonary fibrosis with BLM has not been elucidated, and methods to suppress the induction have not been established. To clarify the mechanism of induction and evaluate the potential agents for the prophylaxis, the pulmonary fibrosis was induced in 15-week-old ICR mice by administration of bleomycin with or without simultaneous administration of indomethacin (INDO) cataclot (CATA), and the lungs were examined histologically together with determination of the hydroxyproline content of the pulmonary tissues after one, three and five weeks of BLM administration.

Gradual degeneration of alveolar epithelial cells and fibrinous exudation were observed in the lungs of BLM group compared with the control group. There was an increase in fibroblasts after three weeks of administration, followed by a proliferation of a considerable amount of collagen fibers in the alveolar walls and lumens five weeks after administration. These changes spread from the subpleural areas towards the hilar portion. Damage of alveolar capillaries and inflammatory changes were also observed after three weeks of administration. Particularly, there was a marked reduction in the development of pulmonary fibrosis in the groups which were administered together with INDO, CATA. However, the tissue hydroxyproline content was gradually increased after BLM administration, and significantly lower levels of content were found in the group with INDO and CATA. A fair correlation was recognized between the criteria of the histopathologic changes and hydroxyproline content of the pulmonary tissues. It is concluded that INDO, CATA may exert an inhibitory effect on the induction of pulmonary fibrosis with BLM from the findings of the present study.

Acta Sch Med Univ Gifu 43:377-384 (1995)

Key words: pulmonary fibrosis, bleomycin, indomethacin, cataclot

緒 言

Bleomycin (以下BLMと略す)は1963年、梅沢¹⁾によって *Streptomyces verticillus* から産生された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。また予防・治療方法に関しても確立さ

れた治療法や効果的な薬剤はなく、動物実験において、ブレドニゾロン²⁾、チクロピジン³⁾、グルタチオン⁴⁾、ウロキナーゼ⁵⁾⁶⁾、ビタミンE⁷⁾などの併用により抑制効果があったという少数の報告がみられるにすぎない。臨床的にはステロイド投与が主に行われているが、その治療成績は不十分で、ステロイド以外の有効な薬剤もなく、適切な治療法が見出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変化では毛細血管内皮細胞への直接的作用により血管透過性が亢進し、胞隔に滲出性炎症が惹起され、肺胞上皮細胞の障害がおこり、線維芽細胞の増生⁸⁾および線維化へと進展する⁹⁾と考えられて

いる。また、初期病変における血管透過性亢進には、トロンボキサンA₂(以下TXA₂と略す)が重要な役割を演じていると考えられている¹⁰⁾。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(以下INDOと略す)とTXA₂合成阻害剤のcataclot(以下CATAと略す)の併用を行い、光顯的な経時的変化を観察した。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(以下Hypと略す)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

1. 動物実験および薬剤投与方法

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BLM(日本化薬社製)7.5 mg/kg 単独投与群、II群はBLM 7.5 mg/kg とINDO(萬有製薬社製)の併用群、III群はBLM 7.5 mg/kg とCATA(小野薬品製)30 mg/kgの併用群とした。IV群はcontrol群(以下CTLと略す)とし生理食塩水を体重40gあたり0.2 ml投与した。薬剤の投与方法、期間については、生理食塩水およびBLMは連日10日間腹腔内投与を行った。CATAは用時滅菌生理食塩水に溶解し、INDOは3% NaHCO₃水溶液に溶解し、それぞれ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(以下光顕と略す)標本用とし、右肺の乾燥重量をHyp定量用とした。

2. トロンボキサン量測定

BLM単独群における右肺組織中のトロンボキサンB₂(以下TXB₂と略す)量の測定をした。上記投与方法に従ってBLMを投与し、1週、3週、5週後に屠殺し右肺を摘出した。組織片を冷却エタノールにてホモジネートし、遠心分離器にて分離させ、エタノール部分を採取し、トロンボキサン量の測定をした。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た。投与方法はBLMと併用して上記の投与方法と同様に行い、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。

3. 光顯的観察

摘出した左肺を10%ホルマリン固定後、パラフィン包埋した。次いでパラフィン包埋薄切片(4 μm)を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、アザン・マロリー染色、およびコラーゲンスチインキット(コラーゲン技術研究会)を用いた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。組織学的な線維化の程度については、接眼マイクローメーター付の光学顕微鏡(日本光学社製、Microphot-S)を用いた。さらに、コンピューター画像解析装置(アップル社製マッキントッシュ Desk scan II)を用いて各プロットの切片全体の面積に対する線維化した部

分の面積を線維化面積比(%)として評価した。

4. Hypの定量法

摘出した右肺の血管、気管支を可及的に除き、アセトンを加え、洗浄後遠心(1200×g, 30分)を行った。アセトンは1日1回、計4回交換し脱脂後、乾燥重量を測定した。次いで乾燥肺に2 mlの6 N HClを加えて密封し110°Cで24時間加水分解後、トルエンで抽出した。Prockop¹¹⁾の方法に従ってキールリッヒ試薬で発色させ、分光光度計(日本分光工業株式会社製 U-Best 50型)を用いて560 nmの吸光度を測定することにより加水分解産物中のHyp量を測定¹²⁾し、右肺の乾燥重量100 mgあたりの総Hyp量(mg/100 mg)を算出した。

実験結果

1. マウスの体重変動

各群における薬物投与開始から屠殺するまでの体重変動は、I群、III群において、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(FIG. 1)。

2. 右肺湿重量

右肺湿重量は、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(FIG. 2)。

3. 右肺1 g/μlあたりのトロンボキサン量

トロンボキサン量は、1週群と比較して、光顯的(後述)に、線維化が著明であった。3週群にTXB₂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(FIG. 3)。

4. 光顯的所見

1) I群(BLM単独)の所見

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(FIG. 4)。特に、胸膜下の一部にコラーゲン線維の増生が著明に認められた。全般に肺胞上皮は、肥厚し血

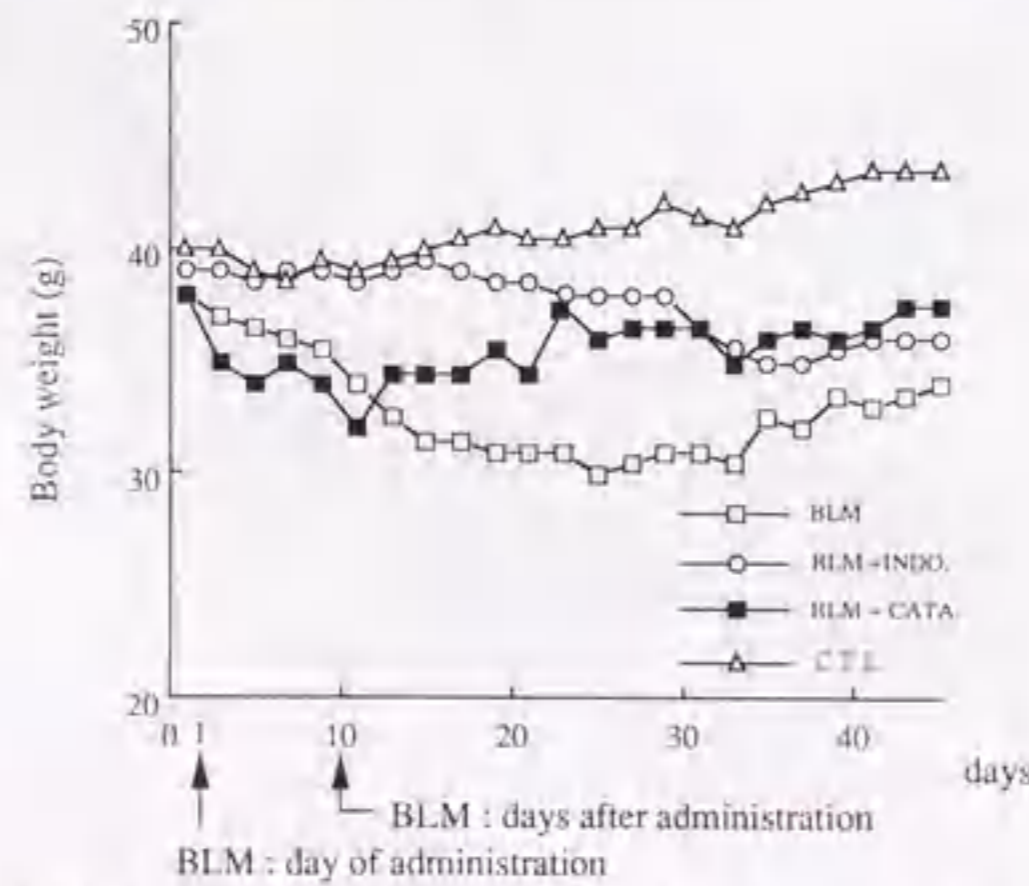


FIG. 1 Time-course changes of body weight of the mice

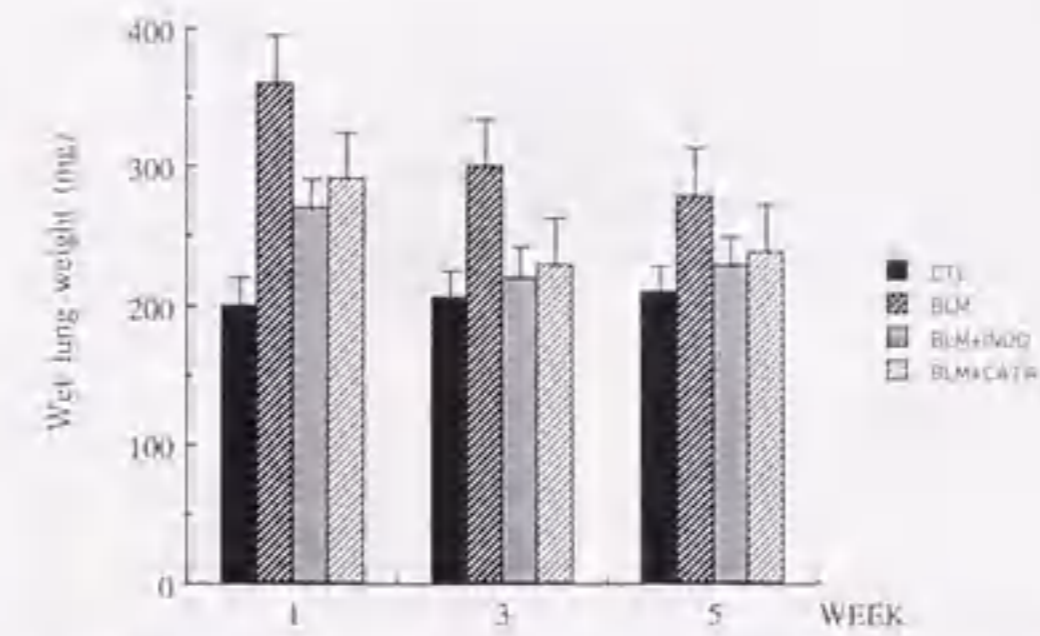


FIG. 2 Effect of indomethacin (INDO) and cataclot (CATA) on wet lung weight of mice treated with bleomycin (BLM). * : Statistical significance from the BLM at p<0.05.

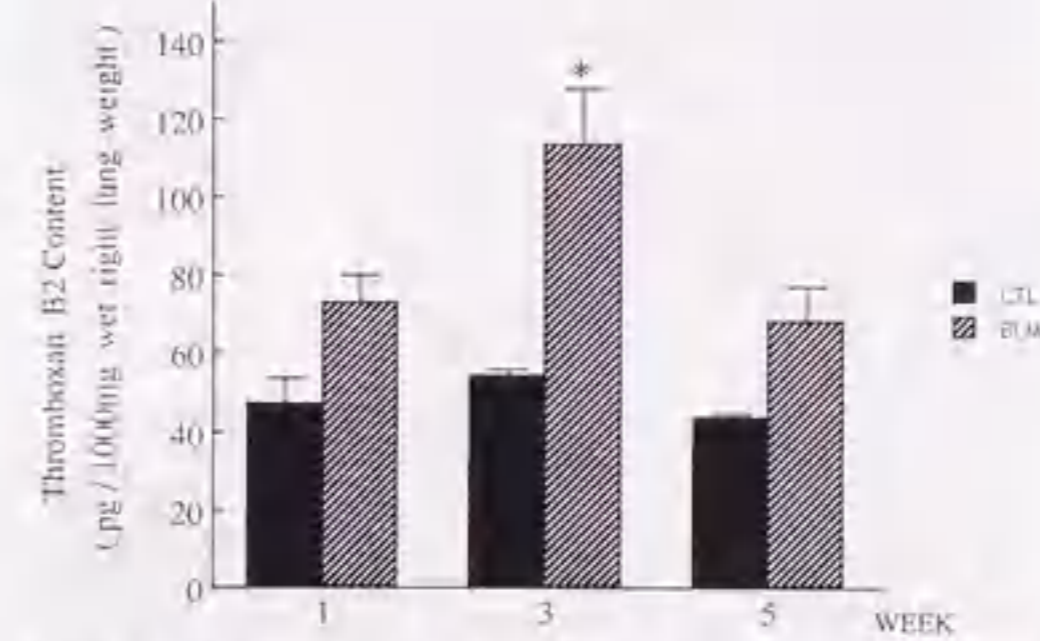


FIG. 3 Amount of thromboxan B2 in light lungs of mice treated with bleomycin (BLM). Data are means ± SEM; n=8~10 for each column. * : Statistical significance from the BLM at p<0.05.

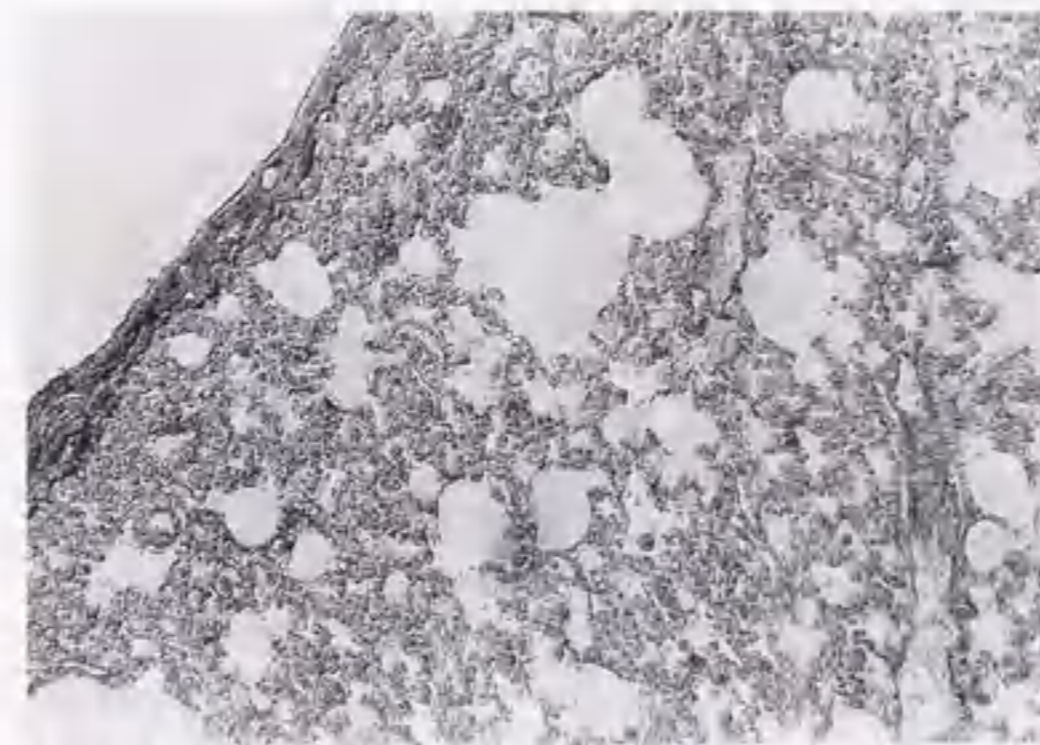


FIG. 4 Histopathology of the lung 1 week after administration of bleomycin (BLM). Preripheral lung tissue showing fibrosis only in the subpleural areas in a mouse. (×40, Collagen stain)

管内には血栓形成やフィブリンの析出がみられた。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る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。また、細気管支・血管周囲の炎症性細胞浸潤、線維化も増強し、フィブリンの析出、増加とともに、線維芽細胞などの増加傾向も認められた。気管支上皮は、肥厚化の所見があり扁平上皮化生が散見された(FIG. 5)。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、線維化は胸膜下から肺中心部にいたるまで広範囲に認められ、その分布は、血管や細気管支周囲の間質にまで、連続性に認められた。小動脈内には血栓形成も多くみられた(FIG. 6, 7, 8)。



FIG. 5 Histopathology of the lung 3 weeks after administration of bleomycin (BLM). Preripheral lung tissue showing fibrosis from the subpleural areas to interstitium. (×40, Collagen stain)

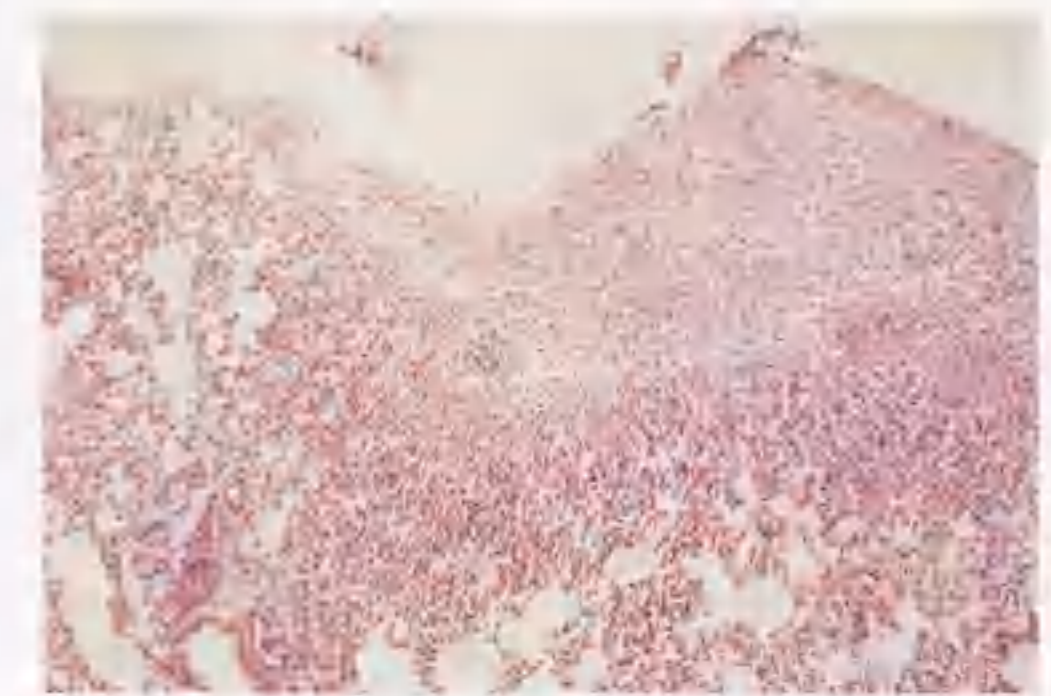


FIG. 6 Histopathology of the lung 5 weeks after administration of bleomycin (BLM). (×16, Hematoxylin-eosin stain)

2) II群(BLM+INDO), III群(BLM+CATA)の所見
 投与1週後では, II群, III群において, 肺胞上皮に軽度の腫大を認める程度で, 後述のIV群と同様な組織像であった。III群では, 一部の胸膜下にコラーゲン線維が散見されるのみであった。3週後では, 胸膜, 肺胞上皮や血管周囲に軽度の線維化を認めたが, 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く, 胸膜下および気管支, 血管の周囲に軽度のコラーゲン線維の増生と, 一部の間質に線維化の

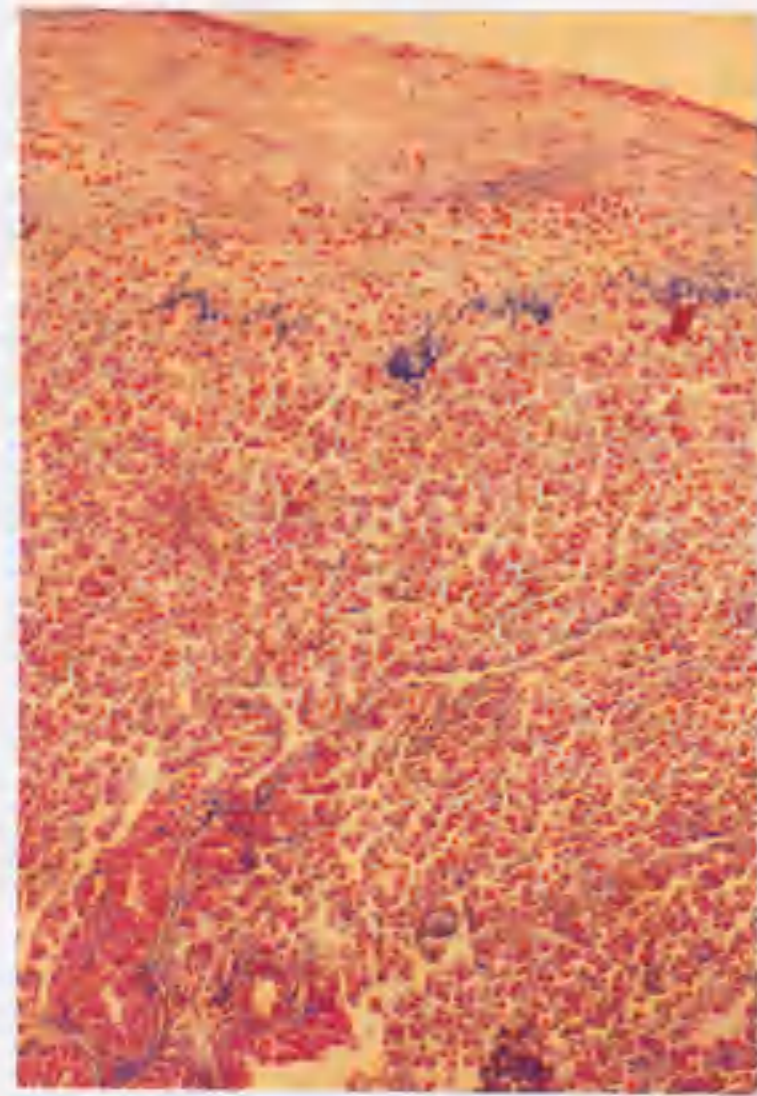


FIG. 7 Histopathology of the lung 5 weeks after administration of bleomycin (BLM).
 (×40, Azan-Mallory stain)

所見が認められるのみで, 線維化増生の範囲は軽度であった。

3) IV群(生理食塩水投与)の所見

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。

5. 線維化面積の経時的推移

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, 光顯的に肺組織中における線維化の抑制傾向を示した(p<0.05)(FIG. 9)。

6. 肺組織一定重量あたりの Hyp 量の経時的推移

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

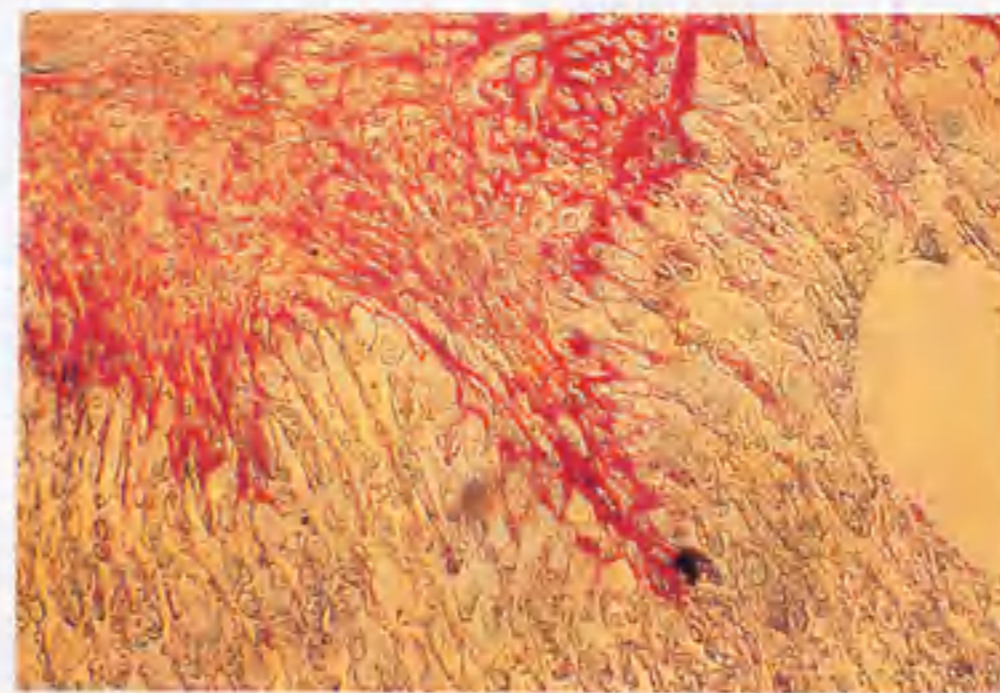


FIG. 8 Histopathology of the lung 5 weeks after administration of bleomycin (BLM). The fibrosis thickening of pleural and subpleural areas with prominent ectatic changes of alveoli are observed.(×40, Collagen stain)

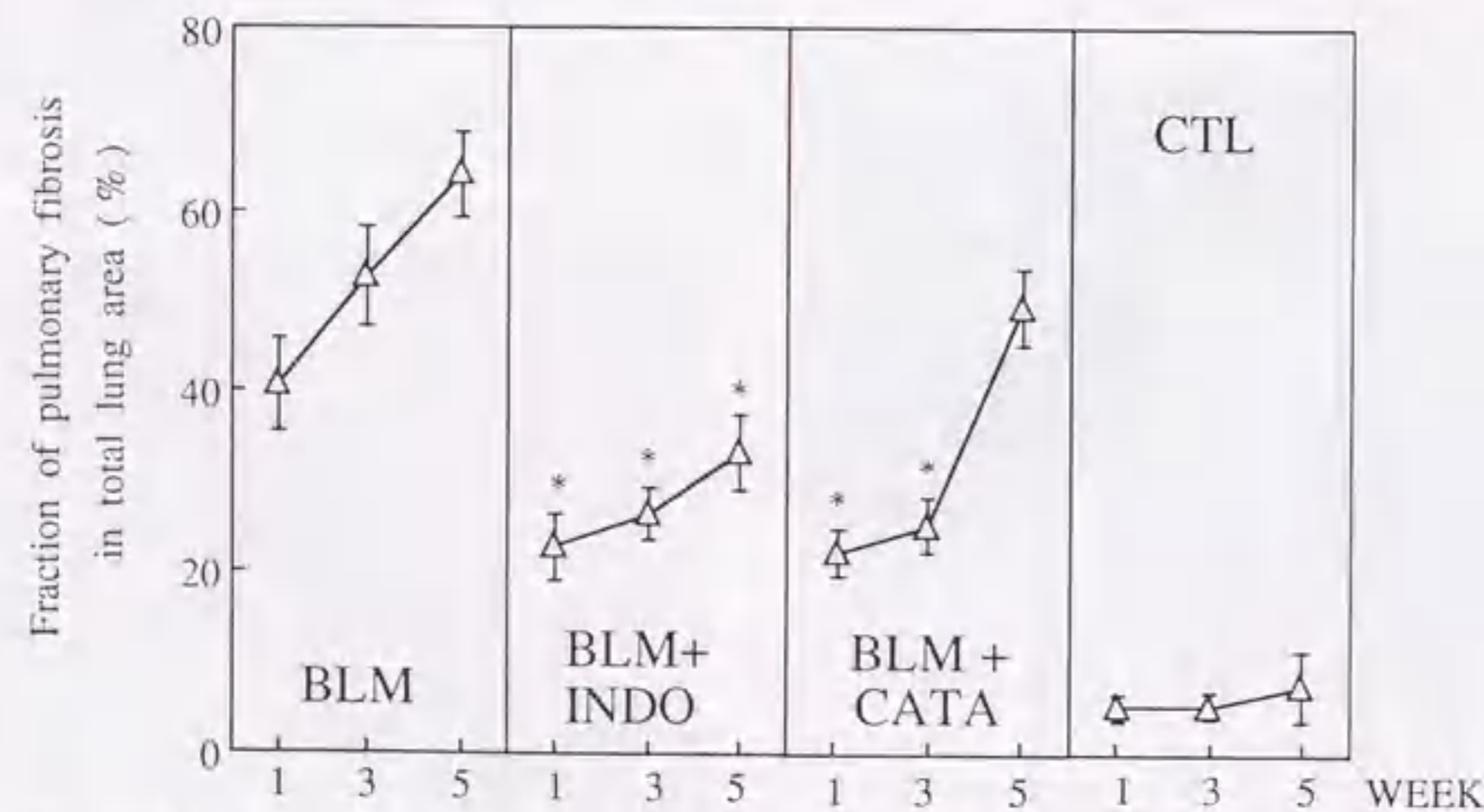


FIG. 9 Pulmonary fibrosis in total lung area of the specimens in BLM, BLM + INDO, BLM + CATA, CTL groups of the mice. *: Statistical significance from the BLM at p<0.05.

は, IV群とはほぼ同等の Hyp 量であった。3週から5週にかけて増加傾向を示し, 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)(FIG. 10)。

7. 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

I群と比較して, II群においては, 1 mg と 2 mg/kg の投与量で, ほとんど差のない抑制作用であったが, III群においては, 15 mg から 30 mg/kg と投与量を増大するにつれ抑制作用も増強し, CATA は用量作用関係のある明らかな抑制効果を示した(p<0.05)(FIG. 11)。

考 察

1. BLM 肺線維症の発生機序について

BLMにより発生する肺線維症の病理組織学的所見については既に詳細な検討結果が報告されている¹³⁾⁻²⁰⁾。マウスを用いた実験で, 初期変化は肺動静脈の内膜から始まり, その際, 内皮細胞が基底膜より遊離する所見が認められたという報告や実験的BLM肺炎で肺線維症障害の過程を電顯的に検討し, 毛細血管領域より肺動静脈にいたるレベルで血管内皮細胞の基底膜の剥離, それに続いてI型肺胞上皮細胞の壊死, II型肺胞上皮細胞の増生が見られたという報告がある¹⁴⁾¹⁵⁾。基本的には, 初期変化は間質や主要血管周囲に見られ, しばしば細気管支の結合組織に隣接した部位でも確認できる。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。統いて, 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⁹⁾, II型肺胞上皮と線維芽細胞の増殖がおり, 全体として肺胞腔の狭小化が見られる。Phanら²¹⁾は *in vitro* の実験でBLMが培養線維芽細胞の増生と同時にコラーゲン合成をも促進することを示している。本実験では, 血管内に多数の血栓形成や間質にフィブリンの析出がみられ, その周囲に線維芽細胞の集積が観察された。

さらに, 進んだ時期では肺胞腔内にもフィブリンが析出しており, BLMにより, 血管が障害されれば炎症が惹起され, 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思われる。この線維化の進行を抑制する実験報告として, 金田²²⁾が, BLMの線維化の促進として考えられるフィブリンは, ウロキナーゼによって, 溶解し肺線維症の発症を抑制できたと報告している。また, 奥村ら²³⁾は, アラキドン酸カスケードから産生される血小板凝集作用のあるTXA₂と拮抗するPGI₂を投与し, 肺線維症を抑制できたと報告している。以上のことから, 線維症の原因の1つとして何らかの凝固因子が関与していると考えられ, 我々は, 実験結果から肺線維化の進行に伴ってTXB₂も増加していることと, 奥村ら²³⁾の実験で, PGI₂の抑制効果が強いことに着目し, PGI₂誘導体のCATAとINDOを併用し実験を試みた。

2. 組織学的な線維化の程度と Hyp 量との相関について

Hypはコラーゲン以外の蛋白質には含まれないためHyp量を生化学的に測定することより肺組織中のコラーゲン量の推定を行うことができる²²⁾。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

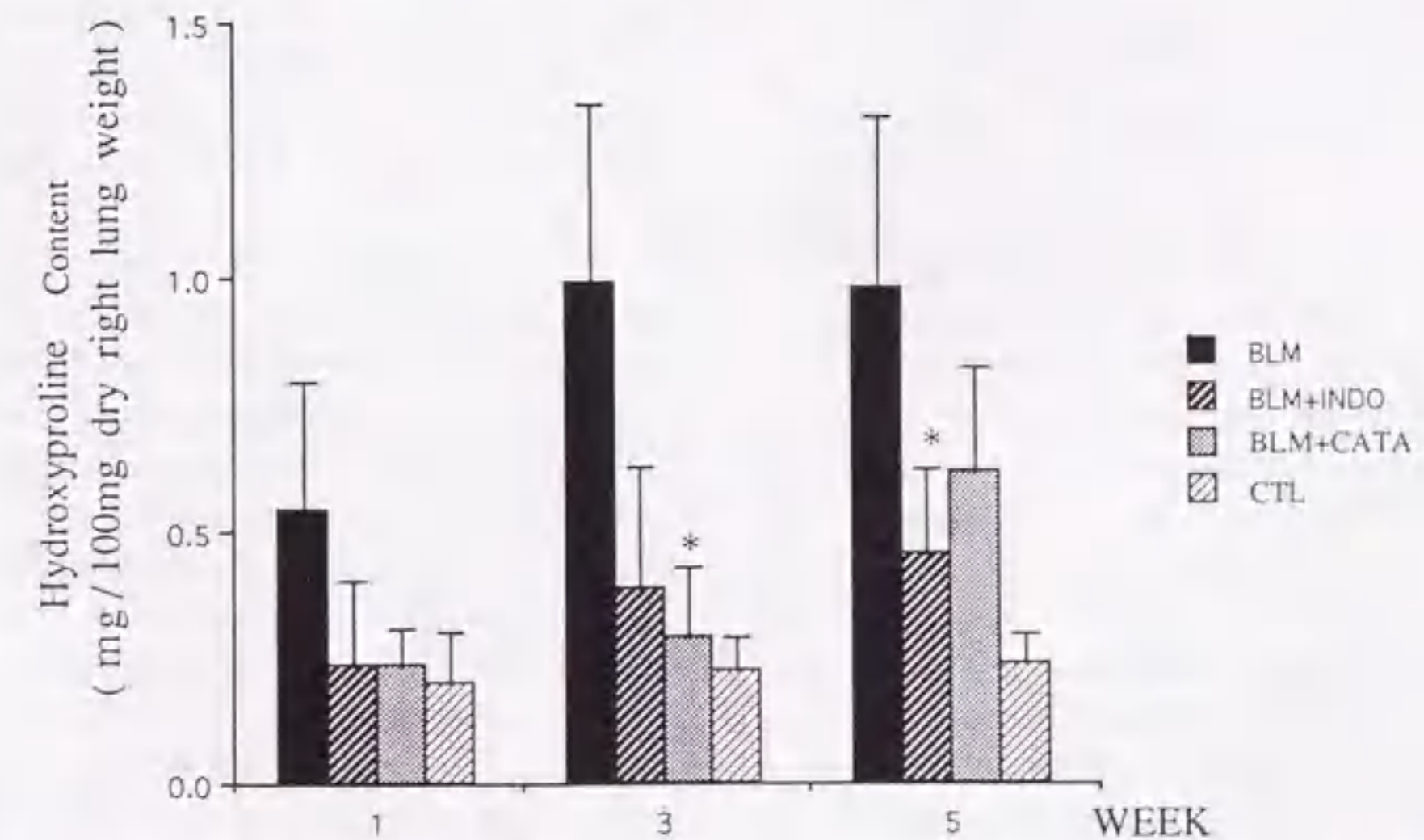


FIG. 10 Effect of indomethacin(INDO) and cataclot(CATA) on hydroxyproline content in light lungs of mice. Data are means ± SEM; n=8-10 for each column. *: Statistical significance from the BLM at p<0.05.

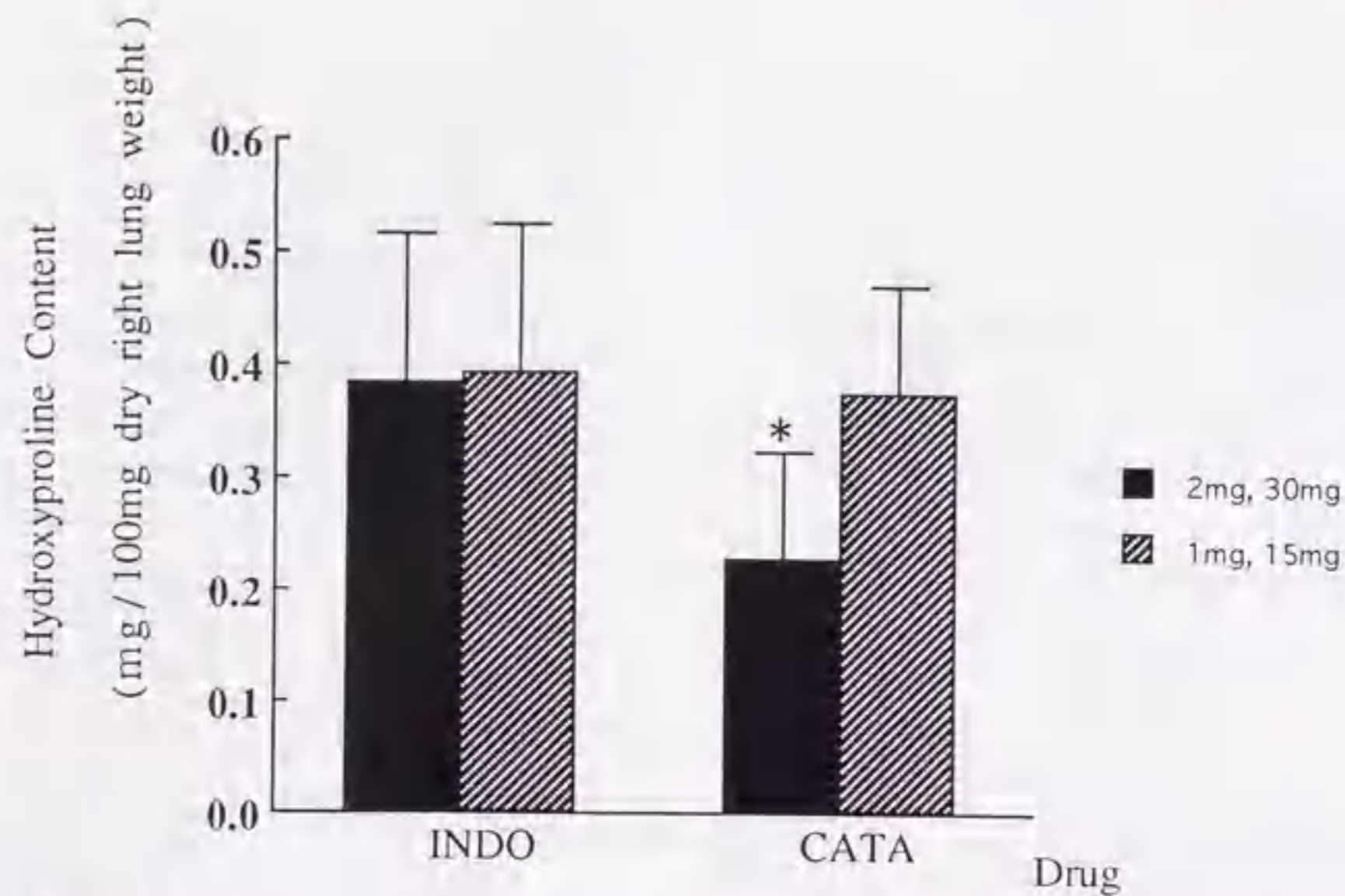


FIG. 11 Effect of indomethacin (INDO) and cataclot (CATA) on hydroxyproline in light lungs on 3 weeks after administration of mice treated with bleomycin (BLM).

*: Statistical significance from the BLM at $p < 0.05$.

較して3週と5週に有意差が認められた。木内²⁴⁾は、ハムスターにBLM 5.0 mg/kg 連日10日間投与5週で対照群と比較してHyp量が27%増加を認めたと報告している。次に肺組織のHyp量と病理組織学的な線維化の程度との関連性については、鬼塚ら²⁵⁾および内原²⁶⁾が実験的肺線維症において、組織像での線維化の程度とHyp量との間に相関関係があったと報告している。本研究においても、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に増加傾向を示しており相関性が認められた。

3. INDO, CATAの抑制効果について

これまでBLM肺線維症の抑制にステロイドホルモン²⁷⁾、シクロオキシゲナーゼ阻害剤²⁸⁾、エラスターゼ²⁹⁾、ウロキナーゼ³⁰⁾、マトロキシジン³¹⁾、ニトログリセリン³²⁾、プロスタサイクリン³³⁾などが有効であったとの報告がみられる。ステロイドホルモンは、細胞膜を安定化して抗炎症作用を示し、アラキドン酸カスケードの進行を阻害することにより、血小板凝集阻害作用を示し、ホルタレンは、アラキドン酸カスケードにおけるシクロオキシゲナーゼ活性を阻害することによりPGE₁生成を抑制しコラーゲン生成と線維芽細胞の増殖を抑制するとの報告がある³⁴⁾。エラスターゼ、ウロキナーゼに関してはその併用により光顕的、電顕的に肺胞毛細血管障害とそれに続く炎症性変化、さらに線維芽細胞の増殖が抑制されることが確認されており³⁵⁾、またHyp量の生化学的定量からもコラーゲン線維の増加が著明に抑制されることが確認されている³⁶⁾。すなわち、エラスターゼはコラーゲンの分解を促進し、またウロキナーゼは血管透過性の亢進によって析出したフィブリンを溶解し線維芽細胞の増殖を抑制する

と考えられる。またニトログリセリンは、血管内皮細胞からのPGI₂産生を促進して血小板凝集を阻害することにより肺線維症を抑制しようとの報告もみられる³⁷⁾。チクロピジン³⁸⁾は、adenylcyclaseを活性化して血小板凝集阻害作用を示すことより、血管内皮細胞の障害の他に存在する微小血栓を予防すると考えられている。また、PGI₂は、血小板凝集抑制作用、肺血管の拡張作用、好中球の血管内皮細胞への粘着性の抑制作用などにより、肺線維症が抑制されると報告されている³⁹⁾。肺線維症の初期変化である間質および肺胞腔における水腫様変化は、BLMの毛細血管内皮細胞に対する刺激が引き金となり内皮の変性を生じ、基底膜の変性とも相まって血管の透過性亢進を来すことによって惹起されると考えられる。肺水腫の病態とアラキドン酸代謝産物との関連では、まずアラキドン酸が肺血管攣縮を生じ血行力学的作用によって肺血管外水分量を増加させる。アラキドン酸による肺血管攣縮が、シクロオキシゲナーゼ阻害薬によって抑制されることなどから、血小板や白血球などの血液成分がアラキドン酸と反応してアラキドン酸代謝産物を放出する。その代謝産物の中で重要な役割を演じるものとして、肺血管に対する強い攣縮作用をもつTXA₂が考えられている。INDO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する。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。INDOについては、Thrallら²⁷⁾によって併用により、BLM単独群に比べ、血管透過性を低下させ、肺組織中Hyp量も減少したと報告しているが、本実験においても光顕像から明らかなように、胸膜、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、主に、脳神経外科領域において使用されている薬物である。TXA₂には、肺血管を攣縮するばかりではなく、血小板を凝集し、血管内皮細胞への白血球の粘着性を高めることによって、肺血管の透過性を亢進する可能性がある。ハムスターのBLMによる肺線維症において血小板由来のTXB₂の血中濃度が上昇したという報告²⁹⁾もみられ、今回の実験でも、1週から3週にかけてTXB₂の肺組織中濃度が上昇することが認められた。TXB₂はTXA₂より変換される³⁰⁾ことから、肺線維症におけるTXB₂の血中濃度上昇はアラキドン酸からのTXA₂産生の亢進を示唆する所見と考えられる。TXA₂の生合成阻害薬であるダブキゲンにより肺血管透過性の亢進が抑制されたとの報告¹⁰⁾もみられるが、本研究においても、肺血管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であると考えられた。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、Hyp量についても、3週から5週にかけて、軽度上昇したものの、1群と比較して有意に低値を示した。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。このことは肺における線維芽細胞やコラーゲン増殖の抑制作用を示唆しており、両薬物は前述のような作用機構が相まって肺線維症に対して抑制効果をもたらされたものと考えられた。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しよう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と示唆されたが、これらの薬剤を併用することによる抗腫瘍作用に与える影響や臨床的に使用する際の投与量、投与方法などについて、今後、検討を要すると思われた。

結 語

BLMにより発症する肺線維症の発生機序およびINDO, CATAの線維化抑制効果を明らかにするため、ICR系マウスを使用し、実験的肺線維症を発症させると同時にINDO, CATAの併用を行い、病理組織学的検索と、肺組織中のHyp量の推移を経時的に検索し、以下の結果を得た。

1. BLMによる肺線維症は、病理組織学的には、初期において、胸膜下、肺胞周囲、血管周囲の炎症性細胞浸潤から始まり、次第に、胸膜下のコラーゲン線維の増生、肺胞上皮の肥厚、血管内の血栓形成、フィブリンの析出が認められ、さらに、線維芽細胞の過増生とともに、線維化が進行することが示唆された。

2. BLM単独投与群において、TXB₂量は、1週から3週にかけて有意に増加し、初期変化でみられる血管透過性亢進には、TXA₂の関与が示唆された。

3. BLMとINDO, CATAとの併用により、初期変

化に見られる血栓形成、フィブリンの析出が抑制された。また、線維芽細胞およびコラーゲン線維の増生も抑制され肺胞構造が維持された。線維化面積比については、CTL群と比較して、BLM単独投与群は有意に増加し、INDO, CATA併用群は、BLM単独投与群と比較して、低値を示し、抑制傾向を示した。

4. 肺組織中のHyp量は、BLM単独投与群では、投与後、経時的に増加傾向を示した。INDO, CATA併用群では、BLM単独投与群と比較して、有意に低値を示し、INDO併用群では、5週において有意差を認めCATA併用群では、3週において有意差を認めた ($P < 0.05$)。

5. 組織学的な線維化の程度を検索した結果、線維化面積比とHyp量との間には、相関性が認められた。

6. 3週後における、INDO, CATA併用群の用量別にみたHyp量に関しては、INDO併用群は、1 mg/kgと2 mg/kgでは、軽度の差の効果であったが、CATA併用群では、15 mg/kgと30 mg/kgとに有意な抑制作用があり、用量作用関係が認められた ($p < 0.05$)。

以上の結果から、BLMによる肺線維症は血管内障害に始まり、凝固系異常による血管透過性亢進が一因であると考えられた。またINDOおよびCATAは、生化学的、病理組織学的に肺線維症の発症を抑制することが明らかになった。

本論文の要旨は第39回日本口腔外科学会総会(1994年10月、名古屋)において発表した。

文 献

- 1) 梅沢浜夫: ブレオマイシン (Bleomycin) に関する研究. 癌の臨床 13, 735 (1967)
- 2) 沼本久雄: <ブレオマイシン肺腫瘍作用に対する防止薬の基礎検討. 制癌剤の至適投与方法研究会記録 7, 74-78 (1986)
- 3) 岡田峯明, 沼本久雄: 抗血小板剤のブレオマイシン類肺毒性に及ぼす影響. 制癌剤の至適投与方法研究会記録 8, 8-17 (1987)
- 4) 岡山久義, 藤田 浩: Bleomycinによる実験的肺毒性およびそれに関連する因子について. 制癌剤の至適投与方法研究会記録 8, 18-24 (1986)
- 5) 白日高歩, 広瀬宜之, 松葉健一, 重松信昭: 抗癌剤 (ブレオマイシン) による肺障害の発生機序ならびにその防止に関する実験的研究. 日胸疾患会誌 21, 812-822 (1983)
- 6) 重松信昭, 白日高歩, 鬼塚黎子, 林 栄治: ブレオマイシン肺腫瘍の実験的研究—病理学的ならびに生化学的検討. 厚生省特定疾患肺線維症調査研究班報告書 123-126 (1977)
- 7) 沼本久雄, 山下 巧, 山口忠保子, 松田 明: マウスのブレオマイシン肺線維症に対するビタミンEの発生子防効果について. 癌と化療 2, 349-353 (1978)
- 8) 長田 博, 長谷川 淳, 武井秀昭, 小原 豊, 川上義和:

- 多発性肺微小血栓症に続発する肺線維症成立機序に関する研究. 血と脈管 **15**, 270-273 (1984)
- 9) 池田東吾, 広瀬宣之, 古藤 洋, 平野裕志, 重松信昭: 肺線維化病態におけるフィブリン沈着と線溶系. 日胸疾患会誌 **27**, 448-451 (1989)
- 10) 広瀬隆士: 肺水腫. 現代医療 **18**, 2642-2649 (1986)
- 11) Prockop DJ, Udenfriend S: A specific method for the analysis of hydroxyproline in tissues and urine. *Anal Biochem* **1**, 228-239 (1960)
- 12) Kivirikko KI, Laitinen O, Prockop DJ: Modifications of a specific assay for hydroxyproline in urine. *Anal Biochem* **19**, 249-255 (1967)
- 13) Bedrossian CWM, Luna MA, Mackay B, Lightiger B: Ultrastructure of pulmonary bleomycin toxicity. *Cancer* **32**, 44-51 (1973)
- 14) Jones AW, Reeve NL: Ultrastructural study of bleomycin-induced pulmonary changes in mice. *J Pathol* **124**, 227-233 (1978)
- 15) Adamson IYR, Bowden DH: The pathogenesis of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Am J Pathol* **77**, 185-190 (1974)
- 16) Fleischman RW, Baker JR, Thompson GR, Schaeppi UH, Illievski VR, Cooney DA, Davis RD: Bleomycin-induced interstitial pneumonia in dogs. *Thorax* **26**, 675-682 (1971)
- 17) Burkhardt A, Holtje WJ, Gebbers JO: Vascular lesions following perfusion with bleomycin. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* **372**, 227-236 (1976)
- 18) Shirakusa T, Shigematsu N: Ultrastructural study of bleomycin toxicity in lung in rats. *Med Bull Fukuoka Univ* **6**, 345-351 (1979)
- 19) Daskal Y, Gyorkey F, Gyorkey P, Busch H: Ultrastructural study of pulmonary bleomycin toxicity. *Cancer Res* **36**, 1267-1272 (1976)
- 20) 岡村明治: プレオマイシンの治療効果とその副作用である肺病変の病理組織学的研究. 日胸疾患会誌 **11**, 325-345 (1973)
- 21) Phan SH, Thrall RS, Ward PA: Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats, Biochemical demonstration of increase drate of collagen synthesis. *Am Rev Respir Dis* **121**, 501-506 (1980)
- 22) 金田式世: プレオマイシン肺線維症の発生機序と抑制に関する研究. 岐阜大医紀 **34**, 240-279 (1986)
- 23) Chandler DB, Young K: The effect of Diclofenac Acid on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in hamsters. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **38**, 9-14 (1989)
- 24) 木内英則: ペプレオマイシン (PEP) の肺線維化能に関する研究. 日胸疾患会誌 **21**, 823-828 (1983)
- 25) 鬼塚黎子, 住吉昭信, 林 栄治, 北野正二郎, 浜田七郎, 黒木龍郎, 久光富貴子, 木村三男, 杉山浩太郎, 重松信昭: N-methyl-N-nitro-sourethane 実験肺線維症の進展過程における生化学的研究. 日胸疾患会誌 **15**, 490-497 (1977)
- 26) 内原啓允: 実験的肺線維症における hydroxyproline 量と病理組織学的所見との関連に関する研究. 奈良医誌 **18**, 478-490 (1967)
- 27) Thrall RS, McCormick JR, Jack RM, McReynolds RA, Ward PA: Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in the rat, Inhibition by indomethacin. *Am J Pathol* **95**, 117-127 (1979)
- 28) 奥村康明, 土井田 誠, 金田式世, 立松憲親, 岡 伸光: プ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. 岐阜大医紀 **41**, 740-754 (1993)
- 29) David BC, Shri NG: Changes in plasma concentrations of prostaglandins and plasma angiotensin-converting enzyme during bleomycin-induced lung fibrosis in hamsters. *Am Rev Respir Dis* **128**, 71-76 (1983)
- 30) 多田道彦: プロスタグランジン. 東京, 化学同人, 1988. 56p

