

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

高田 女里

専攻分野：法医学

コース：

指導教授：向井 敏二

主論文の題目：

Inflammatory Responses to Neutral Fat and Fatty Acids in Multiple Organs in a Rat Model of Fat Embolism Syndrome

(脂肪塞栓症候群モデルラットの全身諸臓器における中性脂肪と脂肪酸に対する炎症反応)

共著者：

Shoetsu Chiba, Tomonori Nagai, Hiroshi Takeshita, Sanae Kanno, Toru Ikawa, Kana Sakamoto, Morihisa Sagi, Kazue Ichiba, Toshiji Mukai

緒言

脂肪塞栓症(Fat embolism:FE)は長管骨骨折や脂肪挫滅により静脈血液中に流入した脂肪が、肺をはじめとする全身諸臓器の毛細血管で塞栓を来たす疾患である。その中でも、受傷から24~72時間後に呼吸困難、精神神経症状、皮膚点状出血の三徴候を認めるものを脂肪塞栓症候群(Fat embolism syndrome:FES)という。FESは時に致死的となるにもかかわらず、特異的な検査所見が無いいため診断は困難であり、その発症メカニズムには不明な点が多い。FESモデル動物の肺における炎症反応に

着目した研究は多いが、全身諸臓器における炎症反応の経時的変化を検討した研究はない。今回我々はその病態を解明する目的で、FES モデルラットを作製し、肺をはじめとする諸臓器における炎症反応を経時的に、組織学的ならびに生化学的に検討した。

方法・対象

投与物質として中性脂肪(Neutral fat:NF)とパルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸(Oleic acid:OA)、リノール酸の4種の脂肪酸(Fatty acid:FA)を用いた。これらの脂肪(200 μ L)をレシチンとグリセロールで乳化し10週齢 Wistar 系雄性ラットに静注した。投与後6~48時間(8群、n=3)で屠殺し、肺、心、肝、腎、脳および血液を採取後、以下(1)~(4)の検査に用いた。

(1)肺重量を測定し肺/体重比を算出した。(2)経時的に採取した諸臓器のズダンⅢ染色標本を作製し組織学的検査を実施した。(3)Real-time RT-PCR 法により肺の炎症性サイトカイン(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)mRNAを定量し、相対値の平均値とその標準誤差を算出した。(4)NF群およびOA群の諸臓器と血漿について炎症性サイトカインをELISA法で経時的に定量した。

なお、本研究は聖マリアンナ医科大学大学院動物実験委員会の承認を得ている(承認番号 第1408004号)。

結果

NF・FAに基づく肺水腫を間接的に評価するため肺/体重比について、対照群を1としたときの相対値は、各種FA群で1.04~1.11の範囲であ

り、最も高値を示したのはNF群の1.27であった。組織学的検査では、NF群で肺、腎、心、脳の毛細血管内に脂肪塞栓像が認められたが、肝毛細血管内には認められなかった。肺の脂肪塞栓像は12時間をピークに以降漸減した。一方、FA群ではいずれの臓器にも脂肪塞栓像は認められなかった。ただし、OA群では脂肪滴を貪食したマクロファージが肺胞内で多数認められた。

炎症性サイトカイン mRNA の定量分析では、NF群で3種のサイトカイン mRNA が、OA群ではIL-6のmRNAが他の群と比較して高値を示した。そこでNFとOAに着目し、両群の諸臓器におけるサイトカインを定量した。その結果、NF群ではIL-1 β とTNF- α が投与後9時間以降に肺で継続的に高値を示し、肝ではIL-1 β が投与後24時間で高値を示した。また、IL-6は投与6時間後、肺で一過性に増加した。

OA群では投与6時間後の肺で全サイトカインが一過性に高値を示した後、急激に減少するものの、IL-6のみが全臓器および血漿で15時間以降急激な増加に転じた。

考察

組織学的検査により、NF群では肺だけでなく大循環系諸臓器にも塞栓子が確認された。これにより、今回用いた実験動物がFESモデルとして適切であることが確認された。

FA群では諸臓器に塞栓子は認められなかったが、NF群では主に肺に多量の塞栓子が認められた。加えて、肺水腫に起因するとみられるNF群の肺/体重比が他の群と比べて高値を示したことから、FESの初期病態は肺でのNF塞栓であることが示唆された。

炎症性サイトカインの変動については、OA群では全サイトカインが

肺において一過性に高値を示したのに対し、NF 群では肺において IL-1 β と TNF- α は高値を維持するという特徴を示した。OA は NF のように塞栓形成することがなく、また肺に特異的に結合するという性質を有するため、OA が肺毛細血管を短期的に刺激することにより一過性の高値が認められたものと考えられた。一方、NF 群におけるサイトカイン値の上昇は、①塞栓部に遊走してきた炎症細胞からのサイトカイン放出と、②脂肪塞栓子がリパーゼにより加水分解され生じた OA による血管内皮細胞の刺激、の二つの要因が考えられ、これらが一定期間複合的に持続した結果、継続的に高値を示したものと考えられた。

サイトカインの変動として特筆すべき点は、OA 投与から 15 時間以降に全臓器と血漿に出現する IL-6 の急激な上昇であり、これらの現象は FES 患者の血清中 IL-6 が受傷後 12 時間で著増するという研究報告にも一致していることから、極めて興味深い新知見と考えられた。

結論

本研究結果より、NF 群および OA 群ではその機序は異なるものの、主に肺が障害され炎症性サイトカインが上昇することを明らかにした。

また、NF 群では肝以外の諸臓器で塞栓像が認められたが、炎症性サイトカインとの関連性は必ずしも明確でなく、今後更なる検討が必要と考えられた。一方、OA 群の全臓器および血漿でみられた IL-6 の遅発性の急激な上昇が、FES の発症メカニズムと深く関連する可能性を明らかにした。