慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Role of Rho-kinase in reexpansion pulmonary edema in rabbits
Sub Title	家兎再膨張性肺水腫における口一・キナーゼの役割
Author	澤藤, 誠
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.1 (2007. 3) ,p.11-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070302-0011

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.

Role of Rho-kinase in reexpansion pulmonary edema in rabbits
(家兎再膨張性肺水腫におけるロー・キナーゼの役割)

澤　藤　　誠

内容の要旨

【緒言】再膨張性肺水腫は長時間虚脱していた肺が急速に伸展された際に、再膨張肺の血管透過性亢進が生じることにより発症する透過性亢進型肺水腫であることが知られている。またその発症に好中球や好中球由来メディエーターの関与が示されている。一方、血管透過性亢進はミオシン軽鎖のリン酸化による細胞内アクチン－ミオシン構造の変化に伴う血管内皮細胞間隙の開大によって生じるが、最近ミオシン軽鎖のリン酸化の制御機構に低分子量G蛋白質RhoおよびRho-kinaseを介した情報伝達経路が関与していることが知られてきた。そこで本研究では、虚脱後再膨張肺に生じる肺損傷とRho-kinaseを介した伝達経路の関連を解明する目的で、1）家兎再膨張性肺水腫モデルにおけるY-27632（Rho-kinase阻害剤）投与の影響、2）*in vitro*で培養ヒト肺動脈血管内皮細胞を用いて好中球由来メディエーターであるH_2O_2による透過性亢進に対するY-27632の効果を検討した。

【方法】1）家兎を再膨張群（36時間左肺の虚脱を維持した後に自発換気下2時間の持続吸引を行い再膨張）、Y-27632投与群（再膨張30分前に10mg/kg腹腔内投与）、対照（偽手術施行）群の3群に分け、^{125}I-アルブミン（Alb）の肺組織血漿比（T/P）、^{125}I-Alb気管支肺胞洗浄液血漿比（B/P）、^{125}I-Albを加えた自家血漿2ml/kgを経気道的に左下葉に注入した後の^{125}I-Albの血中への移行比（P/I）を測定した。2）培養ヒト血管内皮細胞の、H_2O_2の添加とY-27632処置時のAlb透過性を測定し、血管内皮細胞の形態変化を観察した。

【結果】1）再膨張群では再膨張肺である左肺のT/P、B/PおよびP/Iは対照群に比べ有意に高値を示したが、Y-27632群ではそれら全ての上昇が抑制された。2）H_2O_2の添加によりAlb透過性が有意に亢進し、Y-27632前処置はその透過性亢進を抑制した。H_2O_2刺激により、内皮細胞の収縮、細胞間隙の開大がみられたが、Y-27632の添加によりそれらの変化を認めなくなった。

【考察】虚脱後の再膨張肺に生じる肺損傷は、膨張肺の血管内皮に加え、上皮の透過性が亢進することにより生じる。Y-27632の前投与は、再膨張肺に生じた血管内皮透過性および上皮透過性亢進を抑制したが、これはY-27632が血管内皮や肺上皮細胞のRho-kinase活性を阻害し、活性酸素種刺激による細胞の収縮や間隙の開大を抑制することによるものと考えられた。再膨張肺に生じる肺血管内皮細胞および肺上皮細胞透過性亢進にRho/Rho-kinaseを介した情報伝達経路が関与することが示唆された。

論文審査の要旨

血管内皮細胞の透過性は細胞骨格の変化に伴う細胞収縮の程度により調節を受けているが、透過性亢進型の肺水腫といわれる再膨張性肺水腫の病態と血管内皮細胞骨格制御系との関連は不明である。本研究は、再膨張性肺水腫の発症における、内皮細胞骨格を制御する低分子量G蛋白質ロー（Rho）およびロー-キナーゼ（Rho-kinase）を介した情報伝達経路の役割を明らかにする目的で行われた。家兎再膨張性肺水腫モデルにおいて、特異的Rho-kinase阻害剤（Y-27632）投与は再膨張肺に生じる血管透過性、肺上皮透過性を有意に抑制した。また培養ヒト肺動脈血管内皮細胞を用いた検討では、Y-27632前処置はH_2O_2刺激によるアルブミン透過性亢進および内皮細胞の収縮、細胞間隙の開大を抑制した。これらの結果より再膨張肺に生じる血管内皮細胞および肺上皮細胞透過性亢進にRho/Rho-kinaseを介した情報伝達経路が関与することが示唆された。

審査では、肺損傷時に血管内皮に加え、肺上皮透過性について検討することの意義について質問がされた。これに対し、隔壁機能は血管内皮よりも肺上皮の方が高いので、上皮透過性の亢進は臨床的に重症な肺障害を示すと考えられると回答された。そして再膨張性肺水腫が一般に急性発症である理由の一つとして血管内皮と同時に肺上皮の透過性が亢進することが本研究で示されたと回答された。本実験系での肺上皮透過性は、上皮側がアルブミン透過性を規定していることを前提として検討がされており、上皮透過性の変化を正確に示すには他の評価での検討が必要であるとの指摘がなされた。またY-27632前処置により再膨張肺への好中球集積や好中球関連細胞障害因子の産生を抑制しないにもかかわらず、血管透過性亢進が抑制された理由が質問された。再膨張性肺水腫においては肺虚脱時の低酸素環境、血流低下が好中球活性化の刺激となっており、36時間の肺虚脱後に投与されたY-27632は既に刺激を受けた好中球側への抑制効果は現れなかったと回答された。また培養肺動脈血管内皮細胞を用いた検討での結果をふまえると、Y-27632は血管内皮細胞内のRho-kinaseを阻害することにより、好中球関連細胞障害因子刺激による内皮細胞骨格変化を抑制し、結果として肺水腫を抑制したと回答された。培養系での検討については、使用した細胞障害因子の選択や濃度設定、また肺上皮細胞における透過性など検討すべき点があるとの指摘がなされた。

以上のように、本研究では未だ検討されるべき点を残しているものの、再膨張性肺水腫の病態における細胞骨格制御系の関与を明らかにし、今後の急性肺損傷の治療の開発にもつながりうる可能性を示唆した有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者　主査　外科学　小林　紘一
麻酔学　武田　純三　　内科学　小川　　聡
病理学　岡田　保典
学力確認担当者：池田　康夫
審査委員長：武田　純三

試問日：平成18年10月10日