シンポジウムⅢ

生体内フリーラジカルと内科疾患

6. 肺障害とフリーラジカル

信州大学医学部第一内科 小林俊夫 久保恵嗣

はじめに

肺はその機能上、他の臓器に比し、常に酸素の豊富な環境下に暴露されており、かつ、呼吸により、細菌、タバコ煙、オゾンなどのフリーラジカルの産生に関与する有害物質に曝露されている。

活性酸素が関与する代表的肺疾患には、肺酸素中毒¹⁾、パラコート肺²⁾、成人呼吸促迫症候群 (ARDS)³⁾、放射線および薬物性肺臓炎⁴⁾、特発性間質性肺炎⁵⁾、などがある。これらの疾患に共通する病態は、肺微小血管損傷による透過性亢進である。しかし、この損傷および防御メカニズムにおける活性酸素の関与は未だ十分解明されていない。今回、主として肺酸素中毒とパラコート肺について、それらの発症機序における活性酸素の役割を検討し、若干の知見を得たので報告する。

1. 肺酸素中毒

肺酸素中毒の肺血管透過性亢進における活性酸素の役割を明らかにするために、体重22～35kgの緬羊を用い、Staubらの方法⁶⁾にしたがい慢性肺リンパ瘻を作製、左房、肺動脈主幹部、胸部大動脈に圧測定用チューブを挿入した。実験前日にSwan-Ganzカテーテルを肺動脈に挿入し、熱希釈法にて心拍出量を測定した。また、気管切開を行い、気管チューブを挿入し、正確に100%酸素

が投与できるようにした。実験は、手術の影響を脱した1週間後に無麻酔立位の状態でいった。測定項目は、肺循環量、肺リンパ流量、末梢血白血球数、動脈血ガス分析、また、肺組織内スーパーオキシド・デスモターゼ (SOD) 活性は、RIA法⁷⁾で測定した。実験プロトコールは、1) 肺酸素中毒モデルを作製、2) 肺酸素中毒における好中球の役割、3) ラジカルスキャベンジャーを誘導するエンドトキシンの経静脈内投与が肺酸素中毒に及ぼす効果について検討した。

覚醒時緬羊に100%酸素を死亡するまで吸入させると、肺リンパ流量は、100%酸素吸入開始72時間後から増加し始め、96時間後ではbaseline値の約4倍に達し、有意な肺血管透過性の亢進が認められた。吸入開始後76時間より96時間に6頭中2頭、96時間前後で残りの4頭が死亡した。なお、肺循環動態には全経過を通して有意な変化は認めなかった。また動脈血酸素分圧は、100%酸素吸入開始48時間後から低下し始め、96時間後では平均48Torrであった。

次に、肺酸素中毒における白血球の役割を解明するために、緬羊をhydroxyurea (H) およびnitrogen mustard (NM) で前処置し、白血球数を750/mm³以下に減少させた後、100%酸素を吸入させ、肺水腫の発現および生存時間に及ぼす効果を検討した。肺リンパ流量は、H群では、100%酸素吸入96時間後にbaseline値に比し、3.4倍、

Symposium on free radicals and diseases

Oxidant-induced lung injury

Toshio KOBAYASHI, Keishi KUBO, The First Department of Internal Medicine Shinshu University School of Medicine, Matsumoto

図 1. 白血球減少綿羊における100%酸素吸入による肺リンパ流量の変化

図 2. 白血球減少綿羊における肺酸素中毒の生存時間

図 3. エンドトキシン前処理綿羊における100%酸素吸入による肺リンパ流量の変化

120時間では約5倍に達した。またN群では96時間でbaseline値に比し、約7倍に達した(図1)。肺循環動態には変化はみられなかった。H群では肺水腫発現の遅延および生存時間の延長を認めたが、NM群では肺水腫はより早期に発現し、生存時間も短縮した(図2)。これらのことから、肺酸素中毒発症に白血球の関与は少ないと推察された。

さらに、ラジカスカベンジャーを誘導すると考えられているエンドトキシン投与が、肺酸素中毒に及ぼす効果を検討した。肺リンパ流量は、100%酸素吸入群では、前述のごとくであったが、エンドトキシン単独投与群では、エンドトキシン

投与30分後増加し、48時間後にもbaseline値に復した。また、エンドトキシン処置後100%酸素吸入群では、1および4時間では、エンドトキシン単独投与群と同様であったが、その後は、baseline値には復さなかったが、100%酸素吸入群のように、4倍前後に増加することはなかった(図3)。生存時間は100%酸素吸入群では92±3時間で全例死亡したのに対し、エンドトキシン処置後100%酸素吸入群のそれは172±25時間であり、約2倍の生存時間の延長がみられた。また、肺組織中のSODを測定すると、エンドトキシン投与後マンガンSODは有意に増加していた(表1)。以上より、エンドトキシンがマンガンSODを誘導

して、肺酸素中毒に対し抑制効果を示したものと推察された。

2. パラコート肺

パラコート中毒の際、肺は標的臓器の1つであり、急性期には、肺胞上皮細胞障害、多核白血球浸潤、肺胞腔内への出血および肺水腫形成などがみられる⁸⁾。パラコートは生体内での還元物質ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸などより1電子を受けると反応性の高いフリーラジカルである paraquat cation radical となる。このラジカルは、さらに酸素分子と反応してスーパーオキシドラジカル (O_2^-) を生じ、一方、過酸化水素とも反応して、より反応性の強いヒドロキシラジカル ($\cdot OH$) を生じる。このようにパラコー

表1. 肺組織中 MnSOD 濃度

Group	MnSOD ($\mu g/gm$ protein)	
(n)	Baseline	Postmortem
air (4)	24 $\pm$ 5	29 $\pm$ 4
endotoxin alone (5)		
10 days	14 $\pm$ 0.6	42 $\pm$ 7*
4 days	14 $\pm$ 1	36 $\pm$ 2*
100% O ₂ alone (4)	18 $\pm$ 3	37 $\pm$ 3*
100% O ₂ + endotoxin (3)	15 $\pm$ 2	61 $\pm$ 9*

トは、生体内で連続的な O_2^- や $\cdot OH$ の生成を惹起し、しかもパラコートは肺によく蓄積されるため、これらの生成されたラジカルが肺組織を障害すると考えられている²⁾。

そこで今回、覚醒時綿羊を用い、肺酸素中毒の際と同様に慢性肺リンパ瘻を作製し、パラコート

図4. Deferoxamine 処置による綿羊パラコート肺における肺水分バランスの変化

30mg/kg を経静脈的に投与し、急性パラコート肺損傷モデルを作製し、 $\cdot\text{OH}$ の生成を抑制すると考えられている鉄キレート薬 deferoxamine (DF)⁹⁾ および $\cdot\text{OH}$ の消去薬である dimethylthiourea (DMTU)¹⁰⁾ を投与し、それらが肺水分バランスおよび肺循環動態に及ぼす効果を検討した。

図 4 にパラコート単独投与群および DF 処置群の肺水分バランスの変化を示す。パラコート単独投与群では、肺リンパ流量はパラコート投与 3～4 時間後から増加し始め、7 時間後では baseline 値の約 3 倍に達した。肺リンパ/血漿蛋白濃度比は、肺リンパ流量の増加とほぼ一致して増加し、パラコート投与 3.5 時間以降で baseline 値に比し有意に増加した。肺血管透過性亢進の指標の一つである肺リンパ蛋白クリアランスは、パラコート投与 3～4 時間以降で baseline 値に比し有意に増

加した。肺循環動態は、肺動脈圧および左房圧は全経過を通じて有意な変化を認めなかったが、心拍出量は、パラコート投与後、低下する傾向をみるとめ、また肺血管抵抗は、有意に増加した。DF 処置群においては、肺リンパ流量はパラコート投与 4 時間後から増加し始めたが、投与 7 時間後で baseline 値 4.3 から 7.2 ml/h と増加したのみであり、パラコート単独投与群が 3 倍近く増加したのに比し、有意に抑制された。

さらに、図 5 に示すごとく DMTU 処置群でも DF 処置群と同様の变化を示した。このことより、DF および DMTU が肺血管内皮細胞の障害を抑制し、 $\cdot\text{OH}$ がパラコート肺損傷の発生機序に深く関与していることが推察された。

図 5. Dimethylthiourea 処置による綿羊パラコート肺における肺水分バランスの変化

おわりに

肺障害におけるフリーラジカルの関与を検討するために、覚醒綿羊を用いた肺酸素中毒モデル、およびパラコート中毒モデルを作製し、次の結果を得た。肺酸素中毒発症に白血球の関与は少なく、また、エンドトキシン前処置により、肺酸素中毒発症は抑制された。この機序にエンドトキシンによる肺組織内 MnSOD の上昇が示唆された。また、 $\cdot\text{OH}$ の生成を抑制すると考えられている鉄キレート薬 deferoxamine および $\cdot\text{OH}$ の消去薬である dimethylthiourea の投与は、パラコートによる肺血管透過性亢進を抑制した。綿羊のパラコート肺損傷の発生機序にヒドロキシルラジカルの関与が示唆された。

今後、各種肺疾患の病態におけるフリーラジカルの役割により詳細な解明により、新しい治療法の開発が期待される。

文 献

- 1) Frank L, Massaro D : Oxygen toxicity. *Am J Med* 69 : 117, 1980.
- 2) Smith LL : The response of the lung to foreign compounds that produce free radicals. *Ann Rev Physiol* 48 : 681, 1986.
- 3) Cochrane CG, Spragg R, et al : Pathogenesis of the adult respiratory distress syndrome. *J Clin Invest* 71 : 745, 1983.
- 4) Martin WJ, Kachel DL : Bleomycin-induced pulmonary endothelial cell injury : Evidence for the role of iron-catalyzed toxic oxygen-derived species. *J Lab Clin Med* 110 : 153, 1987.
- 5) Strausz J, Muller-Quernheim J, et al : Oxygen radical production by alveolar inflammatory cells in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 141 : 124, 1990.
- 6) Staub NC, Bland RD, et al : Preparation of chronic lung lymph fistulas in sheep. *J Surg Res* 19 : 315, 1975.
- 7) Asayama K, and Burr IM : Rat superoxide dismutase. Purification, labeling, immunoassay, and tissue concentration. *J Biol Chem* 260 : 2212, 1985.
- 8) Vijayaratnam GS, Corrin B : Experimental paraquat poisoning : a histological and electron-optical study of the changes in the lung. *J Pathol* 103 : 123, 1971.
- 9) Halliwell B, Gutteridge MC : Iron and free radical reactions : two aspects of antioxidant protection. *Trends Biochem Sci* 11 : 372, 1986.
- 10) Jackson JH, White CW, et al : Dimethylthiourea decreases acute lung edema in phorbol myristate acetate-treated rabbits. *J Appl Physiol* 61 : 353, 1986.