

氏名(本籍) 浅井稔博(岐阜県)  
 学位の種類 博士(再生医科学)  
 学位授与番号 甲第683号  
 学位授与日付 平成18年9月13日  
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
 学位論文題目 A SPECIFIC FREE RADICAL SCAVENGER,  
 EDARAVONE,SUPPRESSES BLEOMYCIN-INDUCED ACUTE PULMONARY  
 INJURY IN RABBITS  
 審査委員 (主査) 教授 藤原久義  
 (副査) 教授 犬塚 貴 教授 高見 剛

### 論文内容の要旨

ブレオマイシンを気管内投与することで急性期の肺の炎症・慢性期の肺線維症が惹起される。最近の研究においてブレオマイシンの気管内投与により活性酸素類の発生を認め、それによって起こるアポトーシスやTGF- $\beta$ の過剰発現・コラーゲンの産生を認めることが炎症や線維化の増悪に大きな役割を果たしていることと示されている。また、MMPはブレオマイシン肺障害において重要な役割を果たしている可能性が有るという報告がある。

フリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンは脳梗塞の急性期治療における神経保護因子である。また、エダラボンはウサギにおける脳梗塞や一過性脳虚血発作において保護的な効果を持っている。このようにウサギにおける活性酸素を介して起こるブレオマイシンによる肺障害はエダラボンにより改善する可能性が推測される。そのため、この実験ではウサギでのブレオマイシンによる急性肺障害へのエダラボンの治療効果の評価を目的とした。

#### 【対象と方法】

急性肺障害モデルとして日本白色ウサギにブレオマイシンを気管内投与して肺に急性炎症を誘発させたものを対象とした。

実験は①ウサギの気管内に生理的食塩水のみを投与した群、②2mg/kgのブレオマイシンを気管内投与した群、③3mg/kg/dayのエダラボンを10日間静脈投与し、第3日目に2mg/kgのブレオマイシンを気管内投与した群の三つの群を作成した。そして各々のウサギはブレオマイシン投与後7日目に静脈麻酔を用いて sacrifice した。

得られた組織を組織学的検討 (interstitial inflammation, alveolar inflammation, peribronchial inflammation, interstitial fibrosis, peribronchial fibrosis), 免疫組織学的検討 (MMP-1, TGF $\beta$ , TUNEL 染色) を行った。

#### 【結果】

- ①組織学的検討：コントロール群と比べてブレオマイシンのみの投与群では肺胞の虚脱・肺胞壁の肥厚・リンパ球好中球好酸球繊維芽細胞等を含む炎症細胞の浸潤が認められた。これらの病理的所見がエダラボン投与群では明らかに改善していた。同様にコントロール群と比べてブレオマイシンのみ投与群では気管周囲・間質の繊維化の増加を認めたが、この増加はエダラボン投与によって妨げられた。
- ②免疫組織染色：アポトーシスを示すTUNEL陽性細胞はコントロール群ではほとんど認められないがブレオマイシン投与群では気管支上皮細胞・気管支周囲の肺胞上皮細胞において明らかに増加していた。しかし、ブレオマイシンとエダラボン投与群では明らかに陽性細胞が減少していた。コントロール群のTGF- $\beta$ 陽性細胞は主に肺胞内に浸出しているマクロファージや間質の紡錘型細胞に認められた。ブレ

オマイシンのみ投与群ではコントロール群と比べてTGF- $\beta$ 陽性細胞は明らかに増加していた。しかし、その増加はブレオマイシンとエダラボン投与群では明らかに減少していた。コントロール群においてMMP-1陽性細胞は気管支上皮細胞、肺胞内に浸出しているマクロファージや間質の紡錘型細胞に認められた。コントロール群と比べるとブレオマイシンのみ投与群・ブレオマイシンエダラボン投与群において明らかにMMP-1陽性細胞が増加していた。ブレオマイシンのみ投与群とブレオマイシンエダラボン投与群との間には陽性細胞数の優位な違いは認められなかった。

#### 【考察】

ブレオマイシンによる急性肺障害では肺胞虚脱・肺胞中隔の肥厚・間質への炎症細胞の滲出が認められた。この研究ではブレオマイシン投与3日前からの10日間のエダラボンの静脈投与によりブレオマイシン投与7日後の急性炎症所見を改善した。このようにエダラボンの前投与によりブレオマイシン投与による急性肺障害を抑制する。ブレオマイシンによる線維化は慢性期に過剰発現する。この実験のように急性期における線維化はマイルドであった。この線維化の増加もエダラボン投与により抑制した。しかしながら、慢性期に関しては今後検討が必要である。ブレオマイシンを気管内投与するとアポトーシスによって気道上皮細胞や肺胞上皮細胞での細胞死が誘導、TGF- $\beta$ の過剰発現による間質の線維化の増加が知られている。このことはこの研究においても認められた。また、collagenaseであるMMP-1は肺の基底膜コラーゲンや他の細胞外構成物分解することにより肺胞壁構造を破壊することができる。この研究ではブレオマイシングループでMMP-1の増加を認めている。この研究ではエダラボン投与によってアポトーシスとTGF- $\beta$ 過剰発現が抑制された。それゆえエダラボンの効果のメカニズムにはアポトーシスやTGF- $\beta$ の抑制がかかわっているかもしれない。最近の研究ではエダラボンによるアポトーシスやTGF- $\beta$ の抑制はフリーラジカルスカベンジャー効果によるものであると示されている。活性酸素類はブレオマイシン肺障害に重要な役割を果たしていることが知られている。エダラボンはヒドロキシラジカルとペルオキシダーゼ障害の抑制することが知られている。このようにエダラボンの効果のメカニズムはフリーラジカルスカベンジャーとしての効果と考えられているがこの実験ではフリーラジカル自身は測定していない。

#### 【結論】

エダラボンの静脈投与はブレオマイシンによる急性肺障害を抑制した。その効果はラジカルスカベンジャーとしてのエダラボンの効果に関連している可能性が有る。

### 論文審査の結果の要旨

申請者 浅井 稔博は、ブレオマイシンによる急性肺炎症においてエダラボンの投与により炎症の抑制が起こることを検証した。この実験結果は現在治療法のない間質性肺炎の治療に少なからず寄与するものと考えられる。

---

#### [主論文公表誌]

A SPECIFIC FREE RADICAL SCAVENGER, EDARAVONE, SUPPRESSES BLEOMYCIN-INDUCED ACUTE PULMONARY INJURY IN RABBITS

Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 34, 22-26 (2007).