

審査の結果の要旨

菊池 好晃

本研究は、高酸素吸入が人工呼吸器関連肺炎において重要な原因菌である緑膿菌感染肺炎にどのような影響をおよぼすかについて検討を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. Balb/c マウスに緑膿菌を経鼻的に感染させマウスの緑膿菌感染肺炎モデルを作製し、高酸素(酸素 90%)環境下で 60 時間飼育した。その結果、高酸素環境下で飼育したものは、室内気(酸素 21%)で飼育したものと比較して著明な生存率の低下が認められた。このとき、室内気と高酸素環境下で飼育したものの間に、肺内生菌数の差は認められなかった。しかし、肝臓の生菌については室内気で飼育した場合は検出されなかったが、高酸素環境下で飼育したものについては多数の生菌が認められた。また、両者に肺の重量、TNF α 濃度、M30 抗体活性、気管洗浄液中のアルブミン濃度に差は認められず、病態として敗血症が関与している可能性が示された。
2. A549 細胞(肺上皮系細胞)に緑膿菌培養上清液(菌除去)を濃度 1.25%、2.50%になるように添加し、酸素 90%条件下で 8 時間細胞培養を行った後、位相差顕微鏡にて形態変化を観察した。その結果、細胞接着が傷害され細胞の形態が球形になるような変化が観察された。
次に、緑膿菌を 21%酸素下で培養し作製した上清液を A549 細胞に添加した後に、A549 細胞を酸素 21%および 90%条件下で 48 時間培養し、細胞の viability を測定した。その結果、酸素 90%条件下で細胞培養したものは、酸素 21%条件下で細胞培養した場合と比較して viability の低下を有意に増強させることが示された。
3. 緑膿菌培養上清液を A549 細胞に添加する際に、同時に各種プロテアーゼ阻害剤を加え、酸素 90%条件下 48 時間細胞を培養した結果、メタロプロテアーゼの阻害剤である EDTA のみが濃度依存的に細胞の viability 低下を抑制する効果が認められた。今回の重要な病原因子の 1 つとして、

メタロプロテアーゼの関与が示された。

4. 緑膿菌の入ったブロス中に各マクロライド系抗菌薬(2.5-10 μ g/ml)を加え 24 時間菌培養し、作製した上清液を A549 細胞に添加し、90%条件下 48 時間細胞培養を施行した後、細胞の *viability* を測定した。その結果、14 員環、15 員環マクロライド系抗菌薬であるクラリスロマイシン、エリスロマイシン、アジスロマイシンやケトライド系抗菌薬であるテリスロマイシンにおいて、著明な *viability* 低下抑制効果が認められた。これら抗菌薬は、緑膿菌培養上清液+高酸素の上皮細胞傷害を防御することが示された。
5. アジスロマイシンを緑膿菌感染肺炎動物モデルに、感染 2 日前から 2 日後まで計 5 回経口投与し、酸素 90%環境下 60 時間飼育したときの生存率をアジスロマイシン非投与群と比較した。その結果、アジスロマイシン投与群は非投与群と比較し、有意に生存率を改善した。さらにアジスロマイシン投与によって、肝臓から検出されていた多数の生菌が検出されなくなった。この結果から、アジスロマイシンの予防投与は高酸素+緑膿菌感染肺炎の予後を改善し、敗血症への進展を防御する可能性が示された。

以上、本論文は高酸素吸入+急性緑膿菌感染肺炎動物モデルにおいて、高酸素が緑膿菌感染肺炎マウスの生存率を著しく低下させることを明らかにし、病態として、緑膿菌が産生するメタロプロテアーゼが気道上皮細胞を傷害し、この傷害を高酸素が増強する。その結果、バリアー効果を持つ上皮細胞が著明に破壊され、菌の浸透性が増し、敗血症へと進展する可能性を明らかにした。また、今回の生存率の低下を 14、15 員環のマクロライド系およびケトライド系抗菌薬の予防的投与によって改善することができることについても明らかにした。本研究は、1つの病態の仮説を提示し、マクロライド系抗菌薬の効果を示したものであり、今回の研究は人工呼吸器関連肺炎における予防あるいは予後の改善に対し、重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。