

Title	Hypercapnic Acidosis Attenuates Endotoxin-Induced Nuclear Factor- κ B Activation.
Sub Title	高二酸化炭素性アシドーシスはエンドトキシンによるNuclear Factor- κ Bの活性化を抑制する
Author	竹下, 啓
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.2 (2004. 6) ,p.42-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0042

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Hypercapnic Acidosis Attenuates Endotoxin-Induced Nuclear Factor- κ B Activation.

(高二酸化炭素性アシドーシスはエンドトキシンによるNuclear Factor- κ Bの活性化を抑制する)

竹 下 啓

内容の要旨

【背景】近年permissive hypercapniaに基づく呼吸管理が急性呼吸促進症候群 (ARDS) 患者の生命予後を改善することが大規模臨床試験で示された。しかしながら、permissive hypercapniaによりもたらされる高二酸化炭素性アシドーシス (HA) がARDSを中心とする肺傷害に与える影響については十分な検討がなされていない。本研究では、培養肺血管内皮細胞を用いて、HAがエンドトキシンによる肺の炎症に与える影響について検討した。

【材料と方法】ヒト肺動脈血管内皮細胞 (HPAEC) を、21% O₂-5% CO₂の正常CO₂濃度環境 (pH7.34±0.02、PCO₂ 35.5±0.6mmHg) ないし21% O₂-10% CO₂の高CO₂濃度環境 (pH7.01±0.01、PCO₂ 74.7±2.8mmHg) に曝露した。さらに大腸菌リポポリサッカライド (LPS) を最終濃度 1 μg/mLとなるように調節しHPAECを刺激した。一部の実験においては、21% O₂-5% CO₂に平衡させた培養液にHClを加え代謝性アシドーシスを作成した (pH7.02±0.02、PCO₂ 36.3±1.4mmHg)。また、21% O₂-10% CO₂に平衡させた培養液をNaHCO₃で緩衝し高CO₂濃度と正常pHを有する環境を作成した (pH7.32±0.02、PCO₂ 75.2±1.5mmHg)。HPAECから核蛋白質を抽出し、NF- κ BとAP-1のDNA結合能をゲルシフトアッセイで検討した。またI κ B- α とI κ B- β の発現をウェスタンブロットで測定した。さらに、HPAEC表面のICAM-1発現をflow cytometry (FCM) で、培養液中のIL-8をELISAで、ICAM-1とIL-8のmRNAをRT-PCRで測定した。培養液中のLDH活性を測定し、HPAEC傷害の指標とした。また、健康人から比重遠心法にて分離した好中球を用いて、好中球上のMac-1の発現をFCMで測定した。内皮細胞と好中球の接着をadhesion assayで検討した。

【結果】HAはHPAECにおいてLPS刺激によるNF- κ Bの活性化、I κ B- α の発現低下、ICAM-1およびIL-8の発現亢進、細胞傷害、好中球の接着増加を抑制した。代謝性アシドーシスおよび正常pHを有する高CO₂ガス環境においてもLPS刺激によるNF- κ Bの活性化およびI κ B- α 発現低下が抑制されたが、その程度はHAの場合に比較して軽度であった。一方、HAはLPS刺激によるHPAECにおけるAP-1の活性化、好中球におけるMac-1の発現には影響をおよぼさなかった。

【考察】以上の結果から、HAは内皮細胞のNF- κ B-DNA結合活性を抑制することにより、肺の炎症に対して防御的に働く可能性が示唆された。

論文審査の要旨

近年人工呼吸管理によって誘発される肺傷害を予防するために、従来よりも少ない1回換気量を用いた換気方法が考案され、これによりARDS患者の予後を改善することが複数の臨床試験で示された。少ない1回換気量による人工呼吸管理でARDS患者の生命予後が改善されたのは、あくまでも肺泡過伸展などの軽減による効果が主であると考えられているが、副産物として発生するhypercapnic acidosisがARDSなどの肺傷害に与える影響については十分な知見がない。本研究では、培養ヒト肺動脈血管内皮細胞を用いて、hypercapnic acidosisがエンドトキシンによる肺の炎症に及ぼす影響を与えるかについて検討した。その結果、hypercapnic acidosisが肺血管内皮細胞においてLPS刺激によるNF- κ Bの活性化、I κ B- α の発現低下、ICAM-1およびIL-8の発現亢進、LDHを指標とした細胞傷害、および、好中球の接着増加を抑制することが判明した。以上の結果から、hypercapnic acidosisが血管内皮細胞のNF- κ B-DNA結合活性を抑制することにより、肺の炎症に対して防御的に働く可能性が示唆された。

審査ではまず、本研究で用いた実験系と生体内との条件の相違について質問がなされた。本研究で用いられた培養液のpHおよびPCO₂は、少量一回換気法で人工呼吸管理された患者の動脈血で実際に観察され得る値であり妥当と考えられるが、血流や換気のない静止状態であることが生体とは大きく異なると回答された。また、NF- κ Bの抑制効果がhypercapnic acidosisに比較してbuffered hypercapniaおよびisocapnic acidosisにおいて弱かった機序について説明を求められた。申請者が細胞内pHを検討したところ、内皮細胞をhypercapnic acidosisに曝露すると速やかに細胞内pHが低下しそれが遅延したのに対し、buffered hypercapniaおよびisocapnic acidosisにおいては細胞内pHの低下が一時的にすぎなかったことから、細胞内pHが重要な役割をしていると推測されると回答された。これに対して、CO₂分子そのものがなんらかの作用を有している可能性があり、そのための検討も行うよう要望された。さらに、本研究で認められたhypercapnic acidosisによるNF- κ Bの抑制効果が、肺血管に特徴的なものなのかと質問がなされた。これに対してヒト臍帯静脈血管内皮細胞でも同様の現象が観察されたことから、必ずしも肺血管に特異的なものではないと回答された。またpH、PCO₂だけでなく、HCO₃⁻の関与を明らかにするために、低PCO₂あるいは炭酸脱水酵素阻害剤を加えた条件での検討も加えるべきであると助言された。さらに好中球のadhesion assayにおいて、抗ICAM-1抗体で処理した場合においても好中球の接着が完全には抑制されなかったことについて質問があった。これに対して、抗ICAM-1抗体を添加した場合にhypercapnic acidosisによる好中球接着抑制効果が消失したことから好中球の接着抑制効果が主にICAM-1を介したものであると推測されるものの、好中球の接着自体にはICAM-1以外にVCAM-1やselectinなど他の接着分子の関与も考えられると説明がなされた。最後に、今後は低濃度酸素や高濃度酸素など、実際の人工呼吸管理で高頻度に認められる病態にhypercapnic acidosisが加わった条件についても検討を続けるよう要望がなされた。

以上のように、本研究ではさらに検討されるべき課題を残しているものの、hypercapnic acidosisがエンドトキシンによる肺傷害に対して防御的効果を有することを転写因子レベルから示した点で、価値ある論文と評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 小川 聡
医化学 末松 誠 外科学 小林 紘一
臨床麻酔学 武田 純三
学力確認担当者：北島 政樹、末松 誠
審査委員長：末松 誠

試問日：平成16年3月15日