

# 多核白血球(PMN)と肺胞マクロファージ(A-Mφ)との相互作用について -- 塩化ガドリニウム(Gd-Cl)の影響 --

(分担研究：新生児の慢性肺疾患の予防と治療に関する研究)  
研究協力者：西田 朗

要約：塩化ガドリニウム(Gd-Cl)投与ラットを用い、多核白血球(PMN)と肺胞マクロファージ(A-Mφ)との相互作用を検討した。Gd-Cl未投与群に比べGd-Cl投与群においては、A-Mφのスーパーオキシドアニオン(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)産生能およびフォルボールミリスチンアセテート(PMA)刺激時のウミホタルルシフェリン誘導体(MCLA)依存性肺表面化学発光(LS-CL)とも、有意に低値を示した。一方、Gd-Cl投与によりPMNのO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生能は有意な変化を示さないこと、およびPMA刺激後のLS-CLはPMNに依存していることから、今回の成績は、少なくとも肺組織におけるPMNのO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生に関してはA-Mφを介した何らかの刺激系の存在を示すものである。

見出し語：慢性肺障害、多核白血球、肺胞マクロファージ、塩化ガドリニウム

緒言：慢性肺障害(CLD)の病態にPMNが深く関わっていることが知られている。一方、肺にはA-Mφが存在しており、PMNと同様に種々の病態に関与しているものと考えられている。今回は、CLDの病態の解明およびその治療法の開発を目的とし、肺におけるPMNとA-Mφとの相互作用をPMN刺激肺障害モデル(成獣ラット)を用いて検討した。

研究方法：I. Gd-Cl 5mg/kg 24時間毎2回静注後・24時間後に(n=6)、PMNはベントバルビタール麻酔下に大動脈より採血後、デキストラン沈降法を用いて分離し、ハンクス液(Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>不含)にて10<sup>6</sup>/ml程度の細胞浮遊液に調製し、測定まで氷冷保存とした<sup>1)</sup>。A-Mφは、ハンクス液30ml/kgを用いて5回肺胞洗浄を行い、PMNと同様に10<sup>6</sup>/ml程度の細胞浮遊液に調製し、測定まで氷冷保存とした<sup>1)</sup>。O<sub>2</sub><sup>-</sup>産生能測定は、以前に報告したMCLA-CLにて行った<sup>2,3)</sup>。測定系は、PMNもしくはA-Mφ 5x10<sup>4</sup>個に化学反応物質としてMCLA5μMと刺激剤としてラット血清より作製したオプソニン化ゼイモザン(OZ) 0.8mg/mlを加え反応開始とした総量2mlである。II. I.と同様にGd-Cl投与後(n=6)、ベントバルビタール麻酔下に気管切開およびレスピレーターによる呼吸管理を施行し、肋間筋切開により肺を露出後、single photon counting system(東北電子)に収容した<sup>4)</sup>。MCLAを点滴静注し肺表面からの非特異的発光が一定になったところで、PMA 100μg/kgを静注した。またI. II.とも生理食塩水をGd-Clと同様に2回静注したラットを、Gd-Cl未投与ラットとしその対照とした。なお統計学的検討は、Student t 検定を用いp<0.05にて行った。

研究成績：I. Gd-Cl投与によりA-MφのO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生能(OZ刺激後4分間の発光量)は、127.3±35.8→47.8±12.1 C.(x10<sup>-4</sup> counts)と、有意に減少を示したが、一方、PMNは21.6±1.1→17.0±5.8 C.と、有意差を認めなかった。II. PMA投与後30分間の発光を基準に、30-60分後の発光値を比較すると、Gd-Cl投与・未投与群は0.94±0.23, 1.80±0.43と、有意に未投与群が高値を示した。

考察：CLD児は、その気管洗浄液中に長期に渡りPMNが増加していることが知られており、組織学的にも酸素毒性によりPMNが肺に集まることが報告されている。またCLD児では、組織破壊に最も関与していると考えられているプロテアーゼである顆粒球エラスターゼ(GEL)活性が増加しているとの報告がみられる<sup>5)</sup>。これはPMNのエフェクターであるO<sub>2</sub><sup>-</sup>およびミエロペルオキシダーゼがGELの作用を制御するαプロテアーゼインヒビター(α-PI)を不活化することに起因する<sup>6)</sup>。このようにCLDの傷害要因としてPMNは重要な役割を担っていることが知られている。一方、肺にはもともとA-Mφが多数認められ生体防御や異物の排除に深く関わっており、CLDの成因の一つにあげられている腫瘍壊死因子やフィブロネクチンなど10<sup>0</sup>を越えるエフェクターを放出することが知られている。したがって、CLDの病態を解明しその治療法を開発するうえで、PMNとA-Mφとの相互作用を明らかにすることは、基礎的ではあるが極めて有効な手段と思われる。

今回我々は、A-Mφの機能をブロックすることにより、in situの状態での肺組織におけるPMNのO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生を抑制出来るか否かを検討し

た。Gd-Clは、肝臓のクッパー細胞をブロックすることが知られているが、同じ網内系細胞であるA-Mφに関しては、未だ一定の評価はなされていない。我々は、Gd-Cl 5mg/kg 24時間毎2回静注後・24時間後にPMNおよびA-MφのO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生能を検討し、PMNのO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生能は著変を示さないが、A-MφのO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生能は阻害されることを確認した。一方、以前に報告したごとくPMA刺激時のLS-CLは、PMN減少ラットにおいてはその発光の増加が認められないことから、PMNに依存しているものと考えられている。したがって、Gd-Cl投与群は未投与群に比べ、PMA刺激後のLS-CLが有意に低値である今回の成績は、少なくとも肺組織におけるPMNのO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生に関しては、A-Mφを介した何らかの刺激系の存在を示すものである。

## 参考文献：

1. 西田 朗、他：高濃度酸素および人工換気が肺胞遊離細胞および末梢顆粒球のスーパーオキシド産生能に及ぼす影響 新生児誌 28;370,1992.
2. Nishida A., et al: A sensitive and specific chemiluminescence method for estimating the ability of human granulocytes and monocytes to generate O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Clinica Chimica Acta 179;177,1989.
3. 西田 朗：白血球のO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生能の測定 活性酸素と発光(中野稔、吉川敏一編) 日本医学館、東京、p107-112,1990.
4. 高橋 篤：生体系で発生するスーパーオキシドアニオンの検出 創造科学技術推進事業 稲葉生物フotonプロジェクト研究概要集 p169-174,1991.
5. Merritt TA., : Elastase and α<sub>1</sub>-proteinase inhibitor activity in tracheal aspirates. J Clin Invest 72;656, 1983.
6. Matheson NR., : Enzymatic inactivation of human alpha-1-proteinase inhibitor by neutrophil myeloperoxidase. Biochem Biophys Res Commun 88;402,1979.



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:塩化ガドリニウム(Gd-C1)投与ラットを用い、多核白血球(PMN)と肺胞マクロファージ(A-M )との相互作用を検討した。Gd-C1 未投与群に比べ Gd-C1 投与群においては、A-M のスーパーオキシドアニオン(O<sub>2</sub>)産生能およびフォルボールミリスレートアセテート(PMA)刺激時のウミホタルルシフェリン誘導体(MCLA)依存性肺表面化学発光(LS-CL)とも、有意に低値を示した。一方、Gd-C1 投与により PMN の O<sub>2</sub> 産生能は有意な変化を示さないこと、および PMA 刺激後の LS-CL は PMN に依存していることから、今回の成績は、少なくとも肺組織における PMN の O<sub>2</sub> 産生に関しては A-M を介した何らかの刺激系の存在を示すものである。