

マウスのブレオマイシン肺臓炎モデルにおけるアラキドン酸代謝産物の関与

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9181

マウスのブレオマイシン肺臓炎モデルにおける アラキドン酸代謝産物の関与

金沢大学医学部医学科内科学第三講座 (主任: 松田 保教授)

野 村 将 春

特発性間質性肺炎, 特発性肺線維症は, 原因不明の難治性肺疾患である. その研究においては, ブレオマイシン (bleomycin, BLM) 投与による動物モデルが頻用されている. これまで, BLM 肺線維症モデルにおいて, アラキドン酸代謝産物 (arachidonic acid metabolite, AAM) に関する研究はほとんどなく, その関与を検討した. ICR 系雄性マウスに BLM 150mg/kg を静脈内投与することで肺線維症モデルを作成し, BLM 投与後28日目の肺湿重量, 肺/体重比および病理組織学的評価を指標とした. トロンボキサン A_2 (thromboxane A_2 , TXA_2) 受容体拮抗剤である S-1452, ペプチドロイコトリエン (peptide leukotriene, pLT) 受容体拮抗剤である AS-35, プロスタグランディン E_1 (prostaglandin E_1 , PGE_1) 誘導体である $PGE_1\alpha CD$, およびプロスタグランディン I_2 (PGI_2) 誘導体である OP-41483 αCD を BLM 投与後14日間腹腔内投与し, その影響を検討した. S-1452 は BLM による肺湿重量の増加 (対照, BLM, BLM+S-1452 1mg/kg, および BLM+S-1452 3mg/kg の重量は各々, $0.20 \pm 0.04g$, $0.32 \pm 0.02g$, $0.26 \pm 0.01g$, $0.26 \pm 0.01g$ ($\bar{x} \pm SE$)), およびスコア化した肺線維化を抑制した (対照, BLM, BLM+S-1452 1mg/kg, および BLM+S-1452 3mg/kg のスコア値は各々, 0 ± 0 点, 3.2 ± 0.4 点, 2.9 ± 0.4 点, 2.5 ± 0.3 点). 検討したその他の薬剤も同様に肺の線維化を有意に抑制した. しかしながら各薬剤の抑制効果は部分的なものであった. 以上の成績より, TXA_2 および pLT は肺線維化形成過程に関して促進的に作用し, PGE_1 および PGI_2 は抑制的に作用していることが示唆された. また, それぞれの作用は部分的であったことから, 肺の線維化には AAM が複雑に関与していることが示唆された.

Key words idiopathic interstitial pneumonia, idiopathic pulmonary fibrosis, bleomycin-induced lung injury, arachidonic acid metabolite.

特発性間質性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonia, IIP), 特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) は, 今だ原因不明で治療法も確立されていない予後不良な疾患である. したがって, この疾患に関する研究は, 呼吸器病学における重要なものの1つとなっている. ブレオマイシン (bleomycin, BLM) は, 扁平上皮癌や悪性リンパ腫などの悪性腫瘍の治療に広く使われている抗癌剤である¹⁾が, その副作用としてヒトや動物²⁻⁴⁾に肺線維症を起こすことが知られている. それゆえ簡便に肺の線維化が作成され, その病変が IIP, IPF と類似していることから, この疾患の研究目的に BLM を投与した動物モデルが頻用されている⁵⁾. IIP, IPF, および BLM 肺線維症モデルはいわば慢性の炎症性肺疾患であり, 従来より炎症の視点から各種サイトカインや活性酸素などの検討がおこなわれている^{6,7)}. トロンボキサン (thromboxane, TX), ロイコトリエン (leukotriene, LT), プロスタグランディン (prostaglandin, PG) などのアラキドン酸代謝産物 (arachidonic acid metabolite, AAM) も炎症一般に関わる重要なメディエーターであり, 呼吸器系疾患では気管支喘息や急性呼吸窮迫症候群などで詳細に検

討されている⁸⁻¹³⁾. しかし, IIP, IPF, および BLM 肺線維症モデルに関しては, 末梢血および気管支肺胞洗浄液中の一部の AAM の検出¹⁴⁾ 以外にはほとんど研究されていない. そこで, これらのメディエーターの肺線維化過程への関与を明らかにすることを目的として, BLM 肺線維症モデルに対する TX, LT, および PG の特異的拮抗剤あるいは類似物質投与の影響について研究した.

対照および方法

I. 実験動物

ICR 系雄性マウス (10~12週齢, 体重 35~40g, 日本クレア, 東京) を金沢大学動物実験施設内の空調飼育室 (室温 $23 \pm 2^\circ C$, 湿度 55.5%) にて1週間以上飼育し, 肉眼的観察により健康な動物を実験に用いた.

II. BLM 単回静脈内投与によるマウスの肺臓炎モデルの作製

安井の方法¹⁵⁾に基づいてマウスの肺臓炎モデルを作製した. すなわち BLM (日本化薬 東京) を生理的食塩水 0.2ml に溶解

平成7年11月24日受付, 平成7年12月28日受理

Abbreviations: AAM, arachidonic acid metabolite; BLM, bleomycin; IIP, idiopathic interstitial pneumonia; IPF, idiopathic pulmonary fibrosis; LT, leukotriene; PG, prostaglandin; pLT, peptide leukotriene; TX, thromboxane.

し、1匹当たり BLM 150mg/kg になるようにマウスの尾静脈から投与した。

Ⅲ. 肺湿重量、体重測定並びに病理組織学的評価

1) 肺湿重量、体重の測定

BLM 投与後28日目にマウスをペントバルビタールナトリウム (ダイナボット, 大阪) 5mg を腹腔内に注射して麻酔し、体重を測定後腹部を正中切開し腹部大動脈を露出させ切開して脱血死させた。次いで胸腔を切開し心肺を一塊にして摘出後、肺だけを分離した。肺の湿重量を測定し、10%ホルマリンにて24時間以上固定した。

2) 病理組織学的評価

ホルマリン固定した肺を24時間以上水道水で洗浄後パラフィンブロックを作製した。厚さ 4 μ m のパラフィン切片を切り出しスライドガラス上に固定し、パラフィン切片標本を作製した。作製したパラフィン切片標本に HE 染色、およびマッソントリクロム染色を施した。それらを光学顕微鏡にて観察し病理組織学的に評価した。肺線維化の程度は表1のように浴本らの方法¹⁶⁾に従いスコア化した。さらにマウス毎に2点以上を示した肺葉数を総肺葉数で除し、肺葉あたりの発生頻度の百分率を算出して線維化の発生頻度とした。

Ⅳ. TXA₂ 受容体拮抗剤の影響

肺線維化における内因性 TXA₂ の関与を検討するため、特異的 TXA₂ 受容体拮抗剤である S-1452 (塩野義製薬, 大阪) を用い、以下の5群について BLM 投与28日後の肺湿重量、肺/体重比、および病理組織学的評価を比較した。

1) S-1452 単独投与群 (n=10), 2) BLM 単独投与群 (n=10), 3) BLM+S-1452 0.3mg/kg 投与群 (n=10), 4) BLM+S-1452 1mg/kg 投与群 (n=10), 5) BLM+S-1452 3mg/kg 投与群 (n=10). S-1452 は生理食塩水 0.5ml に溶解し BLM 投与後14日間連続で腹腔内投与した。

Ⅴ. ペプチドロイコトリエン (peptide leukotriene, pLT) 受容体拮抗剤の影響

肺線維化における pLT の関与を検討するため、特異的 pLT 受容体拮抗剤である AS-35 (東京田辺製薬, 東京) を用い、以下の4群について BLM 投与後28日後の肺湿重量、肺/体重比、および病理組織学的評価を比較した。

1) AS-35 単独投与群 (n=10), 2) BLM 単独投与群 (n=10), 3) BLM+AS-35 1mg/kg 投与群 (n=10), 4) BLM+AS-35 3mg/kg 投与群 (n=10). AS-35 はジメチルホルムアミドに溶解し、BLM 投与後14日間連続で腹腔内投与した。

Ⅵ. PGE₁ 製剤投与の影響

PGE₁ を特異的に拮抗する物質がないため、PGE₁ 類似物質である PGE₁ α CD (小野薬品工業, 東京) を用い、以下の4群について BLM 投与後28日後の肺湿重量、肺/体重比、および病理組織学的評価を比較した。

1) PGE₁ α CD 単独投与群 (n=10), 2) BLM 単独投与群 (n=10), 3) BLM+PGE₁ α CD 0.5mg/kg 投与群 (n=10), 4) BLM+PGE₁ α CD 1.5mg/kg 投与群 (n=10). PGE₁ α CD は生理食塩水 0.5ml に溶解し、BLM 投与後14日連続で腹腔内投与した。

Ⅶ. PGI₂ 製剤投与の影響

PGI₂ を特異的に拮抗する物質がないため、PGI₂ の類似物質である OP-41483 α CD (小野薬品工業) を用い、以下の4群について BLM 投与後28日後の肺湿重量、肺/体重比、および病理組織

Table 1. The criteria for morphological evaluation of pulmonary fibrosis induced by BLM in mice

Criteria	
—	(0) Absence of fibrosis
±	(1) Areas with questionable fibrosis in alveolar septa
+	(2) A few foci of fibrosis, often in subpleural area
++	(4) Scattered foci of fibrosis
+++	(6) Diffuse fibrosis
Grade (scores)=	$\frac{\text{Total scores of specimens in one mouse}}{\text{Number of specimens in the same mouse}}$
Incidence (%) =	$\frac{\text{Number of specimens with fibrosis in one mouse}}{\text{Number of specimens in the same mouse}}$

学的評価を比較した。

1) OP-41483 α CD 単独投与群 (n=10), 2) BLM 単独投与群 (n=10), 3) BLM+OP-41483 α CD 0.5mg/kg 投与群 (n=10), 4) BLM+OP-41483 α CD 1.5mg/kg 投与群 (n=10). OP-41483 α CD は生理食塩水 0.5ml に溶解し、BLM 投与後14日連続で腹腔内投与した。

Ⅷ. 統計処理

得られた計測値は、すべて平均値±標準誤差で示した。得られた計測値の比較には、Wilcoxon の順位検定を使用し、両側検定で危険率 5% 以下をもって有意差ありと判定した。

成 績

Ⅰ. TXA₂ 受容体拮抗剤の影響

1. 肺湿重量および肺/体重比

図1で示されたように、BLM 単独投与群に比較して BLM+S-1452 1mg/kg, 3mg/kg 投与群では、肺湿重量、肺/体重比の増加が有意に抑制された。

2. 病理組織学的評価

図2で示されたように、BLM 単独投与群に比較して、BLM+S-1452 3mg/kg 投与群では肺線維化の程度、発生頻度とも有意に低下していた。

Ⅱ. pLT 受容体拮抗剤の影響

1. 肺湿重量および肺/体重比

図3で示されたように BLM 単独投与群に比較して、BLM+AS-35 3mg/kg 投与群では BLM による肺湿重量、肺/体重比の増加が有意に抑制された。

2. 病理学的評価

図4で示されたように BLM 単独投与群に比較して、BLM+AS-35 3mg/kg 投与群では肺線維化の発生程度、頻度とも有意に低下していた。

Ⅲ. PGE₁ 類似物質 PGE₁ α CD の影響

1. 肺湿重量および肺/体重比

図5で示されたように、BLM+PGE₁ α CD 1.5mg/kg 投与群では BLM による肺湿重量、肺/体重比の増加が有意に抑制された。

2. 病理学的評価

図6で示されたように、BLM 単独投与群に比較して、BLM+PGE₁ α CD 1.5mg/kg 投与群では BLM による肺線維化の発生程度、頻度とも有意に低下していた。

Ⅳ. PGI₂ 類似物質 OP-41483 α CD の影響

1. 肺湿重量および肺/体重比

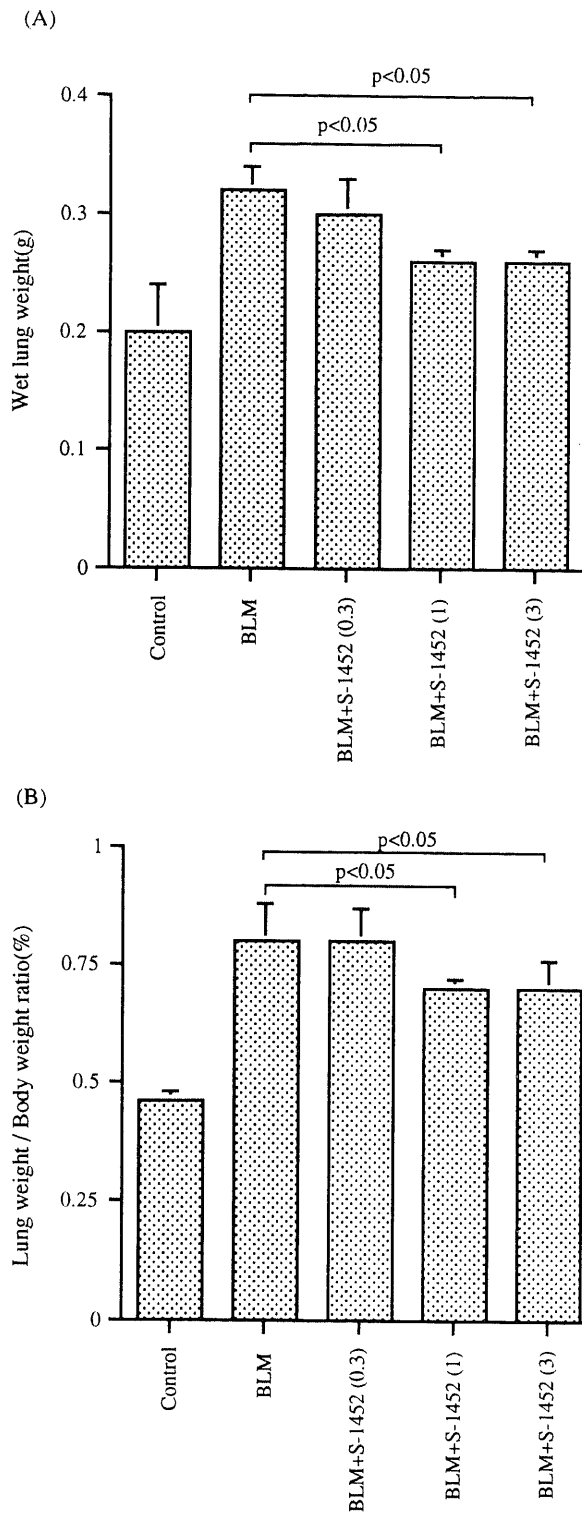


Fig. 1. Effect of S-1452 treatment on the wet lung weight (A) and the lung weight-to-body weight ratio (B) in mice treated with BLM. Mice were treated with various doses (0.3, 1 and 3 mg/kg, intra-peritoneally (intraperitoneally, ip.)) of S-1452 for 14 days after the administration of BLM (150 mg/kg body weight). The animals were sacrificed at 28 days after the BLM treatment. Each bar represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

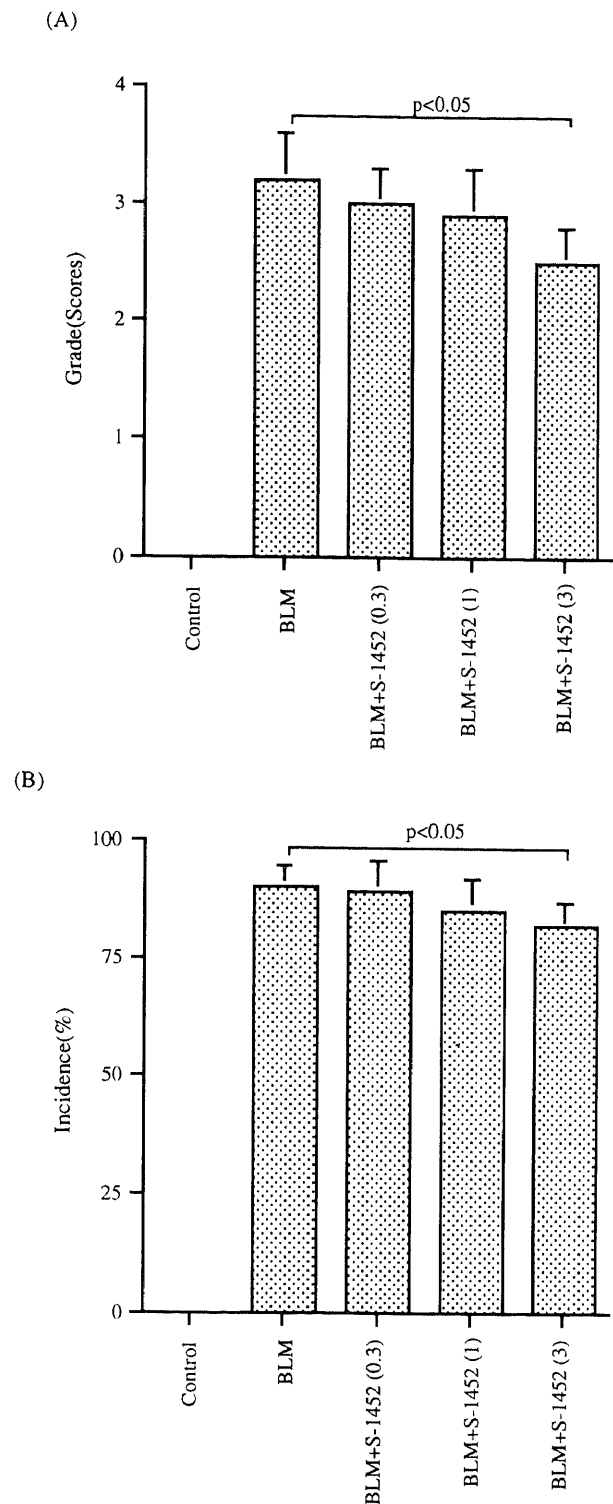
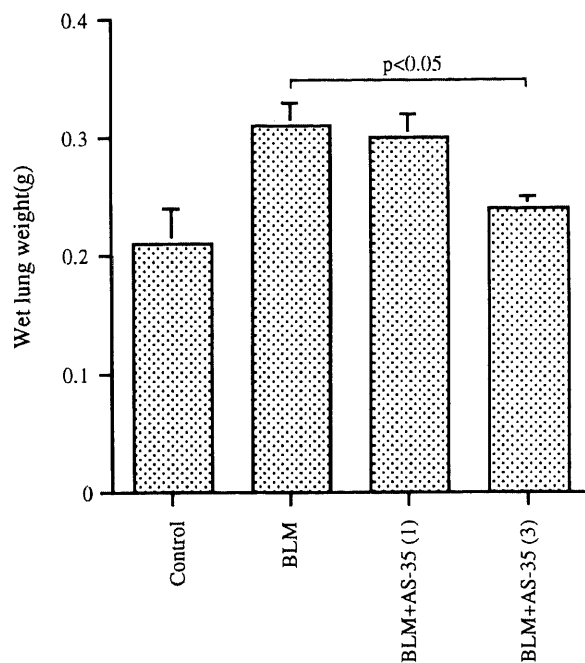


Fig. 2. Effect of S-1452 treatment on the grade of fibrosis (A) and the incidence of fibrosis (B) in mice treated with BLM. Mice were treated with various doses (0.3, 1 and 3 mg/kg, ip) of S-1452 for 14 days after the administration of BLM (150 mg/kg body weight). The animals were sacrificed at 28 days after the BLM treatment. Each bar represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

(A)



(B)

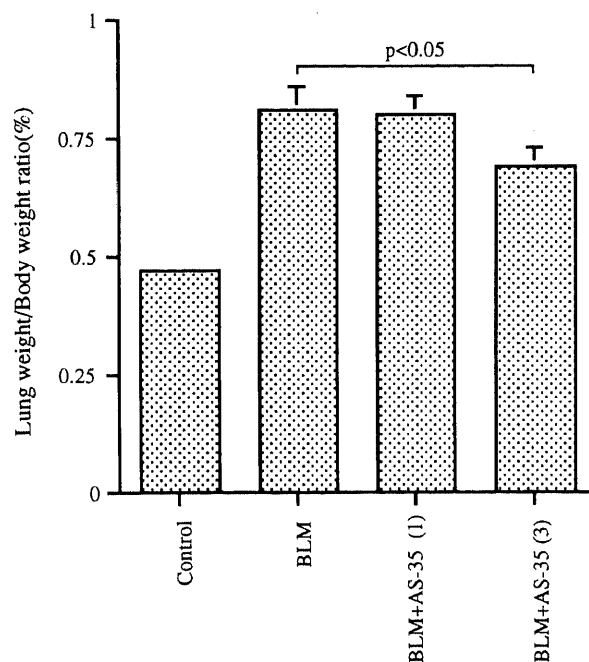
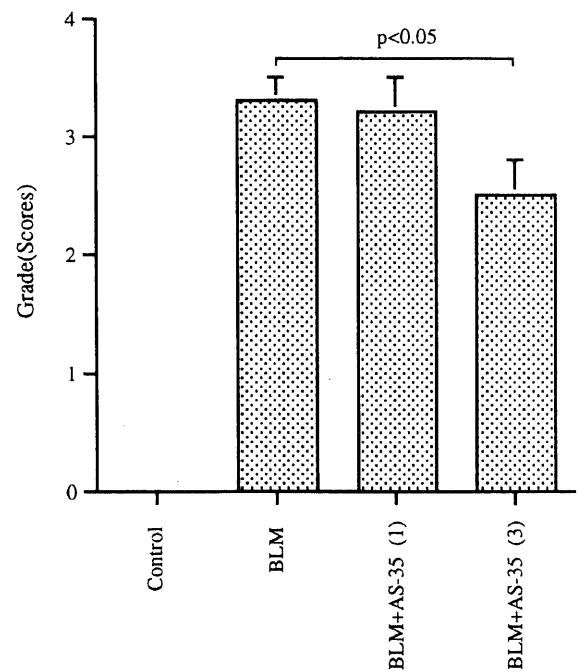


Fig. 3. Effect of AS-35 treatment on the wet lung weight (A) and the lung weight-to-body weight ratio (B) in mice treated with BLM. Mice were treated with various doses (1 and 3 mg/kg, ip) of AS-35 for 14 days after the administration of BLM (150 mg/kg body weight). The animals were sacrificed at 28 days after the BLM treatment. Each bar represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

(A)



(B)

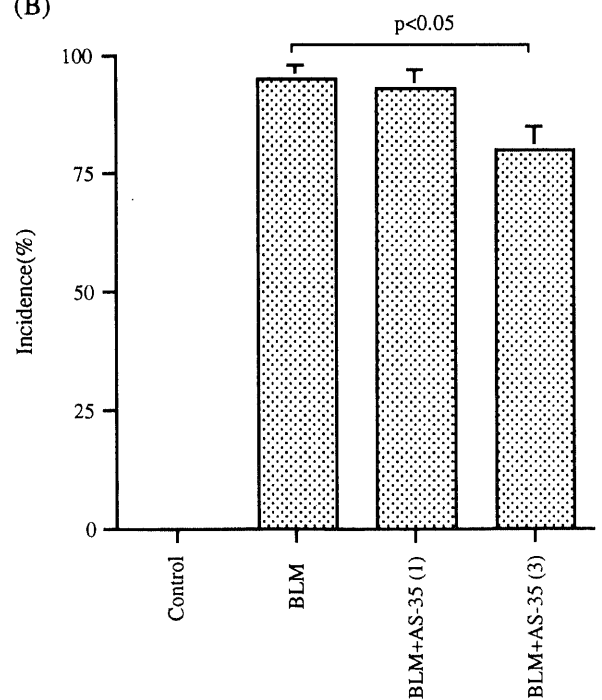


Fig. 4. Effect of AS-35 treatment on the grade of fibrosis (A) and the incidence of fibrosis (B) in mice treated with BLM. Mice were treated with various doses (1 and 3 mg/kg, ip) of AS-35 for 14 days after the administration of BLM (150 mg/kg body weight). The animals were sacrificed at 28 days after the BLM treatment. Each bar represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

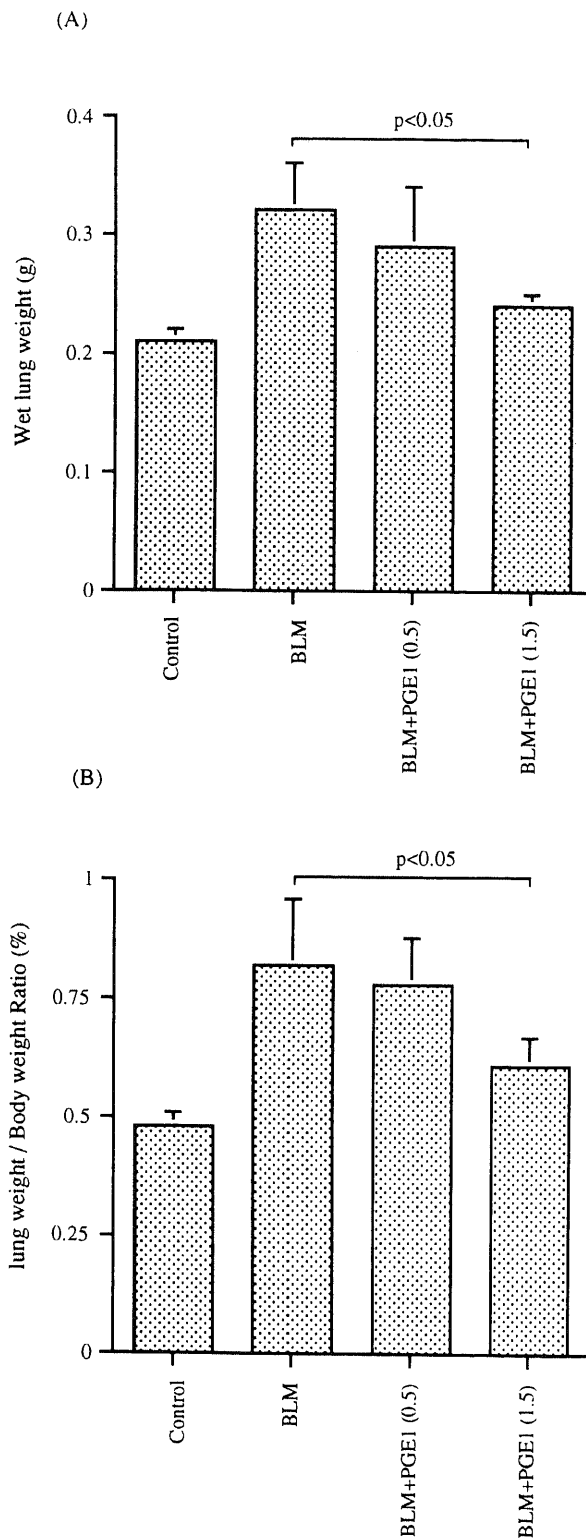


Fig. 5. Effect of PGE₁αCD on the wet lung weight (A) and the lung weight-to-body weight ratio (B) in mice treated with BLM. Mice were treated with various doses (0.5 and 1.5 mg/kg, ip) of PGE₁αCD for 14 days after the administration of BLM (150 mg/kg body weight). The animals were sacrificed at 28 days after the BLM treatment. Each bar represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

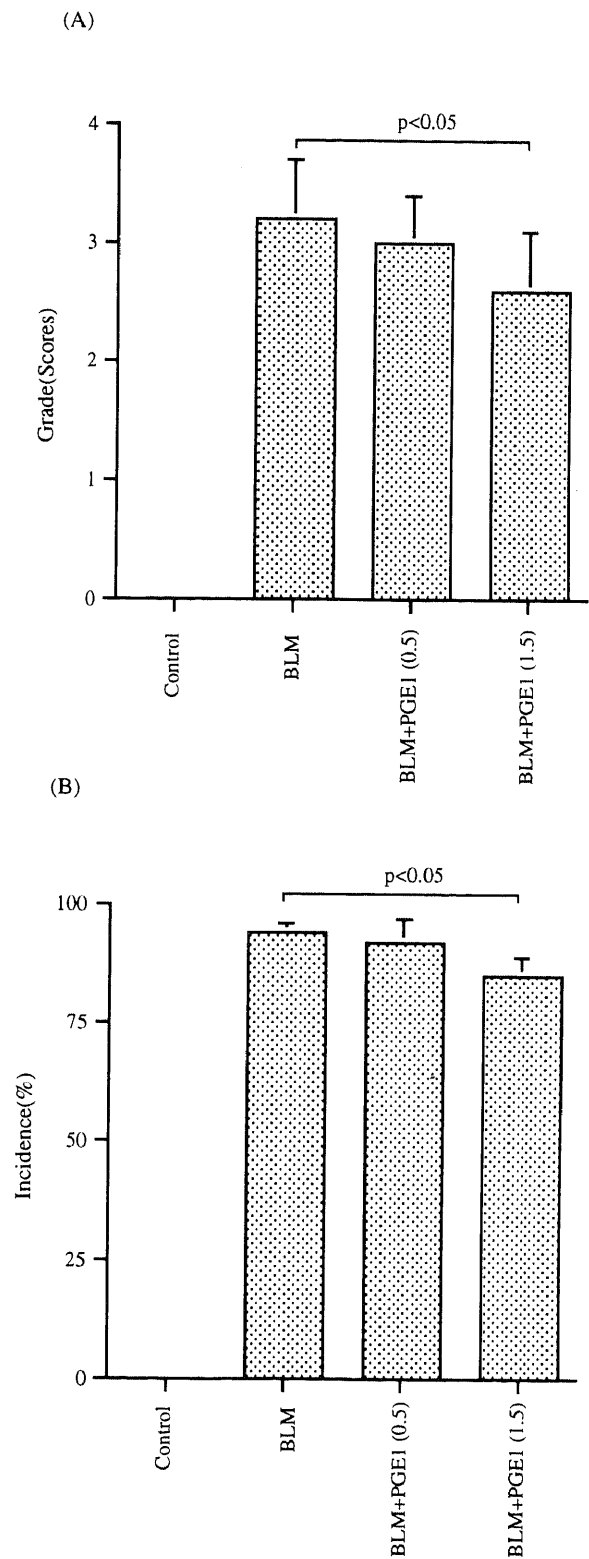


Fig. 6. Effect of PGE₁αCD on the grade of fibrosis (A) and the incidence of fibrosis (B) in mice treated with BLM. Mice were treated with various doses (0.5 and 1.5 mg/kg, ip) of PGE₁αCD for 14 days after the administration of BLM (150 mg/kg body weight). The animals were sacrificed at 28 days after the BLM treatment. Each bar represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

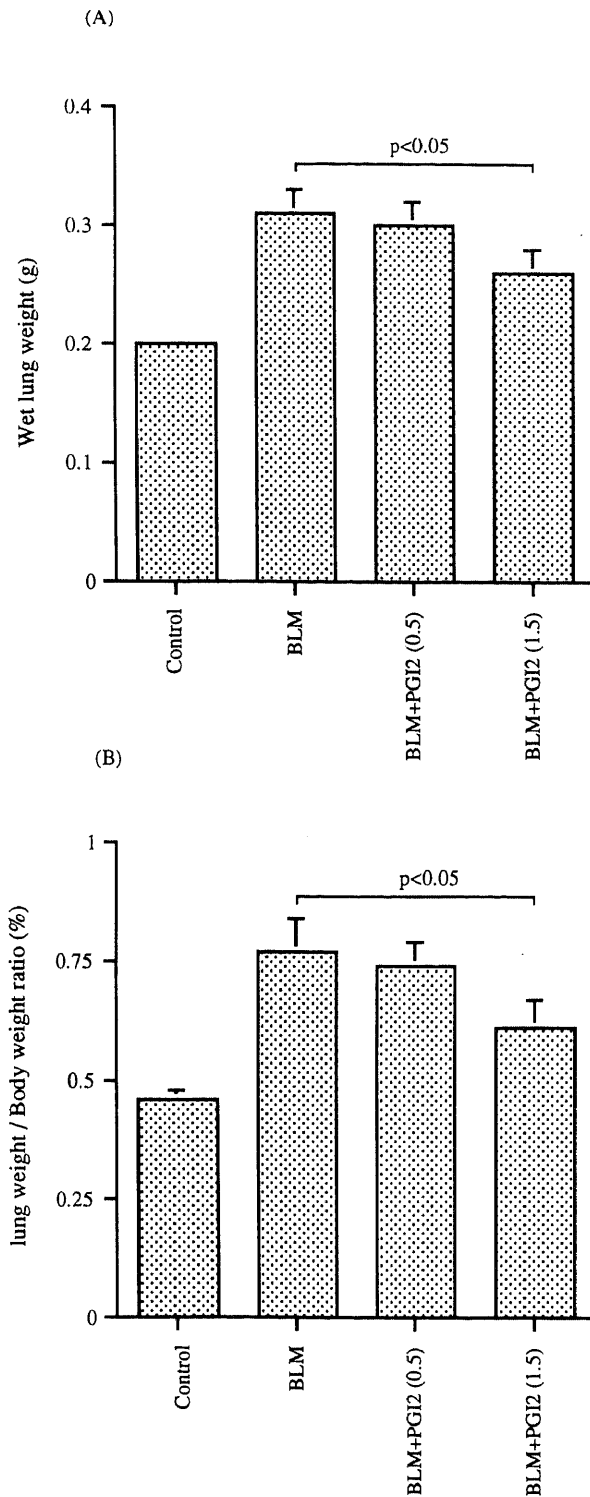


Fig. 7. Effect of OP-41483αCD on the wet lung weight (A) and the lung weight-to-body weight ratio (B) in mice treated with BLM. Mice were treated with various doses (0.5 and 1.5 mg/kg, ip) of OP-41483αCD for 14 days after the administration of BLM (150 mg/kg body weight). The animals were sacrificed at 28 days after the BLM treatment. Each bar represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

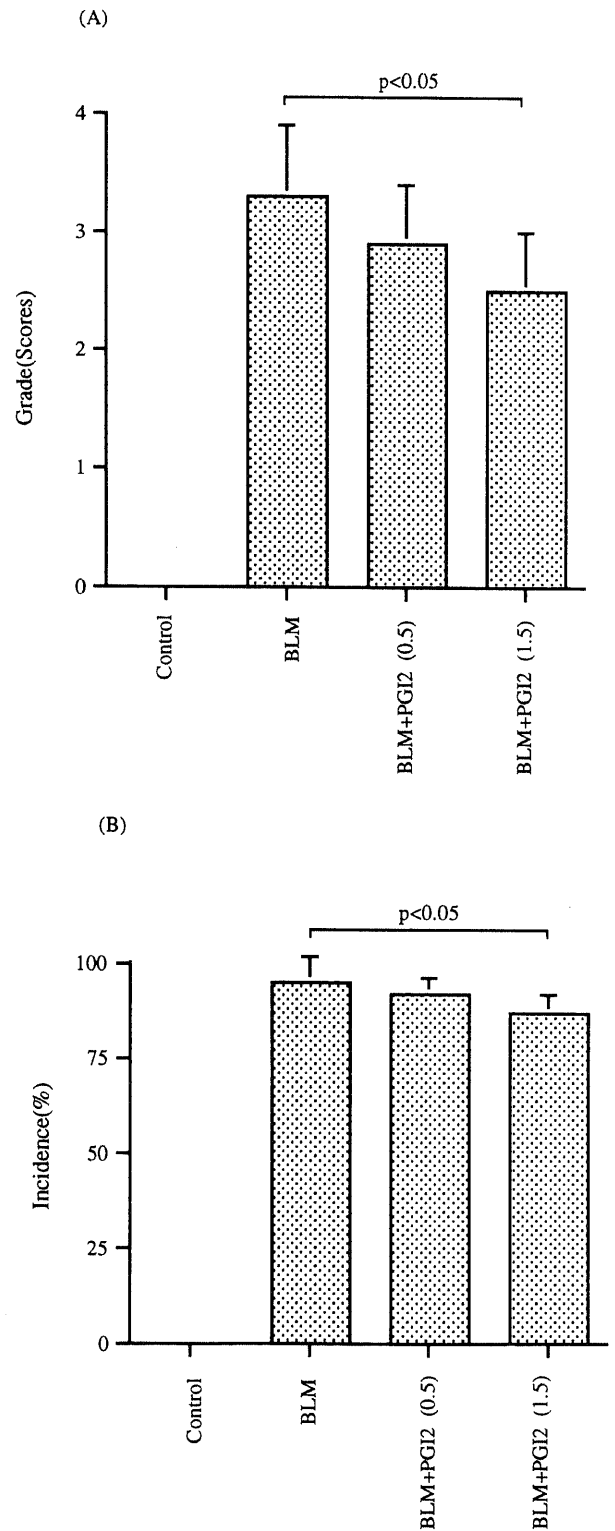


Fig. 8. Effect of OP-41483αCD on the grade of fibrosis (A) and the incidence of fibrosis (B) in mice treated with BLM. Mice were treated with various doses (0.5 and 1.5 mg/kg, ip) of OP-41483αCD for 14 days after the administration of BLM (150 mg/kg body weight). The animals were sacrificed at 28 days after the BLM treatment. Each bar represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

図7で示されたように、BLM 単独投与群に比較して、BLM+OP-41483αCD 1.5mg/kg 投与群では BLM による肺湿重量、肺/体重比の増加が有意に抑制された。

2. 病理学的評価

図8で示されたように、BLM 単独投与群に比較して、BLM+OP-41483αCD 1.5mg/kg 投与群では BLM による肺線維化の発生程度、頻度とも有意に低下していた。

考 察

今回の研究では、TXA₂および pLT の特異的拮抗剤によって BLM による肺線維化が抑制されたことより、内因性の TXA₂ および pLT は肺線維化形成に関して促進的に作用していることが示唆された。また、PGE₁ および PGI₂ に関しては、拮抗物質がないために類似物質の投与を行なったが、いずれの類似物質によっても肺線維化が抑制されたことより、内因性の PGE₁ と PGI₂ は肺線維化形成に関して抑制的に作用していることが示唆された。

TXA₂ は、主に血小板より産生され^{17)~19)}、肺では一部マクロファージからも産生される²⁰⁾。生理活性としては血小板凝集作用、血管平滑筋収縮作用、気管支平滑筋収縮作用をもち、TXA₂ 拮抗剤によりこれらの作用が抑制されることが報告されている²¹⁾²²⁾。BLM 肺線維症モデルにおいても、初期の組織所見では肺血管内に微小血栓が認められ、血小板凝集阻害剤である塩酸チクロピジンの投与によって肺線維化が抑制されることが報告されている²³⁾²⁴⁾。したがって、今回の実験における TXA₂ 拮抗剤の作用機序としては、抗血小板作用によって初期の肺血管内微小血栓形成を抑制して、以後の線維化形成過程を抑制したと推測される。また、TXA₂ はマクロファージの Ia 抗原の発現を増強することから、マクロファージの活性化に関与していることが報告されている²⁵⁾。BLM 肺線維症モデルにおいては、活性化肺泡マクロファージが各種サイトカインや活性酸素などを放出することによって、肺の線維化過程における中心的役割を担っていることも考えられている²⁶⁾。したがって、TXA₂ 拮抗剤が TXA₂ を介した肺泡マクロファージの活性化を阻害することによって、肺線維化抑制効果がえられたとも考えられる。BLM 肺線維症モデルでの TXA₂ に関する測定実験はないが、特発性間質性肺炎患者の末梢血中では TXB₂ の増加していることが報告されており²⁷⁾、TXA₂ が肺線維化形成を促進していることを示唆する。

pLT は、肺泡マクロファージを含む種々の炎症細胞より産生され、その受容体は肺に最も多く、心臓や腸にも分布している²⁸⁾。pLT はアレルギー性喘息や種々の炎症に関与していると考えられている²⁹⁾。また IIP 患者では気管支肺泡洗浄液中の LTC₄ が上昇している²⁷⁾。BLM 肺線維症モデルにおいても、リポキシゲナーゼ阻害剤が線維化の形成を抑制することが報告されている³⁰⁾。したがって、pLT 拮抗剤により pLT を介した炎症作用を抑制することによって、肺線維化抑制効果が得られたと推測される。

PGE₁ は、全身のあらゆる臓器において生理的な刺激により産生され、その受容体もほとんどすべての臓器に存在する³¹⁾。PGE₁ の生理活性としては、血小板凝集抑制作用、血管平滑筋拡張作用³²⁾がある。したがって、PGE₁ の抑制機序としては、抗血小板作用を介した TXA₂ 拮抗剤と同様の作用機序が考えられる。さらに、PGE₁ は免疫反応や炎症反応に関与するとの報

告^{33)~35)}や、PGE₁ と類似の作用を有する PGE₂ にはマクロファージにおける Ia 抗原発現や炎症性サイトカインの産生を抑制する作用³⁶⁾、線維芽細胞の増殖およびコラーゲン産生を抑制する作用³⁷⁾³⁸⁾などが報告されている。したがって、PGE₁ も PGE₂ と同様の作用を介して肺線維化を抑制していることが推測される。肺線維症における PGE₁ の測定成績に関する報告はないが、PGE₂ については、特発性肺線維症患者および肺線維症モデルにおいて、気管支肺泡洗浄液中での増加が報告されている²⁷⁾。したがって、肺線維症においては、線維化に対する防御因子として作用すべくその産生が亢進していることが推測される。

PGI₂ は、主に血管内皮細胞より産生され、血小板凝集抑制作用、血管平滑筋拡張作用、胃液分泌抑制作用などがある²⁸⁾。したがって、TXA₂ 拮抗剤や PGE₁ 類似物質と同じく、抗血小板作用を介して肺線維化を抑制していることが推測される。

BLM 肺線維症モデルに対しては、シクロオキシゲナーゼ阻害剤は影響しないとする報告がある³⁹⁾。シクロオキシゲナーゼ阻害剤を投与した場合、アラキドン酸カスケード中でその下流に位置する TXA₂、PGE₁、PGI₂ などのすべてのプロスタノイドをブロックすることになる。したがって、肺線維化の促進作用と抑制作用をもつ双方のメディエーターの産生を抑制することとなり、相殺効果により影響しない結果がえられたと考えられる。このことは、気管支喘息において、シクロオキシゲナーゼ阻害剤は気道平滑筋収縮に影響しないが⁴⁰⁾、TXA₂ 阻害剤⁴¹⁾、PGE₂ および PGI₂ は気道拡張効果を有すること⁴²⁾と全く同様である。

次に、BLM の代謝過程において、各薬剤が影響した可能性も考えられる。BLM は体内で Fe イオンおよび酸素と複合体を形成し、これより生ずる活性酸素が DNA 鎖を切断することによって、抗腫瘍効果や肺線維症が出現してくると考えられている⁴³⁾。したがって、BLM が複合体を形成し、DNA 鎖を切断する過程において今回の薬剤が抑制的に作用していれば、肺線維化の抑制効果がえられることになる。今回の実験ではこの点に関しては検討しておらず否定することはできない。しかし、各種抗癌剤に関するこれまでの試験管内の研究では、AAM の影響するものとしてはプラチナ系抗癌剤のみが報告されている⁴⁴⁾。したがって、検討した薬剤が BLM の代謝過程に影響した可能性は少ないと考えられる。

以上のように今回の実験結果において、それぞれの拮抗剤および類似物質が BLM 肺線維症の形成に対して有意な抑制効果を認めた。これらの成績より、肺線維化の形成過程における AAM の重要性が示唆される。しかし、各薬剤の抑制効果は不完全であり、単独の物質で説明できるものではない。さらに、AAM には互いに影響しあう作用（相互作用）もみられる⁴⁵⁾⁴⁶⁾。したがって、肺の線維化にはアラキドン酸代謝系が複雑に関与していることも示唆される。今後は、今回検討していない他の AAM やそれらの組み合わせの影響、さらにはサイトカインや活性酸素などと炎症性メディエーターとの関連などについての検討が必要である。

結 論

マウス BLM 肺線維症モデルに対する、AAM の拮抗剤および類似物質投与の影響を検討し、以下の成績を得た。

1. TXA₂ 受容体拮抗剤 S-1452 は、BLM による肺臓炎の形

成を用量依存的に有意に抑制した。

2. pLT 受容体拮抗剤 AS-35 は, BLM による肺臓炎の形成を用量依存的に有意に抑制した。

3. PGE₁ の誘導体である PGE₁αCD は, BLM による肺臓炎の形成を用量依存的に有意に抑制した。

4. PGI₂ の誘導体である OP-41483αCD は, BLM による肺臓炎の形成を用量依存的に有意に抑制した。

以上より, モデルにおける肺の線維化形成過程においては, TXA₂ および pLT は線維化促進に, PGE₂ および PGI₂ は線維化抑制に関与していることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるに臨み, 御指導, 御校閲を賜りました金沢大学医学部内科学第三講座松田 保教授, 藤村政樹講師並びに安井正英助手に深謝致します。また実験に多大なる御協力を頂いた金沢大学医学部寄生虫学講座近藤カヲ至教授並びに赤尾信夫講師に深謝致します。本研究のため貴重な薬品を提供して頂きました塩野義製薬株式会社, 東京田辺製薬株式会社, 小野薬品工業株式会社および日本化薬株式会社に深謝致します。

尚, 本論文の一部は第34回日本胸部疾患学会総会(1994年)において発表した。

文 献

- 1) Crooke, S. T. & Brandnar, W. T.: Bleomycin, a review. *J. Med.*, **7**, 333-428 (1976).
- 2) Blum, R. H., Carter, S. K. & Agre, K.: A clinical review of bleomycin. A new antineoplastic agent. *Cancer*, **31**, 903-914 (1973).
- 3) DeLana, M., Guzzon, A., Monfardini, S. & Bonadonna, G.: Clinical, radiologic, and histopathologic studies on pulmonary toxicity induced by treatment with bleomycin (NSC125066). *Cancer Chemother. Res.*, **56**, 343-356 (1972).
- 4) Rudders, R. A. & Hensley, G. T.: Bleomycin pulmonary toxicity. *Chest*, **63**, 626-628 (1973).
- 5) Bowden, D. H.: Unraveling pulmonary fibrosis: The bleomycin model. *Lab. invest.*, **50**, 487-488 (1984).
- 6) 西 耕一: ラットのブレオマイシン肺炎における気管支肺胞洗浄液細胞成分の分析および肺胞マクロファージ由来のインターロイキン-1 活性の測定. *十全医会誌*, **98**, 731-745 (1989).
- 7) Cooper, J. A. D., White, D. A. & Matthay, R. A.: Drug-induced pulmonary disease. Cytotoxic drugs. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **133**, 321-340 (1986).
- 8) Fujimura, M., Miyake, Y., Uotani, K., Kanamori, K. & Matsuda, T.: Secondary release of thromboxane A2 in aerosol leukotriene C4-induced bronchoconstriction in guinea pigs. *Prostaglandins*, **35**, 427-435 (1988).
- 9) Fujimura, M., Sakamoto, S., Kamio, Y. & Matsuda, T.: Effect of a leukotriene antagonist, ONO-1078, on bronchial hyperresponsiveness in patients with asthma. *Respir. Med.*, **87**, 133-138 (1993).
- 10) Bernard, G. R., Reines, H. D., Halushka, P. V., Higgins, S. B., Metz, C. A., Swindell, B. B., Wright, P. E., Watts, F. L. & Vrbanc, J. J.: Prostacyclin and thromboxane A2 formation is increased in human sepsis syndrome. Effect of cyclooxygenase inhibition. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **144**, 1095-1101 (1991).
- 11) Williams, J. G. & Maier, R. V.: Ketoconazole inhibits alveolar macrophage production of inflammatory mediators involved in acute lung injury (adult respiratory distress syndrome). *Surgery*, **112**, 270-277 (1992).
- 12) Turner, C. R., Lackey, M. N., Quinlan, M. F., Griswold, D. E., Schwartz, L. W. & Wheeldon, E. B.: Therapeutic intervention in a rat model of adult respiratory distress syndrome: II. Lipooxygenase pathway inhibition. *Circ. Shock*, **34**, 263-269 (1991).
- 13) Sprague, R. S., Stephenson, A. H., Dahms, T. E. & Lonigro, A. J.: Production of leukotriens in phorbol ester-induced acute lung injury. *Prostaglandins*, **39**, 439-450 (1990).
- 14) 小林 淳: IIP 症例の BALF 液性成分の検討—アラキドン酸カスケードの役割—, 厚生省特定疾患びまん性肺疾患調査研究班昭和63年度研究報告書, p.37-39. (1975).
- 15) 安井正英, 吉田 喬, 野村将春, 倉島一喜, 新谷博元, 中積泰人, 藤村政樹, 松田保, 西 耕一: マウスのブレオマイシン肺臓炎モデルにおける rhIL-1 β 前投与の影響, *日胸疾会誌*, **29**, 1450-1456 (1991).
- 16) 浴本久雄, 高橋克俊, 松田 明, 梅沢浜夫: ブレオマイシン肺毒性の動物評価系. *癌と化学療法*, **10**, 2550-2557 (1983).
- 17) Hamberg, M.: Thromboxanes: A new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**, 2995-2998 (1975).
- 18) 大熊 稔: 血小板アラキドン酸カスケードとその異常, *Annual Review 血液* 1989, 第1版, 153-161 頁, 中外医学社, 東京, 1989.
- 19) Armstrong, R. A., Jones, R. L., Peesapati, V., Will, S. G. & Wilson, N. H.: Competitive antagonism at thromboxane receptors in human platelets. *Br. J. Pharmacol.* **84**, 595-607 (1985).
- 20) 北村 諭: アラキドン酸カスケードの代謝と肺疾患. *代謝*, **27**, 811-819 (1990).
- 21) 嘉久志寿人, 四家 勉, 内田清久: 新規トロンボキサン A2 拮抗薬, S-145 の血小板凝集に対する作用. *日薬理誌*, **93**, 171-178 (1989).
- 22) 大谷弘一, 嶋 典子, 堤内正美: 新規トロンボキサン A2 拮抗薬, S-145 の諸種平滑筋に対する作用. *日薬理誌*, **94**, 319-328 (1989).
- 23) 小林信之, 須甲松伸, 杉山温人, 土肥 真, 奥平博一, 宮本昭正: ラットのブレオマイシン肺線維症における肺胞マクロファージの Procoagulant Activity. *日胸疾会誌* **28**, 867-874 (1990).
- 24) 岡田峯明, 浴本久雄, 伊藤潤平, 高橋克俊: マウスのペフロマイシン肺毒性に対する各種血小板凝集阻害剤の影響. *日癌治* **24**, 793-797 (1989).
- 25) Synder, D. S., Beller, D. I. & Unanue, E. R.: Prostaglandins modulate macrophage Ia expression. *Nature*, **299**, 163-165 (1982).
- 26) Leibovich, S. J. & Ross, R.: A macrophage-depend-

- ent factor that stimulates the proliferation of fibroblasts in vitro. *Am. J. Pathol.*, **84**, 501-513 (1976).
- 27) 北村 諭, 石井芳樹, 小林 淳: 呼吸器疾患とアラキドン酸カスケード関連物質. *日内学会誌*, **80**, 1508-1513 (1991).
- 28) 中村元直, 清水孝雄: エイコサノイド受容体と情報伝達. *日本臨床*, **21**, 1129-1133 (1990).
- 29) Tanaka, K., Ueno, A. & Katori, M.: Roles of leukotrienes in two rat allergic inflammatory models; IgG-mediated and IgG-antigen complex-induced pleuritis. *Prostaglandins*, **31**, 1099-1116 (1986).
- 30) Phan, S. H. & Kunkel, S. L.: Inhibition of bleomycin-induced pulmonary fibrosis by nordihydroguaiaretic acid. *Am. J. Pathol.*, **124**, 343-352 (1986).
- 31) 富岡玖夫: 病態と治療におけるプロスタノイドの役割, 気管支喘息, *臨床医* **12**, 780-784 (1986).
- 32) Carlson, L. A. & Eriksson, I.: Femoral artery infusion of prostaglandin E1 in severe peripheral vascular disease. *Lancet*, **1**, 155-156 (1973).
- 33) Zimecki, M. & Webb, D. R.: The regulation of the immune response to T-independent antigens by prostaglandins and B cells. *J. Immunol.*, **117**, 2158-2164 (1976).
- 34) Webb, D. R. & Nowowiejski, I.: The role of prostaglandins in the control of the primary 19S immune response to sRBC. *Cell. Immunol.*, **33**, 1-10 (1977).
- 35) Harada, Y., Tanaka, K., Uchida, Y., Ueno, A., Ohishi, S., Yamashita, K., Ishibashi, M., Miyazaki, H. & Katori, M.: Changes in the levels of prostaglandins and thromboxane and their roles in the accumulation of exudate in rat carrageenin-induced pleurisy. -A profile analysis using gas chromatography-mass spectrometry-. *Prostaglandins*, **23**, 881-895 (1982).
- 36) Monick, M., Glazier, J. & Hunninghake, G. W.: Human alveolar macrophages suppress interleukin 1 (IL-1) activity via the secretion of prostaglandin E2. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **135**, 72-77 (1987).
- 37) Clark, J. G., Kostal, K. M. & Marino, B. A.: Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in hamsters. An alveolar macrophage product increases fibroblast prostaglandin E2 and cyclic adenosine monophosphate and suppresses fibroblast proliferation and collagen production. *J. Clin. Invest.*, **72**, 2082-2091 (1983).
- 38) Saltzman, L. E., Moss, J., Berg, R. A., Hom, B. & Crystal, R. G.: Modulation of collagen production by fibroblasts: Effects of chronic exposure to agonists that increase intracellular cyclic AMP. *Biochem. J.*, **204**, 24-40 (1982).
- 39) Jordana, M., Richards, C., Irving, L. B. & Gauldia, J.: Spontaneous in vitro release of alveolar macrophage cytokines after the intratracheal instillation of bleomycin in rats. Characterization and kinetic studies. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **137**, 1135-1140 (1988).
- 40) Hamel, R., Masson, P., Ford-Hutchinson, A. W., Jones, T. R., Brunet, G. & Piechuta, H.: Differing mechanisms for leukotriene D₄ induced bronchoconstriction in guinea pigs following intravenous and aerosol administration. *Prostaglandins*, **24**, 419-432 (1982).
- 41) Fujimura, M., Sasaki, F., Nakatsumi, Y., Takahashi, Y., Hifumi, S., Taga, K., Mifune, J., Tanaka, T. & Matsuda, T.: Effects of a thromboxane synthetase inhibitor (OKY-046) and a lipoxygenase inhibitor (AA-861) on bronchial responsiveness to acetylcholine in asthmatic subjects. *Thorax*, **41**, 955-959 (1986).
- 42) 牧野莊平: 気管支喘息-Eicosanoids in bronchial asthma-. *日本臨床*, **6**, 1254-1261 (1990).
- 43) Tom, W. M. & Montgomery, M. R.: Bleomycin toxicity: Alterations in oxidative metabolism in lung and liver microsomal fractions. *Biochem. Pharmacol.*, **29**, 3239-3244 (1980).
- 44) Mark, G. S.: In vivo effects of interferon- γ and indomethacin on murine alveolar macrophage activity. *Cell. Immunol.*, **123**, 83-95 (1989).
- 45) 淀縄 聡, 塚越秀男, 黒沢元博: LTC₄ 静脈内投与によるモルモット気道反応性亢進に対する TXA₂ 拮抗薬の効果. *日胸疾会誌*, **25**, 1309-1314 (1987).
- 46) Herd, C. M., Shoup, T. S. & Page, C. P.: Effect of 5-lipoxygenase inhibition on PAF-induced airway response and cellular infiltration in neonatally immunized rabbits. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **145**, A292 (1992).

The Effect of Arachidonic Acid Metabolites on Bleomycin-induced Lung Fibrosis in Mice Masaharu Nomura,
Department of Internal Medicine (III), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med Soc., **105**,
29—38 (1996)

Key words idiopathic interstitial pneumonia, idiopathic pulmonary fibrosis, bleomycin-induced lung inquiry, arachidonic acid metabolite

Abstract

The pathogenesis of idiopathic interstitial pneumonia (IIP) and idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is still unknown and the therapy for them is difficult and their prognosis is poor. Bleomycin (BLM) - induced lung fibrosis of animals has been used as a model of IIP and IPF. There have been few reports about the roles of arachidonic acid metabolite (AAM) in the animal model of BLM-induced lung fibrosis, so the author studied the roles of AAM in lung fibrosis. BLM-induced lung fibrosis of ICR-mice was caused by one shot intravenous injection of BLM (150 mg/kg). The inflammation and fibrosis of the lung was evaluated by the wet lung weight, the wet lung weight to body weight ratio and pathological findings. A selective thromboxane A₂ (TXA₂) receptor antagonist, S-1452, a selective peptide leukotriene (pLT) receptor antagonist, AS-35, a prostaglandin E₁ (PGE₁) analogue, PGE₁αCD, and a prostaglandin I₂ (PGI₂) analogue, OP-41483αCD, were administered intraperitoneally once a day for 14 days after the BLM treatment. S-1452 attenuated the increase in wet lung weight (control, BLM, BLM+S-1452 1 mg/kg, BLM+S-1452 3 mg/kg: 0.20 ± 0.04 g, 0.32 ± 0.02 g, 0.26 ± 0.01 g, 0.26 ± 0.01 g (mean ± SE)) and the pathological score of lung fibrosis (control, BLM, BLM+S-1452 1 mg/kg, BLM+S-1452 3 mg/kg: 0 ± 0, 3.2 ± 0.4, 2.9 ± 0.4, 2.5 ± 0.3). AS-35, PGE₁αCD and OP-41483αCD also significantly inhibited BLM-induced lung fibrosis. However, the inhibition of lung fibrosis by these drugs was partial. These findings suggest that TXA₂ and pLT may accelerate lung fibrosis and that PGE₁ and PGI₂ may inhibit it. The partial effects of these compounds also suggested that AAMs were involved in BLM-induced lung fibrosis of mice in a very complicated manner.