

山下秀樹学位論文内容の要旨

主 論 文

Inhaled Nitric Oxide Attenuates Apoptosis in Ischemia-Reperfusion Injury of the Rabbit Lung

兎肺の虚血再灌流障害時において NO 吸入はアポトーシスを軽減させる

山下秀樹、赤嶺晋治、角田順久、井上征雄、澤田貴裕、永安 武、岡 忠之

The Annals of Thoracic Surgery 78 :292 -297, 2004

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻
(指導教授：永安 武)

【緒 言】

肺移植をはじめとした様々な臨床の場面において肺虚血再灌流障害は惹起される。近年虚血再灌流後にアポトーシスが誘導されることが報告されてきている。また、一酸化窒素 (NO) 吸入は、虚血再灌流障害を軽減することが示唆されている。今回兎肺の虚血再灌流時における NO 吸入が再灌流障害とアポトーシスに与える影響について検討を行った。

【対象と方法】

日本白兎の虚血再灌流モデルを作成した。麻酔後に気管切開を行い挿管して人工呼吸管理とした。胸骨縦切開を行い、両側の肺門部を露出した後肺動脈および大腿動脈にカテーテル挿入を行い、肺動脈圧測定、動脈血ガス分析を行った。

30羽の兎を3つのグループに分割した。

sham 群：虚血を行わず 2 時間開胸した状態で放置し、その後右肺門部をクランプして左肺単独での血行動態等を測定した群。

control 群：左肺の 2 時間の虚血を行った後、右肺門部をクランプして左肺単独での虚血再灌流を行って検討を行った群。

NO inhalation 群： control 群と同様の処置を行い、虚血再灌流時に 20 ppm の NO 吸入を行った群。

平均肺動脈圧・動脈血酸素分圧の経時的変化、肺湿乾重量比、組織学的評価 (HE 染色、TUNEL 染色) をそれぞれ検討した。

また、別の兎を 5 匹ずつ虚血再灌流前、15 分後、30 分後、60 分後に sacrifice し、肺組織を摘出して TUNEL 染色にて虚血再灌流時の TUNEL 陽性細胞の割合の経時的変化を検討した。

【結 果】

平均肺動脈圧および動脈血酸素分圧の経時的変化

control 群では再灌流時の平均肺動脈圧上昇がみられたが、NO inhalation 群では有意に肺動脈圧上昇の抑制を認めた。

また、再灌流の時間の経過とともに control 群では動脈血酸素分圧の低下 (120 分後、 $46.1 \pm 15.9 \text{ mmHg}$) をみたが、NO inhalation 群では 120 分後の酸素分圧は $88.1 \pm 14.7 \text{ mmHg}$ で、control 群と比較して有意に良好であった ($p < 0.01$)。

肺湿乾重量比

control 群では有意に肺湿乾重量比の増加がみられたが、NO inhalation 群は有意にその増加が抑制されていた (0.856 ± 0.024 versus 0.808 ± 0.0006 $p < 0.01$)。

組織学的検査

control 群では、120 分後の肺胞構造の破壊と炎症細胞の浸潤が著明であったが、NO inhalation 群では肺胞構造が比較的保たれているのが観察された。

虚血再灌流時に TUNEL 陽性細胞は、再灌流 15 分後より有意に増加を認め、120 分までの再灌流中にその割合の有意な変動は認めなかった。肺虚血再灌流時には、再灌流早期よりアポトーシスが誘導されることが示唆された。

再灌流 120 分後の TUNEL 陽性細胞の割合は、control 群と比較して NO inhalation 群では有意に減少がみられた ($2.87 \pm 0.78\%$ versus $1.76 \pm 0.49\%$ $p < 0.01$)。

【考 察】

肺虚血再灌流時には iNOS 活性が増加することが報告されており、発生された過度の NO は活性酸素と反応して peroxynitrite を形成し組織障害に働く可能性が示唆される半面、NO 吸入は虚血再灌流障害を抑制する報告もあり、虚血再灌流時の NO の役割は未解明の部分が多い。今回兔肺の虚血再灌流モデルで、肺の虚血再灌流時の NO 吸入は虚血再灌流障害を抑制することが示された。また、虚血再灌流時のアポトーシスについては肺では知見が得られていなかったが、再灌流早期にアポトーシスが誘導されること、また NO 吸入がアポトーシスを抑制する可能性が示された。心臓や腎臓において、虚血再灌流時に誘導されるアポトーシスをカスパーゼ阻害剤などで抑制することによって、虚血再灌流障害を抑制したとの報告がみられるが、肺においても虚血再灌流時のアポトーシス抑制が障害抑制につながることを想定される。今回、NO 吸入により TUNEL 陽性細胞の割合が減少したことが確認され、NO 吸入の虚血再灌流障害抑制効果の一つとして、アポトーシス抑制による効果の可能性が示唆された。