

6

興奮性アミノ酸による
ラット海馬酸素分圧 (PO₂) の変動

(法医学) ○原 修一、向井敏二、岩田修永
栗岩ふみ、加納節夫、遠藤任彦

PO₂ は温度によって変動するため、その測定は、一定温度で行うか、測定された見かけ上のPO₂ 値を温度変化に応じて補正して真のPO₂ 値を得なければならない。これは、in vivo 実験においては非常に困難である。我々は、組織の温度が変動した場合でも、それを補正してPO₂ を測定できるよう温度センサーを内蔵した酸素電極を用い、ラットに N-methyl-D-aspartate (NMDA) を側脳室内投与 (icv)、あるいは N-methyl-DL-aspartate (NMDLA) を腹腔内投与 (i.p.) した場合の海馬のPO₂ を測定したところ、興味ある知見を得た。

【実験方法】 体重 200 -270 g の SD 系雄性ラットを用いた。ラットをウレタンで麻酔し、頭部を脳定位固定器に固定した。実験中は、直腸温をモニターし、37.0 以下にならないよう保温した。使用した温度センサー内蔵酸素電極は、ユニークメディカル社製の外径 0.4 mm のものを用いた。組織内血流量は、外径 0.8 mm のプローブを接続したレーザードップラー血流計 (Vasamedics 製) を用いて測定した。

【結果】 海馬のPO₂ は、NMDLA 200 mg/kg, i.p. により有意に上昇した。この投与量においては、有意な海馬の血流量の変化は、認められなかった。線条体のPO₂ 及び血流量は、全く変化しなかった。海馬PO₂ は、NMDA 100 nmole, icv によっても有意に上昇した。この上昇は、NMDA 受容体の競合的な拮抗薬である (±)-2-amino-5-phosphonopentanoic acid の前処置により阻害されたが、NMDA 受容体の非競合的拮抗薬である MK-801 前処置は全く効果がなかった。

【結論】 NMDA 受容体刺激は、血流量を変化させることなく海馬PO₂ を上昇させることが明らかとなった。NMDA の神経毒性には、一部、酸化的ストレスが関与することが示唆されているため、PO₂ 上昇は、その神経毒性に重要な役割を演じているものと考えられる。

7

Wegener 肉芽腫症 (WG) における抗好中球細胞質抗体 (ANCA) の病因・病態に果たす意義に関する研究

(八王子・臓器移植部 腎臓内科)
○吉田雅治、岩堀 徹、伊保谷憲子、
杉浦美砂、川口美香、小崎正巳

【目的】 今回われわれは、C-ANCA の対応抗原である好中球細胞質内 α 顆粒中の proteinase-3 (PR-3) の同定、および WG の病因・病態に果たす C (PR-3) ANCA の意義について解析した。【方法】 厚生省改訂診断基準を満たす WG 34 例を対象とし、ANCA の検出は間接蛍光抗体法および酵素抗体法により行った。WG の主病変の臨床病型を De Remmee らの ELK 分類 (E: 眼、鼻、口腔、咽頭、L: 肺、K: 腎) に分けて分類した。PR-3 の精製はオレンジ A カラムを用い、PR-3 と細胞外マトリックスの反応は、免疫電気ゲル上で各種マトリックス蛋白で判定した。血管内皮細胞障害の測定は、HUVEC よりの ⁵¹Cr およびトロンボモデュリン (TM) の放出度により行った。催炎症性サイトカインとして IL-1、IL-6、TNF-α、可溶性細胞接着因子として ICAM-1、ELAM-1、VCA-1 をそれぞれ酵素抗体法により測定した。

【結果】 WG 34 例中 28 例 (80%) に C (PR-3) ANCA が陽性を示し、PR-3 ANCA 力価は限局型 WG (E, L, EL, EK) 24 例が 108 ± 166 Eunit に比較し、全身型 WG (EL, K) 10 例は 903 ± 1604 Eunit と高値を呈した。C (PR-3) 高値陽性 WG 患者血清 IgG より、オレンジ A カラムを用いて PR-3 を精製し得た (29%)。PR-3 と各種細胞外マトリックスとの反応を免疫電気ゲル上で観察すると、フィブロネクチン、ラミニン、ピトロネクチン、コラーゲン type IV をそれぞれ水解した。WG の PR-3 ANCA IgG は、健常人に比し内皮細胞障害度 (cell injury 指数、TM 抗原量) 2 ~ 6 倍上昇しており、WG の ELK 臓器病変分布と正の相関を示した。催炎症性サイトカイン (IL-1β、TNF-α、IL-6) および可溶性細胞接着因子 (sICAM-1、sVCA-1) は、PR-3 ANCA 力価と同様に限局型 WG に比し、全身型 WG で有意に高値を示した。【総括】 WG の PR-3 ANCA は、ANCA、サイトカイン、細胞接着因子、sequence により内皮細胞障害をきたし、壊死性血管炎、半月体形成性腎炎をきたすと考えられた。