下肢急性動脈閉塞症の再灌流障害における白血球の関与

—急性動脈閉塞症の実験的検討—

梅 澤 久 輝

イヌ急性動脈閉塞再灌流障害モデルを作製し、白血球除去フィルター群と白血球活性化物質である Leukotrien B4 (以下 LTB4) の拮抗物質の投与群における再灌流時の白血球の関与を明らかにする目的で実験を行った。雑種成犬 28 頭の腎動脈下腹部大動脈を結紮し、12 時間後に血流を再開した。血流再開直前に白血球除去フィルターを使用した群 (8 頭) と再灌流直前に LTB4 拮抗物質を投与した群 (8 頭) およびコントロール群 (12 頭) を作製し、経時的に CPK, イヌ-Myoglobin, GOT を測定して比較検討した。フィルター群, LTB4 投与群ともに各測定項目はコントロール群と比して低値を示し、再灌流障害が軽減されるものと考えられた。以上の結果より白血球除去や LTB4 の抑制により再灌流障害が軽減されたものと推察され、本症の組織障害増大に白血球が関与していることの証明であると思われる。日心外会誌 26 巻 3 号: 141-149 (1997)

Keywords: 急性動脈閉塞症, 再灌流障害, 白血球, MNMS

The Role of Leukocytes in Reperfusion Injury Following Acute Arterial Occlusion of the Lower Extremities

Hisaki Umezawa (The Second Department of Surgery, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan)

Purpose. To determine the involvement of leukocytes in reperfusion injury following acute arterial occlusion of the lower extremities, the effect of leukocyte removal filters or leukotrien B4 (LTB4) antagonist was investigated using a canine acute arterial occlusion model. **Methods.** Twenty-eight mongrel dogs, weighing 15 to 20 kg, underwent temporal occlusion of the infrarenal aorta and lumbar arteries followed by release of occlusion 12 hours later. Experimental groups consisted of the three following groups: Group I ($n=12$; control), dogs without any treatment; Group II ($n=8$), dogs treated with leukocyte removal filters from the onset of reperfusion until one hour after reperfusion; and Group III ($n=8$), dogs pretreated with LTB4 antagonist immediately before reperfusion. Serum myoglobin, CPK, and GOT were measured and compared among the three groups. **Results.** Values of serum myoglobin, CPK, and GOT, were significantly elevated after reperfusion in Group I as compared to those before reperfusion. However, increase in these values was significantly elevated after reperfusion in Group I as compared to those before reperfusion. However, increase in these values was significantly attenuated in Group II and Group III as compared to Group I. **Conclusions.** These data suggested leukocyte depletion injury following acute arterial occlusion of the lower extremities. Leukocytes appear to play a significant role in this type of reperfusion injury. Jpn. J. Cardiovasc. Surg. 26: 141-149 (1997)

急性動脈閉塞症に対する治療の原則は早期の血栓, 塞栓除去術による血行再建であり, 多くの症例では局所的にも全身的にも障害を残さず回復するが, その一方, 下肢虚血再灌流後に

Myoneuropathic-metabolic syndrome (以下 MNMS) に代表される多臓器障害を引き起こす症例もあり¹⁻³⁾, 一度本症を合併すれば致命率が高く, いまだに解決されていない重篤な合併症の一つである。本症においては, その病態や治療に関して数多くの報告³⁻⁷⁾がなされているにもかかわらず, その発生機序や病態の詳細は不明な点が多い。近年, 白血球動態やその関連物質の研究が進み, 各種炎症性疾患や再灌流後の障害組織にお

1996年5月7日受付, 1996年10月15日採用

日本大学第2外科 〒173 東京都板橋区大谷口上町30-1

本論文の要旨は, 第25回日本心臓血管外科学会学術総会 (1995年2月, 横浜), 第95回日本外科学会総会ワークショップ (1995年4月, 名古屋) において発表した。第1回リムサルページ研究会賞 (1996年6月, 札幌) 受賞。

ける白血球の関与について多くの知見が報告されている^{8~14)}。そこで今回、下肢急性動脈閉塞症の再灌流障害における白血球の関与について検討するために実験を行った。

対象および方法

1) イヌ急性動脈閉塞症モデルの作製

体重 15~20 kg の雑種成犬 28 頭を Pentobarbital (0.5 ml/kg) を用いて静脈麻酔後、腹部正中切開で開腹した。まず腎動脈以下の腰動脈および下腸間膜動脈を根部にて結紮切離し、さらに腹部大動脈を腎動脈直下と総腸骨動脈分岐直前の計 2 か所で結紮した。結紮した末梢動脈の拍動消失を確認した後、閉腹し、イヌ急性動脈閉塞モデルとした。また術中より cephalosporin 系抗生物質 1 g を点滴静注し、術中術後にかけ生理的食塩水 1000 ml を投与した。麻酔覚醒後は水分のみの経口摂取を開始した。

2) 再灌流

腹部大動脈結紮 12 時間後に、両大腿動脈の拍動の消失、両後肢の冷感と筋の硬直さらに歩行不可能なことを確認し、再度 Pentobarbital (0.25 ml/kg) 静脈麻酔下に再開腹し、大動脈結紮糸を除去して遮断を解除し、イヌ急性動脈閉塞再灌流モデルとした。このうち、12 頭をコントロール群 (以下 C 群) とした。

実験 1 では、再灌流時に白血球除去フィルター (Sepacell R 500 A : 旭メディカル, 日本) を腹部大動脈に挿入し、再灌流直後より 60 分間流入する血液中の白血球を除去した群 (以下 F 群) を 8 頭作製し、これを C 群と比較検討した。なお、フィルター装着前に Heparine (0.06 ml/kg) を全身投与した。またフィルターは白血球除去能の劣化を考慮し、20 分ごとに交換して計 3 個使用した (図 1 上)。

実験 2 では、再灌流直前に下腸間膜動脈より LTB₄ の拮抗物質 ONO-4057 (3 mg/kg) を注入した群 (以下 LTB₄ 群) を 8 頭作成し、C 群と LTB₄ 群の両群間において比較検討した (図 1 下)。

3) 測定項目および測定方法

測定項目は、CPK, イヌ Myoglobin, GOT を

図 1 実験 1 模式図(上), 実験 2 模式図(下)

測定し、採血は術前、12 時間の遮断解除直前、再灌流 30 分後、1 時間後、3 時間後、6 時間後、12 時間後、24 時間後まで中心静脈より行った。なお、白血球除去フィルターを用いた実験では、白血球数の測定と白血球除去効果をみるため、フィルター前後の白血球数の測定も行った。これら血液サンプルは採血後直ちに血清に分離し、測定するまで冷凍保存した。

4) イヌ Myoglobin の測定

イヌ骨格筋をホモジネートし、同量の蒸留水を加え一夜放置し、遠心分離器により得た上澄みを Myoglobin 粗液とし、それを 50% 飽和硫酸で塩析を行った。その遠心分離した上澄みに少量のフェリシアン化カリを加え、0.02 リン酸緩衝液 PH 6.5 に塩析し、同条件に平衡化した CM Sephadex C-65 カラムに吸着させ、同緩衝液で溶出し、Myoglobin 分画を得た。この Myoglobin 分画を濃縮し、ゲル濾過を行い精製 Myoglobin を得た。得られた精製 Myoglobin を家兎に免疫し抗体を作製した。測定原理としては、抗イヌ Myoglobin 抗体感作ラテックスと被検検体を測定用キュベットで混和し凝集させ、抗原抗体反応の結果生じるラテックス粒子の分散状態の濁度変

化として分光光度計で抗原量を算出することにより測定した。

5) 統計的処理

測定値はすべて平均値±標準偏差で表示した。また、統計的処理は Welch's *t*-test 法を用いた。*p*-value は、0.01 以下を有意とした。

結 果

1. 実験1

1) 白血球数：中心静脈からの採血つまり全身血において再灌流直前まで両群間に有意差を認めなかった。F 群では再灌流 30 分後に $56.8 \pm$

14.4%，1 時間では $75.5 \pm 11.6\%$ の白血球除去効果を認めた。フィルター直下の採血においては、30 分間で $95.9 \pm 2.3\%$ ，1 時間では $98.8 \pm 0.8\%$ の白血球除去効果を認めた。F 群の白血球は再灌流 12 時間後より徐々に増加傾向を示したが、両群間に再灌流後 24 時間まで有意差を認めた (図 2 上)。

2) イヌ Myoglobin：C 群では遮断前 40.0 ± 20.3 ng/ml，12 時間大動脈遮断後 $3,901.3 \pm 698.5$ ng/ml であり，再灌流後より急上昇し，30 分で $45,893.8 \pm 4,878.7$ ng/ml とピークを示し，その後しだいに減少し，24 時間後には $6,150 \pm$

図2 C群とF群およびフィルター直下採血における白血球数の推移(上)，C群とF群における Myoglobin の推移(下)

—□—：Control Group，--●--：Filter Group，--○--：Filter 直下採血，*：*p* < 0.01.

1,171 ng/ml となった。F 群では、再灌流後6時間で $8,315.3 \pm 2,132$ ng/ml とピークを示し、その後ゆっくりと減少傾向を認めた。再灌流後30分より24時間後までのすべての時相において両群間に有意差を認めた(図2下)。

3) CPK : C 群では再灌流3時間後に $47,569.4 \pm 11,025.9$ IU/l とピークを示し、その後しだいに減少した。F 群ではピークを迎える時間が遅れ、再灌流後12時間で $31,543.3 \pm 3,768.9$ IU/l まで増加したが、C 群のピーク値 $47,569.4 \pm 11,025.9$ IU/l に比し、有意に低値となった。また、再灌流30分後より3時間後まで

両群間に有意差を認めた(図3上)。

4) GOT : C 群においては再灌流直後より急上昇し、再灌流3時間後に $1,319 \pm 276$ IU/l とピークを示した。F 群では再灌流24時間後に $1,244.3 \pm 81.6$ IU/l とピークを示し、再灌流後30分より6時間まで、両群間に有意差を認めた(図3下)。

2. 実験2

1) イヌ Myoglobin : LTB 4 群において、再灌流30分後に $18,109.6 \pm 1,707.9$ ng/ml とピークを示したが、再灌流後すべての時相においてC 群より低値となり、再灌流30分以後の両群間に

図3 C 群と F 群における CPK の推移(上), C 群と F 群における GOT の推移(下)

—□— : Control Group, -●- : Filter Group, * : $p < 0.01$.

図4 C群とLTB4群におけるMyoglobinの推移(上), C群とLTB4群におけるCPKの推移(下)

—□—: Control Group, —▲—: LTB4 Group, *: $p < 0.01$.

有意差を認めた(図4上)。

2) CPK: LTB4群において、再灌流6時間で $15,700 \pm 777.8$ IU/lとピークを示し、再灌流30分以後において両群間に有意差を認めた(図4下)。

3) GOT: LTB4群において、再灌流3時間で 567 ± 101.3 IU/lとピークを示し、6時間後 511.8 ± 65.7 IU/l, 12時間後 442.5 ± 54.4 IU/l, 24時間後 284 ± 33.9 IU/lと減少した。再灌流30分以後において両群間に有意差を認めた(図5上)。

考 察

急性動脈閉塞症に対する治療の原則は早期の血栓塞栓除去術による血行再建であり、大部分の症例では局所的にも全身的にも障害を残さず回復するが、その一方では下肢虚血再灌流後にMyonephropathic-metabolic syndrome (以下MNMS) に代表される多臓器障害を合併する症例もあり¹⁻³⁾、一度本症を併発すれば致死率が高く、いまだに解決されずに残る合併症の一つである。

以前より教室では、MNMSにおける病態の解

図5 C群とLTB4群におけるGOTの推移(上)

—□—: Control Group, —△—: LTB4 Group, *: $p < 0.01$.

下肢急性動脈閉塞症における再灌流障害の理論的背景(下)

明や発生予防と、その治療方法を確立すべく、研究を重ねてきた^{4-7,15)}が、当初、従来よりMNMSの原因物質とされていたMyoglobinやその他の原因物質としての未知毒を除去する目的でHemofilterを応用し、実験的¹⁵⁾にも臨床的⁵⁾にもその有効性を証明してきた。さらにMNMSの病態にfree radicalの関与していることに注目し、ascorbic acidやFOYのscavenger効果⁴⁾や、その病理電顕組織像についても報告⁶⁾してきた。しかしこれらだけでMNMSの病態のすべてを説明することは不可能であり、とくに下肢局所に発生した組織障害が全身的組織障害へと進展し、MNMSを呈する病態については未だ不明であり、これまでの知見を臨床に十分反映させるま

では至らなかった。最近になり、心臓や肝臓、肺を始めとした他分野での虚血再灌流障害の研究が進むにつれ、free radical以外にもさまざまなhumoral mediatorの存在が明らかになりつつあり、再灌流障害とはそれらさまざまなhumoral mediatorが関与して引き起こされる全身的炎症性疾患としてとらえられるようになってきている。つまり、局所にさまざまな侵襲が加えられると白血球や血管内皮を始めとした細胞からhumoral mediatorが産生されるが、侵襲の程度が強度である場合にはhumoral mediatorが大量に産生され、侵襲を受けた局所のみならず血中にも流出し、高サイトカイン血症の状態を呈し^{11,12)}、それが誘因となって全身的広範囲な臓器

障害を引き起こしてくるのである。すなわち、この状態が systemic inflammatory response syndrome (全身性炎症性反応症候群, 以下 SIRS) であり, MOF¹¹⁾ や MODS¹⁶⁾ への準備状態である¹⁷⁾ とされており, 著者は MNMS もこの MOF, MODS と同様の機序で引き起こされるものと考えている。

実際に, フィルターにより白血球を除去した実験^{18,19)}, あるいは白血球に対する抗体²⁰⁾ や白血球の機能を低下させる薬剤を投与する実験^{21~23)} において, 白血球の抑制により再灌流障害が軽減されるという報告が数多くなされている。また再灌流後の障害組織には白血球が集積しているとした報告²²⁾ や, 下肢虚血再灌流後の血中白血球の遊走能⁸⁾, 貧食能⁹⁾, 活性酸素産生能¹⁰⁾ の亢進を証明し, これら白血球の活性化が遠隔臓器障害と密接な関係をもつとする報告^{8~10)} は, いずれも再灌流障害における白血球の関与を示唆している。これら白血球の活性化を引き起こす humoral mediator には LTB₄, Thromboxane A₂ (以下 TXA₂) や platelet activating factor (以下 PAF), 活性化補体第5成分 (以下 C5a), Interleukin-1 (以下 IL-1) を始めとした Interleukin-6 (以下 IL-6), Interleukin-8 (以下 IL-8), tumor necrosis factor (以下 TNF) 等の各種サイトカインなどが想定されている^{10,24)} が, このなかで LTB₄ は極めて強力な白血球活性化作用を有し, 白血球の遊走, 粘着, 凝集を惹起し, 貧食, 活性酸素の産生, 放出, ライソソーム酵素の放出を促進するとされている²⁵⁾。LTB₄ の白血球遊走, 粘着, 凝集の惹起作用は細菌の産生する白血球遊走惹起物質であるホルミルペプチド, C5a, PAF などのそれと同等以上の強さを示すとされ, Goldman ら²⁶⁾ は, 下肢虚血再灌流時には血液中の LTB₄ 濃度が上昇しており, 再灌流時の活性酸素の消去または白血球の除去が血液中の LTB₄ の上昇を抑え, その結果白血球の浸潤も抑制できたと報告しており, 活性酸素の刺激で白血球が LTB₄ を産生する過程において下肢虚血再灌流時の遠隔臓器障害における白血球浸潤を説明している。また Welbourn ら²⁷⁾ は下肢虚血再灌流時には気管支肺胞洗浄液 (Broncho-

alveolar lavage fluid, BALF) 中の LTB₄ 濃度が上昇したと報告している。

そこで本研究においては下肢虚血再灌流障害における白血球の関与を証明するため, 白血球除去フィルターと LTB₄ 拮抗物質を用いた実験を行った。今回用いた ONO-4057 は, LTB₄ の受容体拮抗剤として小野薬品工業株式会社によって開発された化合物であり, LTB₄ 惹起の白血球の遊走, 凝集促進などの作用を抑制することが *in vitro* の実験でも明らかとなっている²⁸⁾。また *in vivo* の実験でも静脈内投与にて LTB₄ 惹起白血球減少に対する作用や, 経口投与にて LTB₄ 惹起白血球浸潤に対する作用が起きることが報告されている²⁸⁾。

今回のイヌ急性動脈閉塞症モデルにおける実験では, 本症のなかで大きな役割を果たしていると思われる白血球に着目し, その影響を2種類の方法で除去することにより, 組織障害軽減の可能性を検討した。C群では下肢虚血再灌流後, Myoglobin, CPK, GOT の各測定項目は上昇傾向をみせたが, 白血球除去フィルターを用いたF群においては再灌流後に若干の上昇傾向を示すものの, C群に比べ極めて低値を示し, 組織障害を抑制したものと思われた。しかし, 白血球除去フィルターによる白血球除去効果は, 1時間のフィルター使用により再灌流後6時間ぐらいまでは白血球数を低値に抑えることができたものの, その後網内系のいわゆる marginal pool からの白血球の流出が起こるために, フィルター除去後にしだいに組織障害が進行していったものと推測された。また LTB₄ 拮抗物質投与においては, 白血球除去フィルターとは異なり, 白血球数の絶対値にかかわらず, 好中球の活性化および遊走を抑制することによるものであり, 再灌流後より長時間にわたり組織障害の軽減が可能であった。白血球除去効果と LTB₄ 受容体の拮抗効果が再灌流障害においてどちらが有用であったのかは, 白血球除去フィルターの使用時間や LTB₄ 拮抗薬の薬剤投与量にも大きく依存するため今回の実験結果からだけでは, 結論できないと思われた。

著者は下肢虚血再灌流障害の病態を以下のごとく考えている。すなわち, 動脈の閉塞により虚血

に陥った局所では、酸素供給量の減少により酸化のリン酸化（いわゆる好氣的解糖）によるエネルギー産生が不可能となり嫌氣的解糖が進み、その結果乳酸が蓄積しアシドーシスとなり、さらに虚血が続けば生体膜の維持が困難となり、細胞崩壊、組織障害が引き起こされてくる。またその一方で起炎刺激の除去、障害を受けた組織の修復という一連の防御反応として、さまざまな humoral mediator の産生と白血球の活性化がおこり、この白血球は、接着分子を介して、障害部位の血管内皮細胞に接着凝集²⁹⁾され、さらに血管内皮細胞より障害組織へ透過浸潤し、局所の細胞障害、組織障害をさらに増大することになる。また、その過程において産生された O_2 フリーラジカル^{4,30)} やプロテアーゼなどもこれら障害をさらに助長し、局所組織破壊が連鎖反応的に増幅されていくこととなる。また、これら局所で産生された humoral mediator は、全身に灌流され、その結果、全身的な高サイトカイン血症となり、そのサイトカインが心、肺、腎等、下肢と離れた部位で虚血下肢と同様の機序で組織障害を引き起こし、ついには MNMS や MOF を発症させてくると考えている（図 5 下）。つまり下肢局所において引き起こされた組織障害が各種サイトカインにより全身へ運ばれ、全身の各臓器に同様の組織障害を引き起こし、その障害の総和として MNMS が形成され、この高サイトカイン血症、さまざまなサイトカインネットワークこそが、MNMS 発症の key point と考えた。

今回の実験結果は、これら病態において白血球の関与を除去した際の組織障害を検討したものであるが、いずれの方法においても組織障害の指標である CPK, Myoglobin, GOT が著明に軽減しており、白血球の担う役割が非常に大きいものであることを示唆していると考えられた。

結 語

1) イヌ下肢急性動脈閉塞モデルを用い、本症の再灌流障害の病態生理について検討した。

2) 実験 1：白血球除去フィルターを用いた虚血下肢への白血球の再灌流を減少させる実験において、急性動脈閉塞症の組織障害を軽減すること

ができた。

3) 実験 2：白血球遊走阻害剤である LTB₄ 拮抗剤 (ONO-4057) を投与することでも急性動脈閉塞症の組織障害を軽減することができた。

4) 以上の結果より、本症の組織障害増大には白血球が強く関与しているものと考えられ、さらにこの白血球の関与は MNMS の病態解明の鍵になるものと推察された。

稿を終えるに臨み、ご指導、ご校閲を賜りました恩師瀬在幸安教授に深く感謝の意を表するとともに、ご指導、ご助言および研究において多大なご協力をいただきました教室の諸兄に心から厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Haimovici, H.: Metabolic complications of acute arterial occlusions conditions: Role of free radicals (myonephrotic metabolic syndrome). *In*: Haimovici's Vascular Surgery, eds. by Haimovici, H., Depalma, R. G., Ernst, C. D. et al., pp. 386-408, Appleton & Lange, Norwalk, 1989.
- 2) Anner, H., Kaufman, R. P., Kobzik, L. et al.: Pulmonary hypertension and leukosequestration after lower torso ischemia. *Ann. Surg.* **206**: 642-648, 1987.
- 3) Welbourn, R., Goldman, G., O'riordain, M. et al.: Role of tumor necrosis as factor as mediator of lung injury following lower torso ischemia. *J. Appl. Physiol.* **70**: 2645-2649, 1991.
- 4) 渡井建男: MNMS に対する oxygen radical scavenger の効果に関する研究—とくに SOD 活性と組織逸脱酵素に対する実験的検討. *日心外会誌* **20**: 5-10, 1990.
- 5) 一和多雅雄: MNMS に対する新しい予防と治療方法—プラズマフィルトレーションの応用—. *日外会誌* **89**: 1114-1121, 1988.
- 6) 四万村三恵: 急性動脈閉塞症における腎臓および動脈の光顕的、電顕的所見. *日心外会誌* **21**: 24-34, 1992.
- 7) 萩原秀男, 根岸七雄, 瀬在幸安ほか: MNMS の病態生理と治療の研究. *日心外会誌* **17**: 480-485, 1988.
- 8) Summers, S. T., Wyatt, L. E. and Freischlag, J.: Persistent neutrophil (PML) activation 24hr after ischemia and reperfusion. *Ann. Vasc. Surg.* **56**: 130-133, 1994.
- 9) Freischlag, J. A. and Hanna, D.: Neutrophil

- (PML) phagocytosis and chemotaxis after reperfusion injury. *J. Surg. Res.* **52**: 152-156, 1992.
- 10) Cambria, R. A., Anderson, R. J., Dikdan, G. et al.: Leukocyte activation in ischemia-reperfusion of skeletal muscle. *J. Surg. Res.* **51**: 13-17, 1991.
- 11) Deitch, E. A.: Multiple organ failure. *Ann. Surg.* **216**: 117-134, 1992.
- 12) Cavillon, J., Munoz, C., Fitting, C. et al.: Circulating cytokine: the tip of the iceberg?. *Circ. Shock* **38**: 145-152, 1992.
- 13) Ascer, E., Mohan, C., Gennaro, M. et al.: Interleukin-1 and thromboxane release after skeletal muscle ischemia and reperfusion. *Ann. Vasc. Surg.* **6**: 69-73, 1992.
- 14) Sekido, N., Mukaida, N., Harada, A. et al.: Prevention of lung injury in rabbits by a monoclonal antibody against interleukin-8. *Nature* **365**: 654-657, 1993.
- 15) 新野成隆：開心術後腎障害の予防に関する実験的検討—人工心肺中の血漿遊離ヘモグロビン除去について—。胸部外科 **35**(1): 26-34, 1987.
- 16) 斎藤英昭：臓器不全の発生機序とそのメディエーター。Surgery Frontier **1**(1): 21-28, 1994.
- 17) Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit. Care Med.* **20**: 864-874, 1992.
- 18) Westlin, W. and Mullane, K. M.: Alleviation of myocardial stunning by leukocyte and platelet depletion. *Circulation* **80**: 1828-1836, 1989.
- 19) Kutumi, Y., Misawa, T., Tada, H. et al.: Effect of leukocyte-platelet removal filter on ischemia induced reperfusion injury. *ASAIO Transactions* **36**: M723-M726, 1990.
- 20) Romson, J. L., Hook, B. G., Kunkel, S. L. et al.: Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* **67**: 1016-1023, 1983.
- 21) Simpson, O. J., Mitsos, S. E., Ventura, A. et al.: Proctacyclin protects ischemic reperfused myocardium in the dog by inhibition of neutrophil activation. *Am. Heart J.* **113**: 129-137, 1987.
- 22) Simpson, P. J., Mickelson, J., Fantone, J. C. et al.: Iloprost inhibits neutrophil function *in vitro* and limits experimental infarct size in canine heart. *Circ. Res.* **60**: 666-673, 1987.
- 23) Simpson, P. J., Mickelson, J., Fantone, J. C. et al.: Reduction of experimental canine myocardial infarct size with prostaglandin E1: Inhibition of neutrophil migration and activation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **244**: 619-624, 1988.
- 24) Paterson, I. S., Smith, F. C. T., Tsang, G. M. K. et al.: Reperfusion plasma contains a neutrophil activator. *Ann. Vasc. Surg.* **7**: 68-75, 1993.
- 25) 柴 忠明, 池田正視, 原 彰夫ほか：Leukotrienes. 救急医学 **13**(8): 937-944, 1989.
- 26) Goldman, G., Welbourn, R., Klausner, J. M. et al.: Oxygen free radicals are required for ischemia-induced leukotrien B4 synthesis and diapedesis. *Surgery* **111**: 287-293, 1992.
- 27) Welbourn, C. R. B., Goldman, G., Paterson, I. S. et al.: Neutrophil elastase and oxygen radicals: Synergism in lung injury after hindlimb ischemia. *Am. J. Physiol.* **260**: H1852-H1856, 1991.
- 28) Kishiyama, K., Tateishi, N., Maruyama, T. et al.: ONO-4057, novel, orally active leukotrien B4 antagonist: Effects on LTB4-induced neutrophil functions. *Prostaglandins* **44**: 261-275, 1992.
- 29) Harlan, J. M.: Leukocyte-endothelial interactions. *Blood* **65**: 513-525, 1985.
- 30) Granger, D. N., Rutili, G. and McCord, J. M.: Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology* **81**: 22-29, 1981.