カラゲニン炎症における鉄イオンの影響

——肉芽組織破壊を伴う炎症反応——

宇野 滋・下河辺宏功*, 古屋悦子・西村拓夫・長岡綾子・西風 脩**

Effect of ionic iron on carrageenin-induced inflammatory response accompanied by destruction of granuloma

Shigeru Uno・Hirokata Shimokobe*, Etsuko Furuya・

Takuo Nishimura・Ayako Nagaoka・Osamu Nishikaze**

炎症は侵襲に対する生体の防御反応であり、侵襲によって生じた組織損傷を限局化し修復する一連の生体反応である。西風らは、炎症を管理するためには組織損傷の度を把握することが重要であると述べ、その指標として過酸化脂質 (LPO) をあげている¹⁻³⁾。

一方、鉄イオンが LPO の生成を促進することが知られている^{4,5)}。そこで筆者らは、炎症巣に鉄イオンを投与すれば炎症反応が激化し強い組織損傷が生じると考え、鉄イオンの炎症反応に及ぼす影響を生化学的に検索した。

材料と方法

実験モデルとしてカラゲニン肉芽腫を用いた⁶⁾。Wistar 系雄ラット (体重約 180 g) の背部皮下に空気嚢を作製し、翌日同部位に塩化第一鉄 (鉄量として 80 mg) を 2%カラゲニン (Seakem #402 岩井化学薬品) 溶液 (0.9% NaCl) に溶かし投与したところ、翌日肉芽嚢組織の自潰ならびに内容液の流失が認められた。このような鉄イオンの影響を比較的長期間にわたり検索するため、鉄投与量を実験期間中自潰が生じない 20 mg に設定した。

実験群は、鉄イオンを投与した Fe 群、その対照として鉄を含まない 2%カラゲニン群、ならびに 4%カラゲニン群、の 3 群とした。

溶液投与後 7 日および 14 日にラットを屠殺し、肉芽嚢内の滲出液ならびに肉芽組織を採取した。滲出液については液量測定後、その遠心上清 (3.8% クエン酸ナトリウム 1 容入り試験管に 9 容とり、3,000 rpm, 15 min 遠心) について LPO⁷⁾, LDH⁸⁾, leucine aminopeptidase (LAP)⁹⁾, factor II¹⁰⁾, factor XIII¹¹⁾, fibrin (ogen)

degradation products (FDP)¹²⁾を測定した。肉芽組織については重量測定後、その 10%ホモジネート液 (0.9% NaCl) について LPO, carrageenin 量¹³⁾を測定した。

結果と考察

LDH ならびに LAP は、すべての群において 7 日から 14 日にかけて減少ないし減少の傾向を示した。また、Fe 群ならびに 4%群は 2%群に比べ高値を示した (表 1)。LDH の滲出液中への遊離は細胞の死の結果生じる。すなわち滲出液における LDH は、細胞破壊の度を反映していると考えられる。西風ら^{2,3)}は、LAP が白血球由来と思われる β -glucuronidase と正の相関を示すことを報告した。すなわち、LAP は白血球の貪食の度を表示するものと考えられる。以上より、鉄イオンは激しい炎症反応を引き起こすことがわかる。

肉芽組織重量ならびに組織 carrageenin 量は、すべての群において 7 日から 14 日にかけて減少した。組織重量は、2%群に比べ Fe 群において低値を、4%群において高値を示した。また Fe 群における carrageenin 量は、他の 2 群に比べ高値を示した (表 1)。生体に加わった損傷は肉芽組織によって限局化され、生体にとって異物である carrageenin は組織内の貪食細胞によって処理される。したがって組織重量ならびに carrageenin 量は、生体の侵襲に対する適応力を評価する重要な指標であると考えられる。

滲出液量は、3 群ともに 7 日から 14 日にかけて上昇した。また、4%群は最高値を示し、ついで Fe 群、2%群の順であった (表 1)。

以上の結果をまとめたものが表 2 である。2%群に比べ高値を示した場合上向きの、低値の場合下向きの矢印をつけた。4%群においては細胞破壊、貪食反応ならびに滲出現象が強く、激しい炎症反応が生じているが、肉芽組織形成ならびに異物処理も十分行われている。これは、carrageenin の量に比例した、生体の正常かつ十分な適応反応であるといえる。一方 Fe 群においては、細胞破壊、貪食反応ならびに滲出現象も強く、4%群と同様に炎症反応が激しい。しかし、肉芽組織形成は不十分であり異物の処理も遅れている。これは、生体が侵襲に対して十分に適応しきれない像を示すものである。

この反応をさらに検索するために、血液凝固系ならび

* Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Hokkaido University 北海道大学歯学部第一歯科保存学教室

** Department of Biochemistry, School of Dentistry, Hokkaido University 北海道大学歯学部口腔生化学教室

表 1 granuloma pouch fluid and tissue component values in carrageenin-induced inflammation in rats

component	group	days after carrageenin injection 7	14	group	days after carrageenin injection 7	14
fluid	Fe	79.2±4.45	^{*5)} 59.1±9.64	4	70.3±10.44	67.0±14.63
LDH ^{#1}	2	56.3±13.11	^{*5)} 27.8±13.05	2	56.3±13.11	^{*5)} 27.8±13.05
fluid	Fe	13.1±0.91	^{*5)} 8.8±1.36	4	10.5±1.23	^{*5)} 8.4±0.98
LAP ^{#2}	2	9.5±1.08	^{*5)} 7.4±0.57	2	9.5±1.08	^{*5)} 7.4±0.57
tissue	Fe	9.9±1.26	^{*5)} 8.4±0.90	4	25.0±4.63	^{*3)} 19.5±5.38
weight ^{#3}	2	12.3±3.09	^{*4)} 8.6±2.80	2	12.3±3.09	^{*4)} 8.6±2.80
tissue	Fe	3.78±0.418	^{*4)} 3.37±0.239	4	3.49±0.771	^{*2)} 2.91±0.339
carrageenin ^{#4}	2	3.39±0.277	^{*3)} 2.98±0.339	2	3.39±0.277	^{*3)} 2.98±0.339
fluid	Fe	3.8±0.64	^{*2)} 4.7±1.16	4	3.5±1.46	^{*5)} 7.7±1.76
volume ^{#5}	2	2.4±0.84	^{*5)} 4.7±1.00	2	2.4±0.84	^{*5)} 4.0±1.00
fluid	Fe	2.88±0.578	^{*5)} 1.88±0.209	4	1.98±0.543	^{*5)} 1.34±0.210
LPO ^{#6}	2	1.18±0.280	1.20±0.440	2	1.18±0.280	1.20±0.440
tissue	Fe	47.0±4.29	^{*5)} 37.9±4.36	^{#1} : Wroblewski units/min/mL ^{#2} : μ mol 5-aminosalicylic acid/h/mL ^{#3} : g. ^{#4} : mg/g. ^{#5} : mL.		
LPO ^{#7}	2	9.3±1.42	^{*5)} 7.6±1.09			

^{#6}: nmol malondialdehyde/mL. ^{#7}: nmol malondialdehyde/g. ^{#1,2,5,7}: Normal distribution obtained by square root calculation, square root values are indicated.

Mean±SD is given.

Asterisks between values being compared: ^{*1}: P<0.05. ^{*2}: P<0.025. ^{*3}: P<0.01.

^{*4}: P<0.005. ^{*5}: P<0.001.

表 2 ionic iron action in carrageenin-induced inflammation

	Fa group	4% group
cell destruction	↑	↑
phagocytosis	↑	↑
granuloma tissue formation	↓	↑
removal of carrageenin	↓	—
exudation	↑	↑

表 3 factor II, factor XIII, and FDP in granuloma pouch fluid

	group	days after carrageenin injection 7	14	group	days after carrageenin injection 7	14
factor II	Fe	45.9±7.23	^{*5)} 66.5±15.60	4	37.4±30.94	^{*1)} 58.0±14.06
	2	58.4±20.64	^{*5)} 84.6±13.99	2	58.4±20.64	^{*5)} 84.6±13.99
factor XIII	Fe	200±53.6	196±60.3	4	262±61.6	262±81.3
	2	314±63.7	331±96.2	2	314±63.7	331±96.2
FDP	Fe	48.6±21.00	^{*4)} 92.0±47.50	4	28.9±9.94	^{*4)} 44.6±15.99
	2	29.1±9.96	^{*5)} 60.0±20.00	2	29.1±9.96	^{*5)} 60.0±20.00

For Legand see footnotes to Table 1. The levels of factor II: expressed in terms of percentages of factor II values in healthy human plasma: factor XIII: μ mol monodansylcadaverine/30 min/mL; FDP: multiples of dilution.

に線溶系の動態を調べた (表 3)。

factor IIならびに factor XIIIは、2%群に比べ Fe 群、4%群において低値を示した。すなわち Fe 群および 4%群においては、凝固系因子の消費が進んでいると理解できる。

これに対し線溶系は、Fe 群と 4%群 とではその挙動に差が認められる。4%群における FDP は、2%群とほぼ同様な値を示した。しかし Fe 群における FDP は、2%群に比べ明らかな高値を示し、かつ 7 日から 14 日にかけ大きく上昇した。すなわち、Fe 群においては線溶系の亢進が続いているといえる。

fibrin net は、修復過程において fibroblast の活動の場を提供する¹⁴⁾。したがって、線溶系の亢進は肉芽組織形成を阻害するであろう。Fe 群における肉芽組織重量

の低値は、線溶系の亢進による fibrin net の形成不全がもたらしたものと考えられる。

このような Fe 群における反応は、強い組織損傷によるものと考えられる。Fe 群における滲出液ならびに組織の LPO は、ほかの群に比べ高値を示した (表 1)。細胞膜における脂質過酸化反応は、組織の損傷をまねくと考えられている。Bragt ら¹⁵⁾は、ラットカオリン炎症において LPO の炎症反応への関与を示唆している。鉄

イオンは LPO の生成を促進する^{4,5)}。したがって、鉄イオンが炎症巣において脂質過酸化反応を介して組織損傷を激化することは明らかである。最近 Abok ら¹⁶⁾は、鉄イオンを取り込んだ macrophage の X 線感受性が lysosome 膜における脂質過酸化反応の亢進により増加すると報告した。本研究においても、このような現象が起きていると考えられる。鉄イオンを貪食した macrophage は、脂質過酸化反応の亢進により lysosome 膜の破壊、水解酵素の遊離をきたし自己融解を起こす。このため Fe 群における carrageenin の処理が遅延したものと思われる。

文 献

- 1) Nishikaze, O., et al.: Int. J. Tiss. Reac. 4: 261, 1982.
- 2) 3) Nishikaze, O., et al.: Int. J. Tiss. Reac. (in press)
- 4) Wang, H.P., et al.: Biochem. Biophys. Acta 640: 721, 1980.
- 5) Willmore, L.J., et al.: Brain Res. 246: 215, 1982.
- 6) Fukuhara, M., et al.: Biochem. Pharmacol. 18: 475, 1969.
- 7) Yagi, K.: Biochem. Med. 15: 212, 1976.
- 8) Babson, A.L., et al.: Clin. Chem. Acta 12: 210, 1965.
- 9) 赤塚伊己・他：臨床病理（補冊）26: 85, 1978.
- 10) Koller, F., et al.: Acta Haemat. 6: 1, 1951.
- 11) Lorand, L., et al.: J. Clin. Invest. 48: 1054, 1969.
- 12) Gallimore, M.J., et al.: Thrombos. Diathes. Haemorrh. 26: 295, 1971.
- 13) Cundall, R.B., et al.: Analyst 98: 857, 1973.
- 14) Kwaan, H.C., et al.: Exp. Mol. Pathol. 11: 82, 1969.
- 15) Bragt, P.C., et al.: Prostaglandins and Medicine 2: 51, 1979.
- 16) Abok, K., et al.: Virch. Arch. 42: 119, 1983.