

# 吸入療法による肺虚血再灌流障害の予防に関する実験的研究：プロスタグランディン E1の吸入効果

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/9458">http://hdl.handle.net/2297/9458</a>

## 吸入療法による肺虚血再灌流障害の予防に関する実験的研究

—プロスタグランジン E<sub>1</sub>の吸入効果—

金沢大学医学部医学科外科学第一講座 (主任: 渡邊洋宇教授)

川 口 雅 彦

肺の虚血再灌流障害は、活性酸素による組織障害が主因と考えられ、好中球や血管内皮細胞が関与している。プロスタグランジン E<sub>1</sub>(prostaglandin E<sub>1</sub>, PGE<sub>1</sub>) は優れた血小板凝集抑制作用や血管拡張作用、内皮細胞保護作用により肝などの再灌流障害防止に利用されている。本研究は肺の室温での虚血再灌流障害に対するPGE<sub>1</sub>吸入の効果について検討した。左右の肺動脈を剥離し各々虚血可能にしたNew Zealand White種のウサギを使用し、無作為に次の3群を作成した。対照群; 左肺のみの機能の3時間測定群 (n=5)。虚血群; 左肺2時間虚血後の3時間再灌流群 (n=6)。PGE<sub>1</sub>投与群; 左肺2時間虚血後、3時間の再灌流時にPGE<sub>1</sub>を42-50ng/kg/分の速度で超音波ネブライザーにて持続的に吸入させた群 (n=6)。60分毎に平均体動脈圧、平均肺動脈圧、平均左心房圧、平均大動脈血流量を測定した。また、酸素化能の指標として動脈血酸素分圧(arterial oxygen pressure, PaO<sub>2</sub>)を測定した。更に、測定値から心拍出量と肺血管抵抗を算出した。3時間後に犠牲死させ、左肺を摘出し病理組織学的検討を行った。3群間に平均体動脈圧の有意差はなかった。3時間の再灌流時において、虚血群は対照群と比べて平均肺動脈圧と心拍出量に有意差を認めなかった。虚血群は対照群と比べて肺血管抵抗値が有意に高く、PaO<sub>2</sub>は有意に低かった。病理組織学的検査では、対照群がほぼ正常組織と同様の所見であるのに対し、虚血群では肺胞中隔および肺胞内への好中球浸潤と肺水腫を認め、再灌流障害がおこったと考えられた。一方、PGE<sub>1</sub>群では肺動脈圧は3時間経過において虚血群に比べて有意に低下していた。心拍出量に有意差を認めなかったが、肺血管抵抗ではPGE<sub>1</sub>群は虚血群に比べ有意に低かった。PaO<sub>2</sub>においてもPGE<sub>1</sub>群は虚血群に比べ有意に良好な結果を得た。病理組織学的検査でも好中球浸潤および肺水腫の程度は虚血群に比較して軽度であった。以上よりPGE<sub>1</sub>の持続吸入は肺再灌流障害の低減に有用と考えられた。

**Key words** ischemia-reperfusion injury, lung transplantation, prostaglandin, neutrophil infiltration

肺移植は、欧米において様々な疾患による重症呼吸不全患者に対する治療法として確立している。しかし、移植肺の術後早期機能不全が最大の問題となっている<sup>1)</sup>。虚血による低酸素障害とは別に虚血臓器に血流を再開すると臓器障害が出現する虚血再灌流障害は、肺移植の術後成績を左右する因子の一つである。特に内皮細胞障害や多核好中球凝集が誘因となり活性酸素を発生し臓器障害を起こすとされている<sup>2)</sup>。

これらの侵襲に対して内皮細胞が産生する防御因子として一酸化窒素(nitric oxide, NO)、プロスタサイクリン(prostacyclin, PGI<sub>2</sub>)およびアデノシンがある。NOは、内皮細胞からでるスーパーオキシドを失活させ、強力な血管平滑筋弛緩作用をもち、白血球の接着や血小板凝集を抑制する。反面、NOは活性酸素の一つであるため拒絶反応の促進因子である可能性がある<sup>3)</sup>。また、虚血再灌流直後に発生する活性酸素と反応し、細胞障害の強いペルオキシ硝酸塩(peroxynitrite, ONOO<sup>-</sup>)を発生させる<sup>4)</sup>。

PGI<sub>2</sub>は、血管拡張作用と好中球接着抑制作用、血小板凝集抑制作用、リソゾーム膜安定化作用がある。これらの作用はIP受容体を介して発現するが、この受容体はプロスタグランジン E<sub>1</sub>(prostaglandin E<sub>1</sub>, PGE<sub>1</sub>)にも親和性が高いのでPGE<sub>1</sub>も類似の保護作用をもつ。これらの効果により両者は、肝の虚血再灌流障害防止に広く利用され、肺移植においてもドナー肺採取時の灌流液として使用されている<sup>5)</sup>。

一方、これらの肺血管拡張作用は静脈内投与により、シャント血流を増加させ換気血流比を悪化させる可能性がある。成人呼吸窮迫症候群(adult respiratory distress syndrome, ARDS)はびまん性肺泡ないし肺血管内皮細胞障害に伴う肺機能障害であるが、プロスタサイクリン吸入で改善させた報告<sup>6)</sup>がなされている。また、NOを吸入させることが移植肺の機能温存に有効であった<sup>7)</sup>とされ、換気の良い部位へ選択的に投与する方法として吸入療法が考えられる。

本研究では家兎肺を用いて再灌流障害を作成し、PGE<sub>1</sub>の持

平成11年11月25日受付, 平成11年12月22日受理

Abbreviations: ARDS, adult respiratory distress syndrome; CO, cardiac output; IL, interleukin; LFA-1, lymphocyte function-associated antigen 1; Mac-1, macrophage 1 antigen; mLA, mean left atrium pressure; mPA, mean pulmonary

持続吸入が虚血再灌流障害の予防に有効か否かを検討した。

### 対象と方法

#### I. 実験動物

実験には体重3.0-3.5kgのNew Zealand White種の雌性ウサギ(日本エスエルシー, 静岡) 17羽を用いた。前投薬として硫酸アトロピン(田辺, 大阪) 0.2mg および塩酸ケタミン(三共, 東京) 50mg/kgを筋肉内注射した。耳介静脈に点滴路を確保し, ペントバルビタールナトリウム(田辺) 25mg/kgを緩徐に静脈内投与し, 手術台に仰臥位で固定して前頸部および前胸腹部を剃毛した。前頸部縦切開にて右内頸動脈および気管を露出し, 気管切開により内径3.5mmの気管内挿管チューブを1.5cm挿入固定した。次にHarvard型人工呼吸器SN-480-5(シナノ, 東京)を接続し, 吸気側のチューブに超音波ネブライザーUN701(アズウェル, 大阪)を直列に繋げた。なお, 吸入薬剤は水溶液とし超音波ネブライザーの薬液カップへ微量点滴にて注入し持続吸入を行った。換気の設定は $FiO_2$  0.5, 1回換気量15-20ml/kg, 換気回数を毎分30回とした。人工呼吸器への接続と同時に臭化パンクロニウム(日本オルガノン, 東京)

1mgを静脈内投与し非動化した。補液は5%乳酸リンゲル液(大塚, 東京)を5ml/kg/時間で行い, 維持麻酔として塩酸ケタミン(三共, 東京)を10mg/時間の速度で持続点滴静注し, 臭化パンクロニウムを適宜追加した。

#### II. 実験系の作成

前胸部胸骨横切開を行い, 左側臥位にして右肺門部に至り右主気管支周囲を剥離し, 上下肺動静脈を露出, 3-0プロレン糸(エチコン, 東京)で作成したターニケットを上下に分割した肺血管に装着した。これにより虚血時の肺換気を可能にし, かつ肺静脈を上下に分けることで肺動静脈遮断時に左心房を狭窄させ肺静脈還流を阻害する事を防いだ。また, 右側臥位にて同様に左肺門部を剥離し上下の左肺動静脈にターニケットを通した(図1)。さらに肺動脈主幹部と気管切開時に露出した内頸動脈にそれぞれ25Gのハッピーキャス針(メディキット, 東京)を挿入し, トランスデューサーにより血圧の連続モニタリングを行った。ついで, ヘパリンナトリウム(武田, 東京) 200単位/kgを静脈内注射し全身ヘパリン化した。これを用いて無作為に次の群を作成した(図2)。

##### 1. 対照群(n=5)

対照群として左肺動静脈遮断は行わず2時間の血行動態測定後, 右肺動静脈遮断により左肺のみの機能を3時間測定した。その間蒸留水を1時間に5mlの速度で3時間持続吸入させた。

##### 2. 虚血群(n=6)

左肺動静脈を2時間遮断後, 左肺を再灌流した。左肺再灌流10分後に右肺動静脈を遮断し, 左肺のみの機能を3時間評価した。このとき対照群と同様に蒸留水の持続吸入を行った。

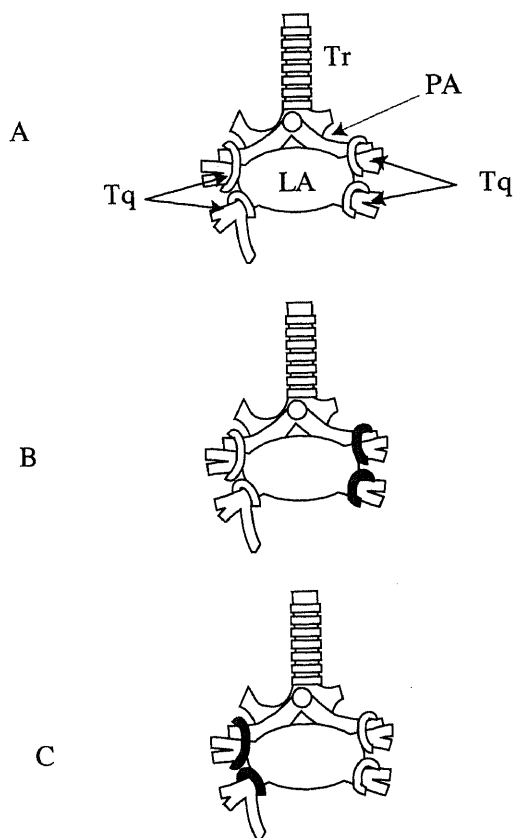


Fig. 1. Schematic illustrations of experimental groups. Both the pulmonary arteries and the veins were isolated from the bronchi. (A) No vessels were clamped. (B) Left side vessels were clamped. (C) Right side vessels were clamped. Tr, trachea. PA, pulmonary artery. LA, left atrium. Tq, tourniquets. Black Tq indicate clamped Tq.

Control group; No ischemia of left lung

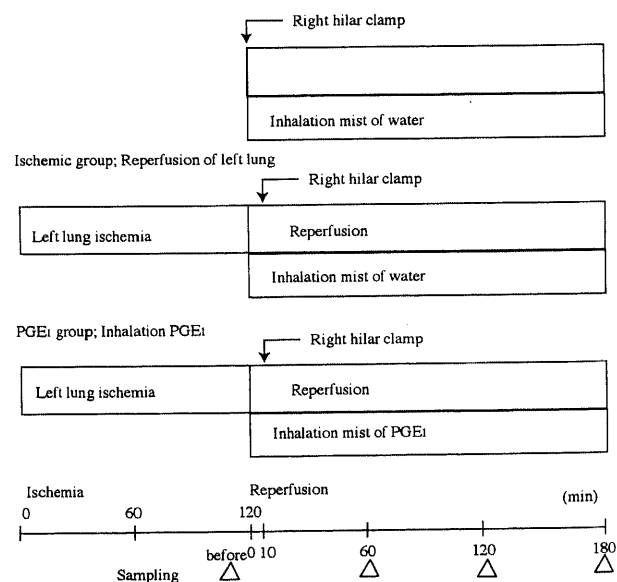


Fig. 2. Protocols of the reperfusion injury model. The numbers of the rabbits included in the protocols were five in the control group, six in the ischemic group, and six in the PGE<sub>1</sub> group. The time of clamping and the sampling time are shown.

artery pressure; PaO<sub>2</sub>, arterial oxygen pressure; PGI<sub>2</sub>, prostacyclin; PGE<sub>1</sub>, prostaglandin E<sub>1</sub>; PVR, pulmonary vascular resistance; NO, nitric oxide

3. PGE<sub>1</sub> 吸入群 (n=6)

虚血群と同様に左肺虚血および再灌流を行った。左肺のみの測定時に濃度 2 μg/ml の PGE<sub>1</sub> 液を使用し、1 時間 5ml の速度で PGE<sub>1</sub> の持続吸入を行った。

Ⅲ. 測定項目

左肺の再灌流を開始してから 60 分ごとに 3 時間まで以下の測定を行い経時的に観察した。右頸動脈から動脈血を採取しガス分析を行い、動脈血酸素分圧 (arterial oxygen pressure, PaO<sub>2</sub>) を測定した。また右頸動脈と主肺動脈および左心房に装着したカニューレにより血行動態を測定した。更に上行大動脈にドップラー血流計 T101 (アドバンス, 東京) を設置し平均血流量を測定 (F), 心拍出量 (cardiac output, CO) の指標とした。また、平均左心房圧 (mean left atrium pressure, mL A), 平均肺動脈圧 (mean pulmonary artery pressure, mPA) から肺血管抵抗 (pulmonary vascular resistance, PVR) を下記の式にて求めた。

$$CO = k \times F$$

$$PVR = (mPA - mL A) / CO$$

$$PVR = (mPA - mL A) / F / k$$

(k は定数)

さらに、CO および PVR の単位は虚血前の値を 1 とした相対的な評価とした。

Ⅳ. 病理組織学的検討

測定 3 時間終了後犠牲死させ、左肺を摘出し 10% 緩衝ホルマリンにて直ちに固定した。これらのパラフィン切片を作成し、HE 染色を施行した。

Ⅴ. 統計学的検討

得られたデータは全て  $\bar{X} \pm SE$  で表現した。経時変化に関する有意差検定には、反復測定のある分散分析法 (repeated-measures analysis of variance) を用い p < 0.05 を有意とした。

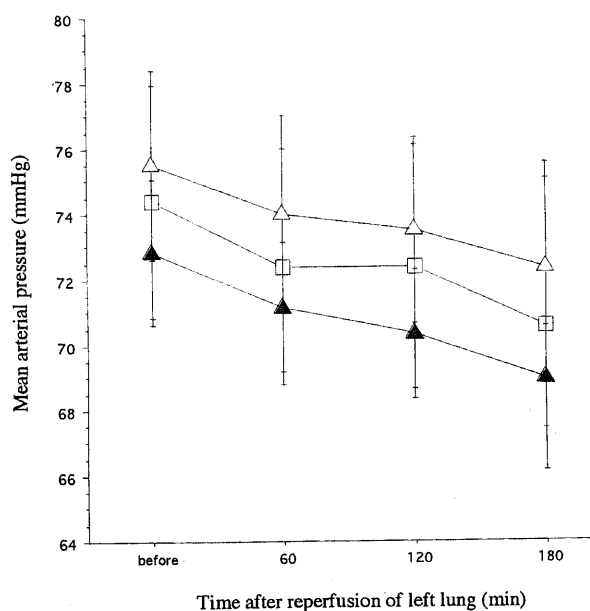


Fig. 3. The changes of the mean arterial pressure during three hours of reperfusion. □, control group; △, PGE<sub>1</sub> inhalation group; ▲, ischemic group. Each value represents  $\bar{X} \pm SE$ . No significant differences were found among the three groups.

成 績

I. 平均体動脈圧 (mmHg)

平均体動脈圧は測定開始時は対照群 74.0 ± 3.54%, 虚血群 72.8 ± 2.21%, PGE<sub>1</sub> 群 75.5 ± 2.90% で 3 群間に差はなかった。

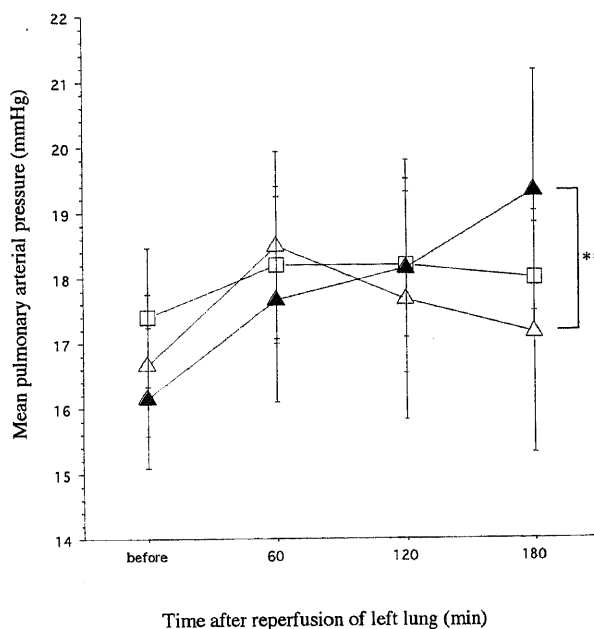


Fig. 4. The changes of the mean pulmonary arterial pressure during the three hours after reperfusion. □, control group; △, PGE<sub>1</sub> inhalation group; ▲, ischemic group. Each value represents  $\bar{X} \pm SE$ . \*\*p < 0.01.

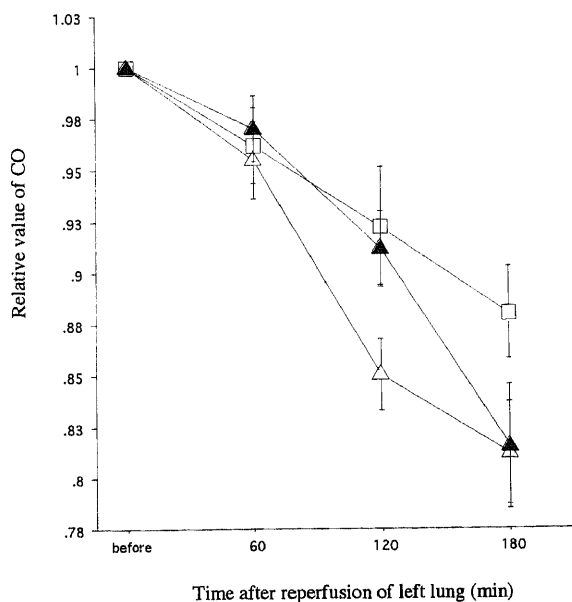


Fig. 5. The time course of the relative value of CO after reperfusion. The relative values were calculated as the ratio of each value to the corresponding value before the reperfusion. Each value represents  $\bar{X} \pm SE$ . No significant differences were found between three groups.

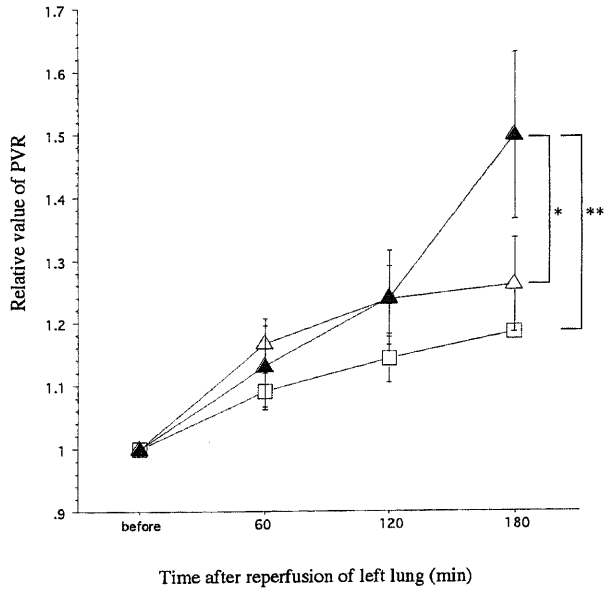


Fig. 6. The time course of the relative value of PVR after reperfusion. The relative values were calculated as the ratio of each value to the corresponding value before the reperfusion.  $PVR = k (PA-LA) / CO$ ,  $k = \text{coefficient}$ . □, control group; △, PGE<sub>1</sub> inhalation group; ▲, ischemic group. Each value represents  $\bar{X} \pm SE$ . \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .

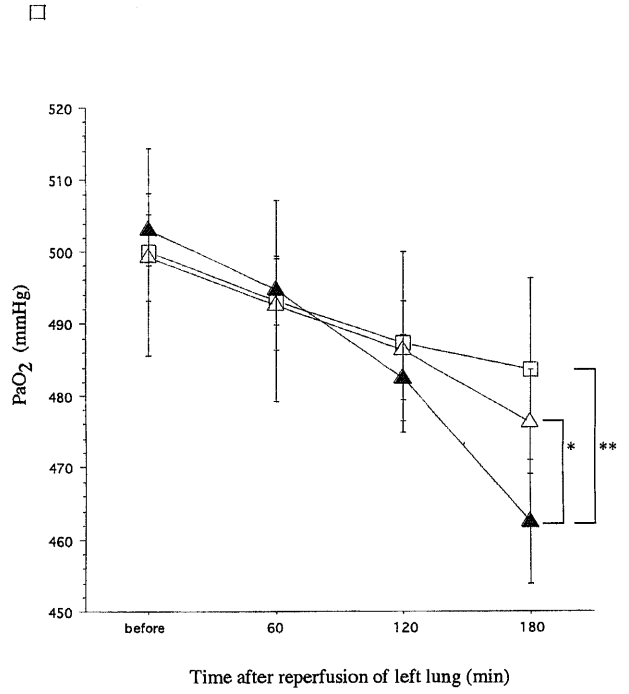


Fig. 7. The changes of PaO<sub>2</sub> during the three hours after reperfusion. □, control group; △, PGE<sub>1</sub> inhalation group; ▲, ischemic group. Each value represents  $\bar{X} \pm SE$ . \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .

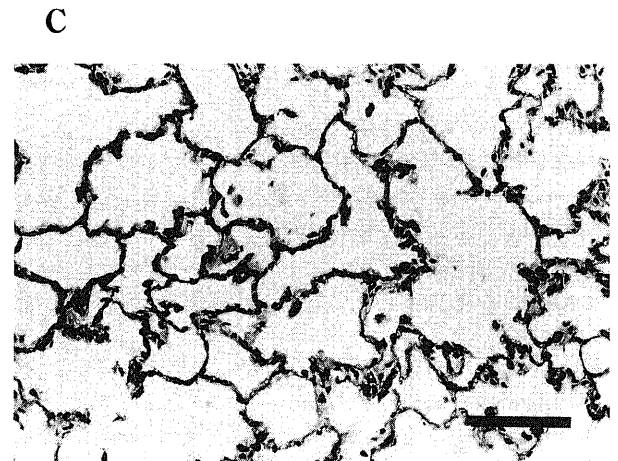
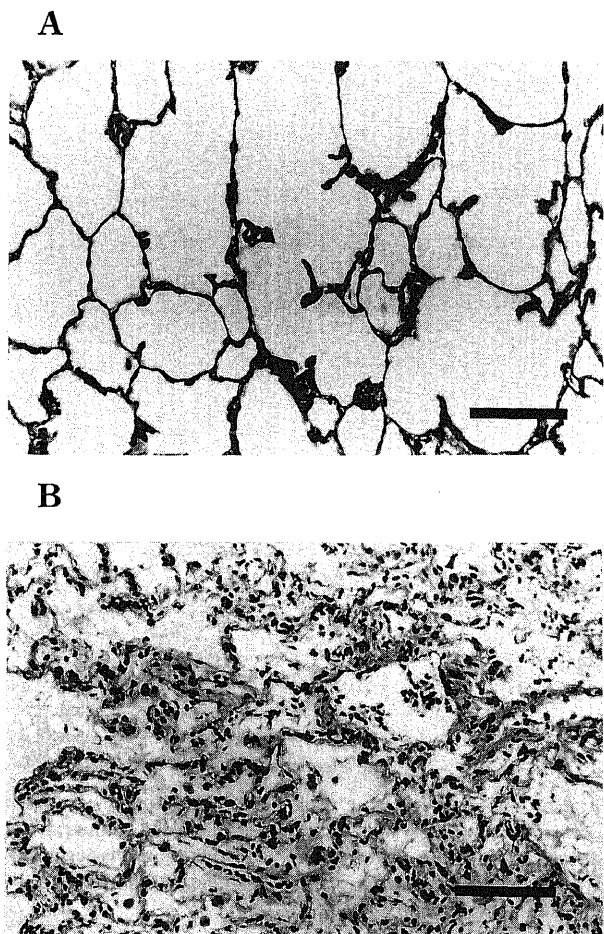


Fig. 8. HE staining of the rabbit lung. (A) control group; after three hours of clamping of the right pulmonary vessels. control group shows no severe change. (B) ischemic group; after reperfusion of left lung for three hr. Neutrophils infiltrated in the alveolar wall and space. Mild edema fluid was found in the alveoli. (C) PGE<sub>1</sub> inhalation group. During three hours of reperfusion of the left lung, PGE<sub>1</sub> inhalation therapy was simultaneously administered. Patho-histological appearance shows slight edema in alveoli with infiltration. The intensity of the infiltration of neutrophils was greater in the ischemic group, compared to that in the PGE<sub>1</sub> inhalation group. Scale bars indicate 100  $\mu\text{m}$ .

いずれも経時的な変化は軽度で3時間測定後は対照群  $70.6 \pm 4.47\%$ , 虚血群  $69.0 \pm 1.59\%$ , PGE<sub>1</sub>群  $72.3 \pm 3.21\%$ であり, 再灌流時のPGE<sub>1</sub>吸入中も有意な低下は認めなかった(図3).

## II. 平均肺動脈圧 (mmHg)

平均肺動脈圧は測定開始時は対照群  $17.4 \pm 1.08\%$ , 虚血群  $16.2 \pm 1.08\%$ , PGE<sub>1</sub>群  $16.7 \pm 1.09\%$ で3群間に有意差を認めなかった. 経時的にそれぞれ対照群は  $18.2 \pm 1.20\%$ ,  $18.2 \pm 1.14\%$ ,  $18.0 \pm 0.84\%$ , 虚血群は  $17.7 \pm 1.59\%$ ,  $18.2 \pm 1.64\%$ ,  $19.3 \pm 1.84\%$ , PGE<sub>1</sub>群では  $18.5 \pm 1.43\%$ ,  $17.7 \pm 1.84\%$ ,  $17.2 \pm 1.85\%$ と推移した. PGE<sub>1</sub>群と虚血群の間に有意差を認めた ( $p < 0.01$ )(図4).

## III. 心拍出量

血流量から換算した心拍出量は, 軽度の低下傾向を示し, 3時間後では対照群  $0.88 \pm 0.02\%$ , 虚血群  $0.815 \pm 0.03\%$ , PGE<sub>1</sub>群  $0.81 \pm 0.03\%$ となった. いずれの群間にも有意差を認めなかった(図5).

## IV. 肺血管抵抗

肺動脈圧と左心房圧, 心拍出量から換算した肺血管抵抗は, 測定開始を1.00として, 以後経時的にみると対照群  $1.09 \pm 0.03\%$ ,  $1.14 \pm 0.04\%$ ,  $1.18 \pm 0.01\%$ , 虚血群  $1.13 \pm 0.06\%$ ,  $1.24 \pm 0.08\%$ ,  $1.50 \pm 0.13\%$ , PGE<sub>1</sub>群  $1.17 \pm 0.04\%$ ,  $1.24 \pm 0.05\%$ ,  $1.26 \pm 0.08\%$ と推移した. PGE<sub>1</sub>群と虚血群 ( $p < 0.05$ ) および対照群と虚血群間 ( $p < 0.01$ ) に有意差を認めた. 一方, PGE<sub>1</sub>群と対照群の間に有意差は認めなかった(図6).

## V. 動脈血酸素分圧 (PaO<sub>2</sub>, mmHg)

動脈血酸素分圧は測定開始時は対照群  $500.0 \pm 14.4\%$ , 虚血群  $503.2 \pm 5.06\%$ , PGE<sub>1</sub>群  $499.2 \pm 6.10\%$ で差を認めなかったが, 経時的にそれぞれ対照群は  $493.2 \pm 14.0\%$ ,  $487.4 \pm 12.5\%$ ,  $483.6 \pm 12.7\%$ , 虚血群は  $494.7 \pm 4.81\%$ ,  $482.5 \pm 6.04\%$ ,  $462.5 \pm 8.55\%$ , PGE<sub>1</sub>群では  $492.7 \pm 6.31\%$ ,  $486.3 \pm 6.91\%$ ,  $476.3 \pm 7.35\%$ と推移した. 虚血群は他の群より低下傾向を示し, PGE<sub>1</sub>群と虚血群 ( $p < 0.05$ ) および対照群と虚血群間 ( $p < 0.01$ ) に有意差を認めた. 一方, PGE<sub>1</sub>群と対照群の間に有意差は認めなかった(図7).

## VI. 病理組織学的所見

対照群は左肺のみで3時間経過したもので肺の組織学的所見は特に異常を認めなかった(図8A). 虚血群では, 肺胞中隔を主体とし, 一部肺胞腔へ浸潤する好中球浸潤および肺水腫を認めた(図8B). 一方, 再灌流中にPGE<sub>1</sub>を持続的に吸入させたPGE<sub>1</sub>吸入群では, 一部に軽度の好中球浸潤と肺水腫を認めるが虚血群に比べると軽度であった(図8C).

## 考 察

臨床的に肺移植後急性期の重篤な移植片機能不全は10から20%生じる<sup>89)</sup>. 急性期移植片機能不全は, 進行する低酸素, 肺コンプライアンスの低下, 透過性亢進による肺水腫, 組織学的にはびまん性の肺胞障害が特徴とされ<sup>10)</sup>, その原因の一つが虚血再灌流障害とされている. 低酸素状態にあった組織に酸素を送ることで急速に非可逆性の組織障害が発生することは古くから酸素パラドックス (oxygen paradox) として知られていた<sup>11)12)</sup>. 1982年, 兎の肺の虚血再灌流障害に活性酸素の関与が報告され<sup>13)</sup>, 以後活性酸素の作用について研究が行われ, 発生源としてヒポキサンチン-キサンチン酸化酵素系の関与が報告された<sup>13)14)</sup>. その後, 好中球NADPHオキシダーゼ系やアラキ

ドン酸系も注目され浸潤する好中球の関与が示唆されてきた<sup>15)16)</sup>.

虚血再灌流障害で好中球の浸潤, 活性化を惹起させるのは, 白血球と内皮細胞の初期の相互作用が重要であることが解明されている<sup>1)</sup>. 肺内皮細胞にはインテグリンやセレクチンなどの複雑な接着分子が作用する. セレクチンファミリーは, 従来は内皮細胞白血球接着分子1 (endothelial-leukocyte adhesion molecule-1, ELAM-1) とされていたEセレクチン,  $\alpha$  顆粒膜蛋白 (alpha-granule membrane protein, GMP-140) あるいは血小板活性化依存性顆粒外膜蛋白 (platelet activation-dependent granule-external membrane protein, PADGEM) とされていたPセレクチン, 元々リンパ球で見いだされたレクチン様細胞接着分子1 (lectin-like cell adhesion molecule-1, LEC. CAM-1), レクチン接着分子1 (lectin adhesion molecule-1, LECAM-1), 白血球接着分子1 (leukocyte adhesion molecule-1, LAM-1) などのLセレクチンに大分されている<sup>17)</sup>.

虚血再灌流障害は白血球が肺毛細血管外へ浸潤して成り立つが, その過程は4段階あると考えられている<sup>2)</sup>. 第一段階は再灌流後数分以内に発現するPセレクチンが関与し次いで2-3時間後にEセレクチンが発現する. これらのセレクチンは表面糖蛋白と共に内皮細胞と白血球を緩く結合させロールという現象を生じる. 次の段階は, 内皮細胞上に出現する細胞間接着因子1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) と白血球インテグリンのリンパ球機能関連抗原1 (lymphocyte function-associated antigen 1, LFA-1) やマクロファージ1抗原 (macrophage 1 antigen, Mac-1) による細胞間接着である. LFA-1やMac-1は通常ICAM-1との接着力は少ないが, インターロイキン (interleukin, IL)-8などのサイトカインの存在により飛躍的に増加する<sup>2)</sup>. これにより白血球はロールを停止し内皮細胞に接着する. 第3に白血球は内皮細胞間を通過する. ここではLFA-1やMac-1に加えて白血球にも内皮細胞間の接合部にも存在する血小板内皮細胞接着分子1 (platelet/endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1) も作用する. 最後に白血球は, IL-8や血小板活性化因子 (platelet-activating factor, PAF) などの走化性因子に従い組織間へ浸潤する. そこで白血球, 特に好中球は活性酸素, サイトカイン, 蛋白分解酵素を分泌し組織障害が発生する<sup>2)</sup>.

本研究において虚血群は2時間の虚血後3時間の再灌流の中で, 対照群に比べ平均肺動脈圧が有意に高く, 肺血管抵抗も有意に高かった. また, PaO<sub>2</sub>は有意に低かった. 病理組織学的にも肺水腫, 好中球浸潤を認めたことから, 再灌流障害が発現したと考えられた.

内皮細胞障害は, まず再灌流後2-3分以内に大量のスーパーオキシド発生により引き起こされる<sup>18)19)</sup>. さらに再灌流中は接着分子により好中球が接着され, 活性化された好中球は, 過酸化水素 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ヒドロキシルラジカル (OH<sup>-</sup>), サイトカイン, プロテアーゼなどを放出し内皮細胞を攻撃する.

内皮細胞障害の状態は防御因子と攻撃因子の動的な均衡状態に左右される. 主要な防御因子はNO, PGI<sub>2</sub>, アデノシンの三種がある. 内皮細胞のNOは, 内皮細胞のNO合成酵素で産生されるカルシウム-カルモジュリン依存性酵素である<sup>18)</sup>. NOの作用はグアニル酸還元酵素を活性化することにより, cGMPを増加させて発現する<sup>18)</sup>. NOの半減期は10-20秒と短く, その作用の結果スーパーオキシドを失活させ, 血管を拡張し, 好中球

の接着や血小板凝集を抑制する<sup>18)20)21)</sup>。これらの作用を活用し、NOは臨床的に新生児肺高血圧症に対する治療<sup>22)</sup>や先天性心奇形手術後の肺高血圧治療<sup>23)</sup>に応用されている。しかし、鉄や硫黄含有酵素を直接ニトロシル化したり、強力な毒性を持つONOO<sup>-</sup>が生成されたりすると細胞障害作用をもたらす<sup>7)</sup>。

PGI<sub>2</sub>はアラキドン酸代謝物であるプロスタノイドの一つで、半減期は1-2分でアデニル酸シクラーゼを活性化させることにより、cAMPを増加させ作用を発現する<sup>24)</sup>。PGI<sub>2</sub>の作用は、好中球接着を抑制し、血小板凝集を抑制、リソゾーム膜を安定化させる<sup>2)</sup>。

最後は、アデノシンである。これはグアノシントリフォスフェート依存機構によりアデニル酸シクラーゼと結合したプリン受容体を活性化して効果を発現する。アデノシンはNOやPGI<sub>2</sub>と同様に血管拡張作用や白血球接着抑制能を持ち、好中球の細胞毒性低下や好中球のスーパーオキシド産生抑制作用も持つ。

本研究では肝の虚血再灌流時の保護物質として臨床的にも広く使われているPGE<sub>1</sub>に注目した。PGE<sub>1</sub>はプロスタノイドの一つでPGI<sub>2</sub>とともに強力な血管拡張作用や血小板凝集抑制作用を有する。PGI<sub>2</sub>の作用はIP受容体によりアデニル酸シクラーゼを活性化させることで発現するが<sup>12)</sup>、このIP受容体はPGE<sub>1</sub>にも親和性が高いのでPGE<sub>1</sub>でも同様の作用を有する。PGE<sub>1</sub>の作用は、血管拡張作用や白血球や血小板の凝集抑制能などの他に腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor, TNF)産生の抑制<sup>25)</sup>、Tリンパ球の細胞毒性の抑制<sup>26)</sup>、IL-1の産生抑制<sup>27)</sup>などが報告されている。

多くの施設では虚血再灌流障害予防目的に移植肺の摘出時にPGE<sub>1</sub>またはPGI<sub>2</sub>を肺動脈内投与している<sup>8)</sup>。また、PGE<sub>1</sub>、PGI<sub>2</sub>、NO遊離物質であるニトロプルシドを用いた摘出肺の肺動脈内投与による前処置比較試験では、移植後肺の酸素化能に違いは認められなかったものの、特にPGE<sub>1</sub>では肺の微小構造の保護効果が認められたとされる<sup>28)</sup>。また臨床的には、ARDSにおいてPGE<sub>1</sub>が肺の微小血管の抵抗を下げ、肺水腫や右心負荷を減少させたとされ<sup>29)</sup>、肺高血圧においてPGE<sub>1</sub>が血小板や白血球の凝集を抑制させた<sup>30)</sup>報告がなされている。

このようにPGE<sub>1</sub>の投与は虚血再灌流時に有効であると考えられるが、血中ではPGE<sub>1</sub>は、肺循環系を一回通過するだけでその70-98%は不活化されてしまう。肺でプロスタノイドの除去に働くのは主に15-ヒドロキシプロスタグランドン脱水素酵素(hydroxyprostaglandin dehydrogenase, PGDH)、13,14-還元酵素、15-ケトプロスタグランドン還元酵素などの酵素である。犬の肺移植モデルでPGE<sub>1</sub>前投与は生存率やガス交換能の改善をもたらさなかったという報告<sup>31)</sup>や、豚の肺移植モデルでPGE<sub>1</sub>やPGI<sub>2</sub>の加えたフラッシュ液を使用し肺摘出を行ったがガス交換能や肺血管抵抗は改善しなかったという報告<sup>32)</sup>は、これらのプロスタノイドが失活したためと考えられる。吸入したPGE<sub>1</sub>の代謝に言及した論文はないが、Walmrathら<sup>4)</sup>はARDSにおけるPGI<sub>2</sub>吸入による肺動脈圧抑制の効果は投与中止とともに速やかに消退したと報告していることから、吸入したPGE<sub>1</sub>やPGI<sub>2</sub>も血管内投与時と同様に失活すると考えられる。さらに、家兎肺の2時間虚血再灌流時にPGE<sub>1</sub>の持続静注により血行動態の変化が押さえられ<sup>33)</sup>、犬の肺移植モデルでは移植後PGE<sub>1</sub>の持続投与が有効であった<sup>34)</sup>ことから持続投与が有効であると考えられる。また、ARDSに対するPGI<sub>2</sub>の吸入と静注の比較を行った実験<sup>4)</sup>では静注時に酸素化能の低下が起こったとされ、静注時

の換気血流比の不均等を指摘している。また、NOを吸入させることで移植肺の機能温存を試みたという報告<sup>5)</sup>もあるが前述の細胞毒性作用を考えると臨床応用は難しい。これらのことから筆者は、再灌流障害に対しPGE<sub>1</sub>溶液を超音波ネブライザーを用いて持続吸入投与することとした。

本研究では、再灌流時に42~50ng/kg/分のPGE<sub>1</sub>を持続吸入をさせることにより平均体動脈血圧を下げることなく、平均肺動脈圧を下げ、肺血管抵抗を相対的に下げることが示された。再灌流時の動脈血ガス分析においてPGE<sub>1</sub>群は虚血群と比較して有意に酸素分圧は良好であった。病理組織学的にもPGE<sub>1</sub>群は虚血群に比べ、肺障害は軽度で好中球浸潤が軽減されていることが示された。

以上の研究結果からPGE<sub>1</sub>の持続吸入は、肺虚血再灌流障害に対して有効な投与方法であると結論できる。ただし、持続投与は長時間にわたると吸入液による過加湿を起こす可能性があり、これを臨床応用させる場合には、薬物の濃度、投与時間、投与時期を慎重に検討する必要がある。

## 結 論

家兎肺の肺門部血管結紮による肺虚血再灌流モデルを用いて、再灌流時にPGE<sub>1</sub>を持続吸入投与し、その効果を平均肺動脈圧、平均体動脈圧、心拍出量、肺血管抵抗、ガス分析、病理組織像より検討した。

1. 再灌流3時間の経過において平均肺動脈圧は虚血群では対照群に比べ有意に高値であり、PGE<sub>1</sub>群は虚血群に比べ有意に低い値を示した。

2. 平均肺動脈圧、心拍出量、左房圧より算出した肺血管抵抗値では、PGE<sub>1</sub>群は虚血群に比べ有意に低い値を示し、PGE<sub>1</sub>群と対照群に有意差はなく、肺血管抵抗の上昇が抑えられていた。

3. PaO<sub>2</sub>では虚血群は対照群に比べ有意に悪化しており、PGE<sub>1</sub>群は虚血群に比べ有意に良好であった。PGE<sub>1</sub>群は虚血群ほどの酸素化能悪化を認めなかった。

4. 病理組織学的検査では、PGE<sub>1</sub>群は虚血群に比し好中球浸潤、肺胞隔壁の肥厚が軽度であった。

以上より肺虚血再灌流時のPGE<sub>1</sub>持続吸入は再灌流障害の低減に有効であると考えられる。

## 謝 辞

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜りました金沢大学医学部第一外科学講座渡洋宇教授に深く感謝いたします。また、実験の御指導、御教示をいただきました村上真也博士に厚く御礼申し上げます。また病理組織学的検討にご助言を頂きました病理学第一講座小林雅子博士に心から謝意を表します。さらに、終始御助言、御協力いただいた金沢大学医学部第一外科学教室の諸先生方に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) Richard JN, Kenneth EG, Imtiaz SA. Lung preservation: the importance of endothelial and alveolar type II cell integrity. *Ann Thorac Surg* 62:302-14, 1996
- 2) Janeway CA, Travers P. *Immunobiology: The immune system in health and disease* New York/London. Garland/Current Biology 9:13-4, 1994
- 3) Shiraiishi T, Mizuta T, Patterson GA. Effect of ischemic injury on subsequent rat lung allograft rejection. *Ann Thorac*

Surg 60: 947-51, 1995

- 4) Freeman B. Free radical chemistry of nitric oxide: looking at the dark side. *Chest* 105:79S-84S, 1994
- 5) Sundaresan S, Trachiotis GD, Aoe M, Patterson GA, Cooper JD. Donor lung procurement: assessment and operative technique. *Ann Thorac Surg* 56:1409-13, 1993
- 6) Walmrath D, Schneider T, Pilch J, Grimminger F, Seeger W. Aerosolised prostacyclin in adult respiratory distress syndrome. *Lancet* 342: 961-2, 1993
- 7) Okabayashi K, Triantafillou AN, Patterson GA. Inhaled nitric oxide improves lung allograft function after prolonged storage. *J Thorac Cardiovasc Surg* 112: 293-9, 1996
- 8) Novick RJ, Menkis AH, McKenzie FN. New trends in lung preservation: a collective review. *J Heart Lung Transplant* 11: 377-92, 1992
- 9) Kirk AJB, Colquhoun IW, Dark JH. Lung preservation : a review of current practice and future directions. *Ann Thorac Surg* 56: 990-1000, 1993
- 10) Cooper JD, Vreim CE. Biology of lung preservation for transplantation. *Am Rev Respir Dis* 146: 803-7, 1992
- 11) Hearse DJ, Humphrey SM, Nayler WG, Slade A, Border D. Ultrastructural damage associated with reoxygenation of the anoxic myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 7:315-324, 1975
- 12) Hearse DJ, Humphrey SM, Bullock GR. The oxygen paradox and the calcium paradox: two facets of the same problem? *J Mol Cell Cardiol* 10: 641-668, 1978
- 13) Tate RM, Vanbenthuyzen KM, Shasby DM, McMurtry IF, Repine JE. Oxygen-radical-mediated permeability edema and vasoconstriction in isolated perfused rabbit lungs. *Am Rev Respir Dis* 126: 802-806, 1982
- 14) McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 312: 159-163, 1985
- 15) Bando K, Pillai R, Cameron DE, Brawn JD, Winkelstein JA, Hutchins GM, Reitz BA, Baumgartner WA. Leukocyte depletion ameliorates free radical-mediated lung injury after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 99: 873-877, 1990
- 16) Shasby DM, Vanbenthuyzen KM, Tate RM, Shasby SS, McMurtry I, Repine JE. Granulocytes mediate acute edematous lung injury in rabbits and in isolated rabbit lungs perfused with phorbol myristate acetate: Role of oxygen radicals. *Am Rev Respir Dis* 125: 443-447, 1982
- 17) Bevilacqua M, Butcher E, Furie B, Furie B, Gallatin M, Gimbrone M, Harlan J, Kishimoto K, Lasky L, McEver R. Selectins: a family of adhesion receptors. *Cell* 67: 233, 1991
- 18) Lefer AM, Lefer DJ. Pharmacology of the endothelium in ischemia-reperfusion and circulatory shock. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 33: 71-90, 1993
- 19) Tsao PS, Lefer AM. Time course and mechanism of endothelial dysfunction in isolated ischemic- and hypoxic-perfused rat hearts. *Am J Physiol* 259: H1660-6, 1990
- 20) Murad F. Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. *J Clin Invest* 78: 1-5, 1986
- 21) Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts of the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327: 524-6, 1987
- 22) Davidson D. NO bandwagon, yet: inhaled nitric oxide (NO) for neonatal pulmonary hypertension. *Am Rev Respir Dis* 147: 1078-9, 1993
- 23) Journois D, Pouard P, Mauriat P, Malhere T, Vouhe P, Safran D. Inhaled nitric oxide as a therapy for pulmonary hypertension after operations for congenital heart defects. *J Thorac Cardiovasc Surg* 107: 1129-35, 1994
- 24) Gorman RR, Bunting S, Miller OV. Modulation of human platelet adenylate cyclase by prostacyclin (PGX). *Prostaglandins* 13: 377-88, 1977
- 25) Haynes DR, Whitehouse MW, Vernon-Roberts B. The prostaglandin E<sub>1</sub> analogue, misoprostol, regulates inflammatory cytokines and immune functions in vitro like the natural prostaglandins E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> and E<sub>3</sub>. *Immunology* 56: 1409-13, 1992
- 26) Kelly CJ, Zurier RB, Krakauer KA, Blanchard N, Neilson EG. Prostaglandin E<sub>1</sub> inhibits effector T cell induction and tissue damage in experimental murine interstitial nephritis. *J Clin Invest* 79: 782-9, 1987
- 27) Kassiss S, Lee JC, Hanna N. Effects of prostaglandins and cAMP levels on monocyte IL-1 production. *Agents Actions* 27: 274-6, 1989
- 28) Higgins RS, Letsou GV, Sanchez JA, Eisen RN, Smith GJ, Franco KL, Hammond GL, Baldwin JC. Improved ultrastructural lung preservation with prostaglandin E<sub>1</sub> as donor pretreatment in a primate model of heart-lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 105: 965-71, 1993
- 29) Melot CH, Lejeune PH, Leeman M, Moraine JJ, Naeije R. Prostaglandin E<sub>1</sub> in the adult respiratory distress syndrome. Benefit for pulmonary hypertension and cost for pulmonary gas exchange. *Am Rev Respir Dis* 139: 106-16, 1989
- 30) Long WA, Rubin IJ. Prostacyclin and PGE<sub>1</sub> treatment of pulmonary hypertension. *Am Rev Respir Dis* 136: 773-6, 1987
- 31) Bonser RS, Fragomeni LS, Jamieson SW, Fischel RJ, Harris KM, Edwards BJ, Rotenberg D, Kaye MP. Effects of prostaglandin E<sub>1</sub> in twelve-hour lung preservation. *J Heart Lung Transplant* 10: 310-6, 1991
- 32) Kukkonen S, Heikkilä LJ, Verkka K, Mattila SP, Mattila SP, Toivonen H. Prostaglandin E<sub>1</sub> or prostacyclin in Euro-Collins solution fails to improve lung preservation. *Ann Thorac Surg* 60: 1617-22, 1995
- 33) Matsuzaki Y, Waddell TK, Puskas JD, Hirai T, Nakajima S, Slutsky AS, Patterson GA. Amelioration of post-ischemic lung reperfusion injury by prostaglandin E<sub>1</sub>. *Am Rev Respir Dis* 148: 882-9, 1993
- 34) Aoe M, Trachiotis GD, Cooper JD. Administration of prostaglandin E<sub>1</sub> following lung transplantation improves early



**The Preventive Effects of PGE<sub>1</sub> Inhalation on Pulmonary Ischemia-Reperfusion Injury** Masahiko Kawaguchi  
Department of Surgery (1), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — J. Juzen Med Soc., **108**, 687 — 694 (1999)

**Key words** ischemia-reperfusion injury, lung trans-plantation, prostaglandin, neutrophil infiltration

#### Abstract

Toxic oxidants and protease appear to be the main causes of pulmonary ischemia-reperfusion injury in which the interaction of the leukocytes and the pulmonary endothelial cells should take part. Prostaglandin E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) is an eicosanoid that has the multifunctions of the vasodilation, prevention of neutrophil adherence, and inhibition of platelet aggregation, resulting in protection from ischemia-reperfusion injury of the liver.

In this study the author aimed to assess the effects of PGE<sub>1</sub> inhalation therapy on warm pulmonary ischemia-reperfusion injury. Under general anesthesia, New Zealand white rabbits were ventilated and both the pulmonary arteries and veins were isolated from the bronchi to create ischemic conditions in the lungs. In the control group, rabbits were maintained for three hours without reperfusion of the left lung (n=5). In the ischemic group, the rabbits underwent three hours of reperfusion of the left lung after two hours of ischemic status (n=6). For rabbits in the PGE<sub>1</sub> inhalation group, inhalation of PGE<sub>1</sub> (42-50ng/kg/min) was continued while the circulation was reperfused (n=6). After reperfusion, mean arterial pressure, mean pulmonary arterial pressure (mPA), mean left atrial pressure (mLA), blood gas, and mean blood flow from the aorta were assessed every 60 minutes until three hours after the reperfusion. Then, the relative value of cardiac output (CO) and pulmonary vascular resistance (PVR) were also calculated. The arterial blood gas was used as the indicator for arterial oxygen pressure (PaO<sub>2</sub>). After three hours of reperfusion, the rabbits were sacrificed and the left lungs were histopathologically examined. There were no significant changes in the arterial pressure among the three groups. In the ischemic group, there were no significant differences in the mPA and the CO values, compared to those in the control group. The rabbits in the ischemic group had significantly higher PVR and lower PaO<sub>2</sub> values than those in the control group. As for the histopathological features in the ischemic group, a diffuse infiltration of neutrophils into the alveolar wall and space, and pulmonary edema were found. In the PGE<sub>1</sub> group, mPA was significantly lower than that in the ischemic group. Although there were no significant differences in the CO values, the rabbits in the PGE<sub>1</sub> group had significantly lower PVR and higher PaO<sub>2</sub> than those in the ischemic group. Histopathological features in the PGE<sub>1</sub> group showed decreases in neutrophil infiltration and pulmonary edema, compared with those in the ischemic group. From the results of the present study, it could be concluded that continuous inhalation of PGE<sub>1</sub> contributed to reduce lung reperfusion injury.