

論文の内容の要旨

論文題目 Pathological studies on the exacerbating effects of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on lung injury

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の肺傷害増強作用に関する病理学的研究

氏 名 足立健児

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) は好中球系前駆細胞の分化・増殖を促進する造血因子である。さらに、G-CSF は造血前駆細胞と好中球を骨髄から末梢血液中へ放出し、末梢血液中成熟好中球数の増加およびその寿命の延長、血管内皮への成熟好中球の接着、末梢血液から組織あるいは炎症病巣への遊出、および食食能を増加させる。こうした薬理作用を有することから、G-CSF はがん化学療法による顆粒球減少症あるいは骨髄移植等に臨床適応され、顆粒球減少症による発熱や感染症の発症の抑制、あるいはがん患者の入院期間の短縮に寄与している。さらに、G-CSF の使用は高用量の化学療法を可能にさせている。

G-CSF は副作用の少ない医薬品であるが、ごく希に、G-CSF がブレオマイシン (BLM) のような肺傷害性抗がん剤の示す肺傷害作用を増強したり、あるいは肺傷害性が知られていない薬剤との併用時に、肺へ傷害作用を及ぼすことが報告されている。また、活性化好中球は肺の微小循環の病態に関与し、成人呼吸窮迫症候群 (ARDS) を引き起こすことが報告されているが、G-CSF の肺への経気管投与もまた活性化好中球の肺への浸潤、肺傷害、および肺機能障害を引き起こすと言われており、G-CSF の局所での産生は、肺傷害および

ARDS の進展に影響を及ぼす可能性がある。しかし、G-CSF 併用時にみられる肺傷害の発現機序については、いくつかの仮説が提唱されてはいるが、その詳細は未だ明らかにされていない。

この点に関し、実験的な急性肺傷害モデルに対する G-CSF の影響に関する検討がいくつか報告されている。しかし、G-CSF と肺傷害との関連については十分には解明されておらず、G-CSF と肺傷害との関連を実験的に詳細に検討することが重要である。本研究では、ラットの BLM 誘発肺傷害モデルを用いて、G-CSF による肺傷害の発現機序および増強作用について病理学的に検討した。BLM を投与したラットは、び慢性肺胞傷害 (DAD) とそれに続いて肺線維化を引き起こすことから、実験的肺線維化モデルとして汎用されている。

第 1 章では、G-CSF が BLM 誘発肺傷害を増強するか否かを明らかにする目的で、BLM の経気管単回投与により誘発したラットの肺傷害に対する G-CSF の影響を検討した。実験 1 では、ラットに生理食塩液あるいは BLM (2000 $\mu\text{g}/\text{rat}$) 投与直後より G-CSF (10、30、100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$, *s.c.*) を 7 日間投与した。その結果、G-CSF 単独投与ラットでは、肺胞毛細血管内に多数の好中球の集簇がみられたが、肺傷害はみられなかった。BLM 処置ラットへの G-CSF 投与は、末梢血好中球数および肺病変部への浸潤好中球数の増加を伴い、肺傷害スコアを用量依存的に増強させた。実験 2 では、ラットに生理食塩液あるいは BLM (2000 $\mu\text{g}/\text{rat}$) 投与直後より G-CSF (100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$, *s.c.*) を 28 日間投与した。その結果、BLM 処置ラットへの G-CSF 投与は、肺病変部への浸潤好中球数の増加を伴い、肺傷害スコアおよび肺線維化スコアを増強させた。上述の結果から、BLM 処置ラットへの G-CSF 投与は、BLM 誘発急性肺傷害ならびに肺線維化を用量依存的に増強するものと考えられ、肺傷害の増強と末梢血好中球数および肺病変部への浸潤好中球数の顕著な増加とはよく対応していた。

第 2 章では、BLM 経気管単回投与により誘発したラットの肺傷害の炎症期および線維化期に及ぼす G-CSF の影響を検討した。G-CSF (100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$, *s.c.*) を BLM (2000 $\mu\text{g}/\text{rat}$) 投与後 3 (炎症期) あるいは 14 日 (線維化期) から 7 日間投与した。その結果、炎症期の

BLM ラットへの G-CSF 投与は、末梢血好中球数および肺病変部への浸潤好中球数の増加を伴い、肺傷害を増強させた。一方、線維化期の BLM ラットへの G-CSF 投与は、末梢血好中球数および肺病変部への浸潤好中球数の増加がみられたが、肺傷害を増強させることはなかった。上述した結果から、BLM 誘発肺傷害に対する G-CSF の作用は、G-CSF による好中球数の増加のみならず、肺病変の進展過程が密接に関与しているものと考えられた。

BLM 誘発肺線維化の進展過程には、好中球、線維芽細胞、肥満細胞、好酸球、および T リンパ球等の種々の炎症細胞が関与している。一方、G-CSF の受容体は、顆粒球系前駆細胞といった造血細胞や血管内皮細胞等に発現することが知られている。しかし、肺傷害の進展過程において肺組織中の炎症性細胞の推移に及ぼす G-CSF の影響に関する知見は乏しい。そこで第 3 章では、BLM 誘発肺傷害の進展過程における炎症性細胞の末梢血液中ならびに肺病変中の推移に及ぼす G-CSF の影響を検討した。本章での検討には、著者らが新たに確立した、肺の形態学的、免疫組織化学的および酵素組織化学的解析に有用な病理組織標本作製技法である PLP-AMeX 法を活用した。生理食塩液あるいは BLM (2000 $\mu\text{g}/\text{rat}$) を投与したラットに、生理食塩液あるいは BLM 投与直後から 14 日後まで G-CSF (100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$, *s.c.*) を投与した。その結果、BLM + G-CSF 群では、肺傷害スコアは 1 および 14 日後に、肺線維化スコアは 14 日後に、それぞれ増強した。急性炎症期では、生理食塩液および BLM 処置ラットの双方で、好中球を除き、末梢血液中および肺組織中の炎症性細胞数に G-CSF 投与による影響はみられなかった。G-CSF 処置群では、末梢血好中球数は 1 日後に顕著に増加し、3 日後に一過性の減少がみられ、7 および 14 日後に再び増加した。肺組織中の好中球数は、1 日後に顕著に増加し、14 日後まで高値で推移した。肺組織中の好中球アルカリフォスファターゼスコアは、1 日後に増加しはじめ、7 日後に最高値に達し、14 日後まで高値で推移した。肺組織中好中球数と末梢血好中球数あるいは肺傷害スコアとの相関は、14 日後のみにみられた。上述した結果から、G-CSF の肺傷害増強作用は、肺病変部へのアルカリフォスファターゼ (ALP) 陽性好中球 (活性化好中球) の浸潤が急性炎症期に増加し、線維化期にも持続していることとが関与しているものと考えられた。

上述の第1章から3章では、高用量(2000 µg/rat)のBLMの処置によって誘発した、DADから肺線維化に至る重度な肺傷害に対するG-CSFの影響を検討した。しかし、軽度から重度に至る種々の程度の肺傷害に対するG-CSFの影響を検討した報告は未だ見当たらない。そこで第4章では、程度の異なるBLM誘発肺傷害に対するG-CSFの影響を検討した。すなわち、用量の異なるBLM(0.2、20、2000 µg/rat)を投与したラットに、G-CSF(100 µg/kg/day、s.c.)を3あるいは14日間投与した。BLM 0.2 µg投与群では、肺胞への単核球系細胞浸潤がわずかにみられたが、肺線維化はみられなかった。BLM 20 および 2000 µg 投与群では、肺胞への好中球浸潤を伴うDADとそれに続く肺線維化病変の形成がみられた。BLM 0.2 µg + G-CSF 群では、肺胞毛細血管内におけるALP陽性好中球の顕著な集簇がみられたが、肺胞への好中球浸潤および肺傷害の増強はみられなかった。BLM 20 µg + G-CSF 群およびBLM 2000 µg + G-CSF 群では、肺胞へのALP陽性好中球浸潤の増加を伴い、肺傷害の増強がみられた。上述した結果から、G-CSF投与は、肺線維化に至らない軽度な肺傷害に対してはそれを増強しないものと考えられ、G-CSFの肺傷害増強作用は、肺胞への活性化好中球の顕著な集簇および肺線維化に至る重度な肺傷害の存在が関与していると考えられた。

本研究の結果、がん化学療法とG-CSFを併用した患者で報告されている肺傷害は、G-CSFが直接的に誘発したというよりは、むしろ、がん化学療法によって誘発された重度の肺傷害の存在あるいは患者の背景病変の存在が関与しており、G-CSFがそれを増強している可能性が示唆された。これらの知見は、臨床家に対して、稀ではあるが致死的なARDSの発症を防御し、さらにはG-CSF併用療法の安全性に関する新たな情報を提供するものとして極めて重要である。