

学 位 論 文 要 旨

氏 名 佐藤 千穂



論 文 題 目

「Effects of Hydrogen Water on Paraquat-Induced Pulmonary Fibrosis
in Mice」

(マウスにおけるパラコートによる肺の線維化に対する水素水の
効果の検討)

指 導 教 授 承 認 印

浅利 靖



Effects of Hydrogen Water on Paraquat-Induced

Pulmonary Fibrosis in Mice

(マウスにおけるパラコートによる肺の線維化に対する水素水の効果の検討)

氏名 佐藤千恵

Paraquat (PQ) (1,1'-dimethyl-4,4' bipyridinium dichloride) は古くから使用されてきた除草剤で、急性中毒から生存してもその後の肺障害により死亡することが多い。PQ は細胞内で酸化還元サイクルを繰り返し、種々の活性酸素 (ROS) が生成され、肺胞細胞の非可逆的な線維化を生じると言われている。このメカニズムを抑制するために多くの薬物が研究され、動物実験や研究では効果が認められたがヒトでは未だに証明されたものはない。

ROS にはヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) や過酸化亜硝酸 (ONOO^-) のような強力な酸化力を有し DNA、蛋白、脂質に働き細胞障害をきたすものがあるが、スーパーオキシド ($\cdot\text{O}_2^-$) や過酸化水素 (H_2O_2) は低濃度ではシグナル伝達機能を有しており、非常に重要な存在である。

一方水素分子は還元力が弱く、 $\cdot\text{OH}$ や ONOO^- のみを還元し、 $\cdot\text{O}_2^-$ や H_2O_2 は除去しないことが分かっている。また分子量が小さいため細胞膜を通過して核やミトコンドリアにすぐに到達し細胞を酸化から守る働きがある。

また水素は安全性が証明されており、ダイバーへの減圧症予防に利用されている。

様々なモデルの肺障害は水素により防ぐことが出来ており、PQ 中毒の急性期に対して水素水 (Hydrogen-water; HW) の効果はラットの研究において証明されている。

PQ による慢性期の肺障害への効果を期待し、私たちはマウスに PQ (0.25 mg/ml を $20\mu\text{l}$) を気管内投与し、PQ+HW 群と PQ 群に分け 3 週間後に肺の呼吸力学的、組織学的変化を調べた。

HW は、水素を 0.4MPa の圧力下で過飽和して製造したものを使用した。

呼吸力学的評価として、マウスを気管切開後に高性能呼吸機能解析システム: flexi Vent® に装着した。Total lung capacity (TLC)、Snap shot、Forced Oscillation Technique (FOT) を測定した。TLC では肺の状態を安定化させるために $30\text{cmH}_2\text{O}$ まで肺を膨らませて 3 秒間保った。Snap shot では肺を気管、肺、胸壁を含めた呼吸器全

体として考えて resistance (R), compliance (C), elastance (E) を算出した。FOT で中枢気道として Newtonian Resistance (Rn) を、末梢気道として Tissue Damping (G), Tissue Elastance (H), eta (Hysteresivity) を測定した。両群は Unpaired Student's t-test を使用して比較した。

肺線維化をきたすと、Snap Shot での C の低下と R, E の上昇が認められる。本研究では E で PQ+HW 群が PQ 群より有意に低かった ($p=0.010$)。有意差は認められなかったが、C では PQ+HW 群が PQ 群より高い傾向を認めた。これは PQ+HW 群が肺全体として PQ 群よりも抵抗が少なく、膨らみやすくなっていると考えられる。

FOT では末梢気道の線維化が進行していると、H, G, eta とともに上昇する。本研究では、H, G とともに有意差は認めなかったが、eta は有意に PQ+HW 群の方が PQ 群より低かった ($p=0.048$)。しかし eta に関しては不明な点が多く、G/H の比や圧用量曲線の面積から求められることから、様々な呼吸力学変化に影響されると考えられる。慢性期の PQ 肺障害において線維化に加えて気腫化が観察されることがあり、本研究でも組織上軽度の気腫像が認められた。これらにより、複合した呼吸力学的変化の結果として、G と H に変化なく eta が増加したと考えられた。

有意差が認められなかったパラメーターについては、PQ 濃度が低かったことが一因と考えられた。PQ を 0.5mg/ml の濃度で投与したところ 5 日以内に 33% が死亡したため、今回の研究の PQ 投与濃度は 0.25 mg/ml と減量した。そのため肺障害が軽度になってしまったと考えられる。

肺の組織は H&E と Azan 染色を行った。PQ による慢性期の肺障害の報告では、H&E 染色で好中球の浸潤や線維芽細胞の増加と肺胞壁の肥厚を認め、Azan 染色では肺線維化の特徴であるコラーゲンの蓄積を認めるとされている。本研究で、H&E と Azan 染色において PQ+HW 群の方が PQ 群よりも好中球の浸潤や線維化の所見が軽度であった。組織学的所見は数値化したものではなく効果を断言できるものではないが、PQ による肺障害への HW の効果を示唆する所見であった。

本研究データから、水素水がパラコートによる肺障害を軽減する可能性を示唆できた。HW は安全であり副作用もないため、他の薬より摂取が容易にできる。今後さらに検討を加えて、ヒトに対する PQ 中毒の治療法として確立していけるのではないかと考える。