

虚血後再灌流障害の病態

上出利光*, 宮寄直樹*

緒言

血流によって運搬される酸素を利用してエネルギー代謝を営んでいる細胞, 組織は血流の途絶により酸素供給が絶たれると可逆的障害を経て最終的に細胞死や不可逆的組織障害におちいる。このため早期の血流再開がのぞまれるが, 再灌流による再酸素化により組織障害が進行する場合があります。これを虚血後再灌流障害 (post-ischemic reperfusion injury) と呼んで最近注目をあびている。本稿では心筋の虚血後再灌流障害モデルを紹介しながら, 組織障害の発生機序について概説する。

心筋における虚血後再灌流障害

急性心筋梗塞に対する PTCR (経皮的冠動脈血栓溶解術) や PTCA (経皮的冠動脈形成術) は, 現在冠血流を回復させる手段として一般的に行なわれている治療法である。しかし一定以上の虚血障害を有する状況では, 血流を回復させることによってかえって心筋の不可逆的障害を助長させてしまう。このような現象はけっしてまれではなく, 心臓外科の領域においては心停止, 再灌流という経過を必ずたどるため, 程度の差こそあれ虚血後再灌流障害をまぬがれることはできない。発生機序を考える上でも心筋の再灌流障害を分類しておく事が重要と思われる。

1. 再灌流時の細胞壊死の促進 (狭義の虚血後再灌流障害, lethal reperfusion injury): 虚血時に壊死に陥っていない細胞が再灌流によって壊死に至る現象

2. 微小血管障害 (vascular reperfusion injury, "no reflow phenomenon"): 血管の再灌流に成功し

ても, 血流が回復しない現象。

3. 機能的再灌流障害 (functional reperfusion injury, "stunned myocardium"): 心筋の壊死を伴わない収縮および拡張機能障害。すなわち一過性のポンプ機能障害であり, 可逆的である。

4. 再灌流不整脈 (reperfusion arrhythmias): 刺激伝導系細胞の機能障害と考えられる。我々のラットモデル (異所性心移植モデル及び Langendorff モデル) を用いた実験では, 1, 2 に関する機序と 3, 4 に関する機序では大きな違いが存在することが明らかとなった。順に発生機序について述べてみる。

狭義の虚血後再灌流障害の発生機序。

組織障害過程は, 次の様なステップに分けて考えることができる (図 1)

④第 1 段階 (化学的走化性因子産生): 虚血および再灌流に伴い, 種々の化学的走化性因子の産生がおこる。特に C5a, LTB₄, PAF, 炎症性サイトカイン等の産生が問題となる。産生されたこれらの因子により, 好中球が再灌流を受けた心筋組織に集積すると考えられる。つまりこの段階は種々の chemotactic factor による炎症細胞の虚血局所への動員過程である。生体内でこの機序が関与する 1 つの証拠として LTB₄ の受容体に対する拮抗剤¹⁾, PAF の拮抗剤²⁾, CR1 (recombinant complement receptor 1) の投与³⁾によって心筋壊死巣の減少が認められることが挙げられる。

⑤第 2 段階 (接着分子の発現及び活性化): 局所で産生された化学的走化性因子は chemotactic factor として作用するのみならず, 血管内皮上のセレクチン分子の発現増強や好中球上のインテグリン分子の活性化を引きおこす。

⑥第 3 段階 (好中球の血管内皮への一過性接着)

*北海道大学免疫科学研究所疫病態部門

：好中球と血管内皮の1次結合はセレクトリン⁴⁾とそのリガンドである糖鎖抗原の一過性で可逆性の結合によって媒介される。炎症細胞の血管外遊走の第1歩は、再灌流によって活性化され、接着分子を発現した血管内皮上を白血球が一過性の接着を行いながらゆっくりと移動するローリング(rolling)である。ローリングは白血球上のL-セレクトリン(LECAM-1)と内皮上のGlyCAM

-1の結合及び白血球上の糖鎖抗原(シアリルルイス X)と血管内皮上に発現したE-セレクトリン(ELAM-1)およびP-セレクトリン(GMP-140)の結合によって媒介される。L-セレクトリンは活性化によりsheddingしE-およびP-セレクトリンの発現も一過性であり、これを介する接着も一過性である。

④第4段階(インテグリン分子の活性化と安定

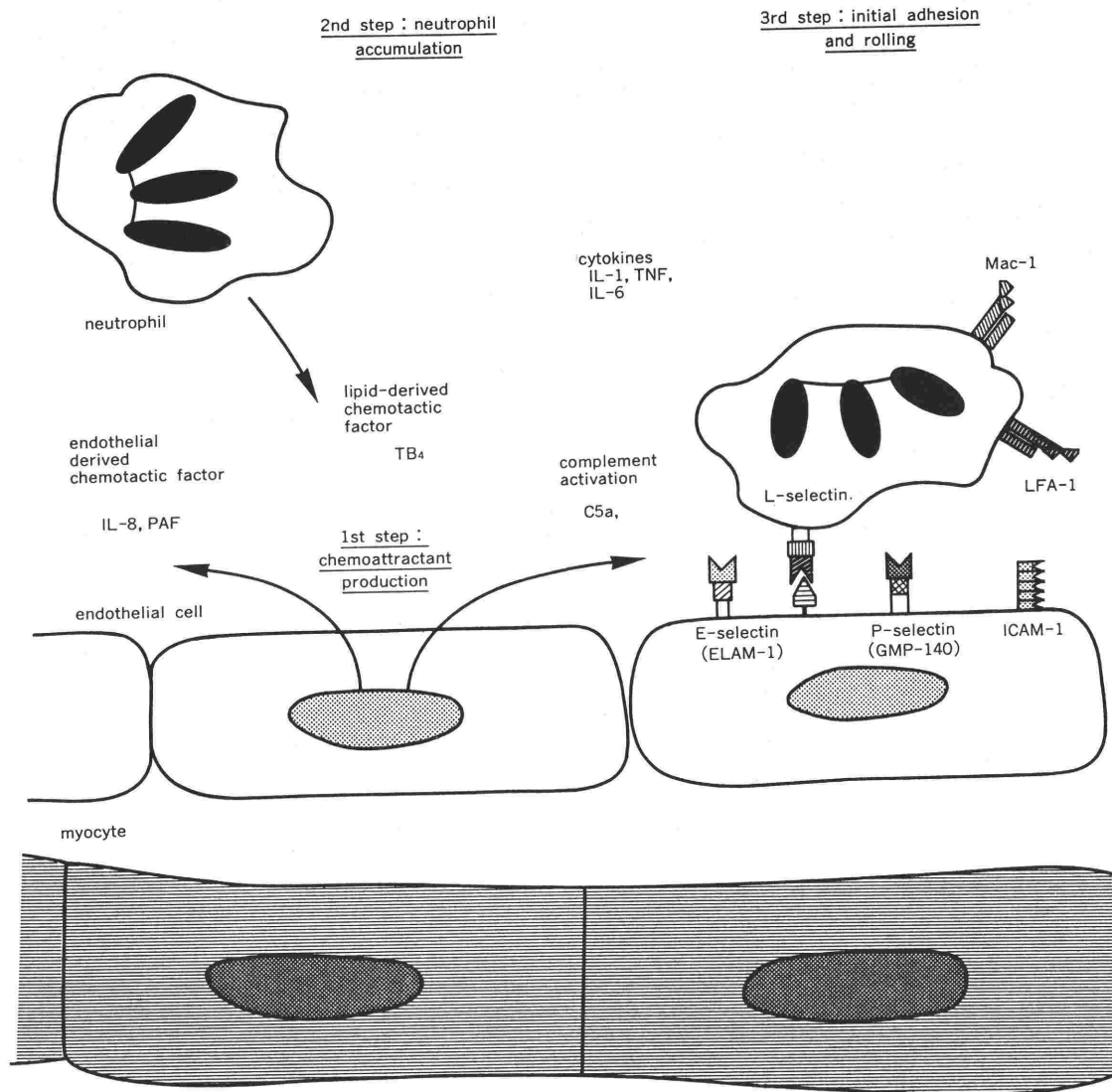


図 1 a

的結合): ローリングにより白血球の流速はゆるやかに局所で産生される種々の炎症性サイトカインにより近傍の白血球の活性化を引きおこし白血球上のインテグリン分子が機能的に活性型へと変換する(活性化されない白血球上のインテグリン分子は通常不活性型である)。例えば PAF は好中球に発現する PAF 受容体を介してローリング中の好中球を刺激して β_2 インテグリン (Mac-

1) を活性型へと変換する。この時期はまだ血管内皮に E-セレクトインが発現し好中球上のシアリルルイス X を介して一過性接着を媒介しているが、内皮細胞により産生される IL-8 によって、E-セレクトインとそのリガンドとの親和性を低下させる一方で、好中球の β_2 インテグリンの発現増強を引きおこし、血管内皮および血管周囲基質との接着を増強する。この IL-8 の一見相反する

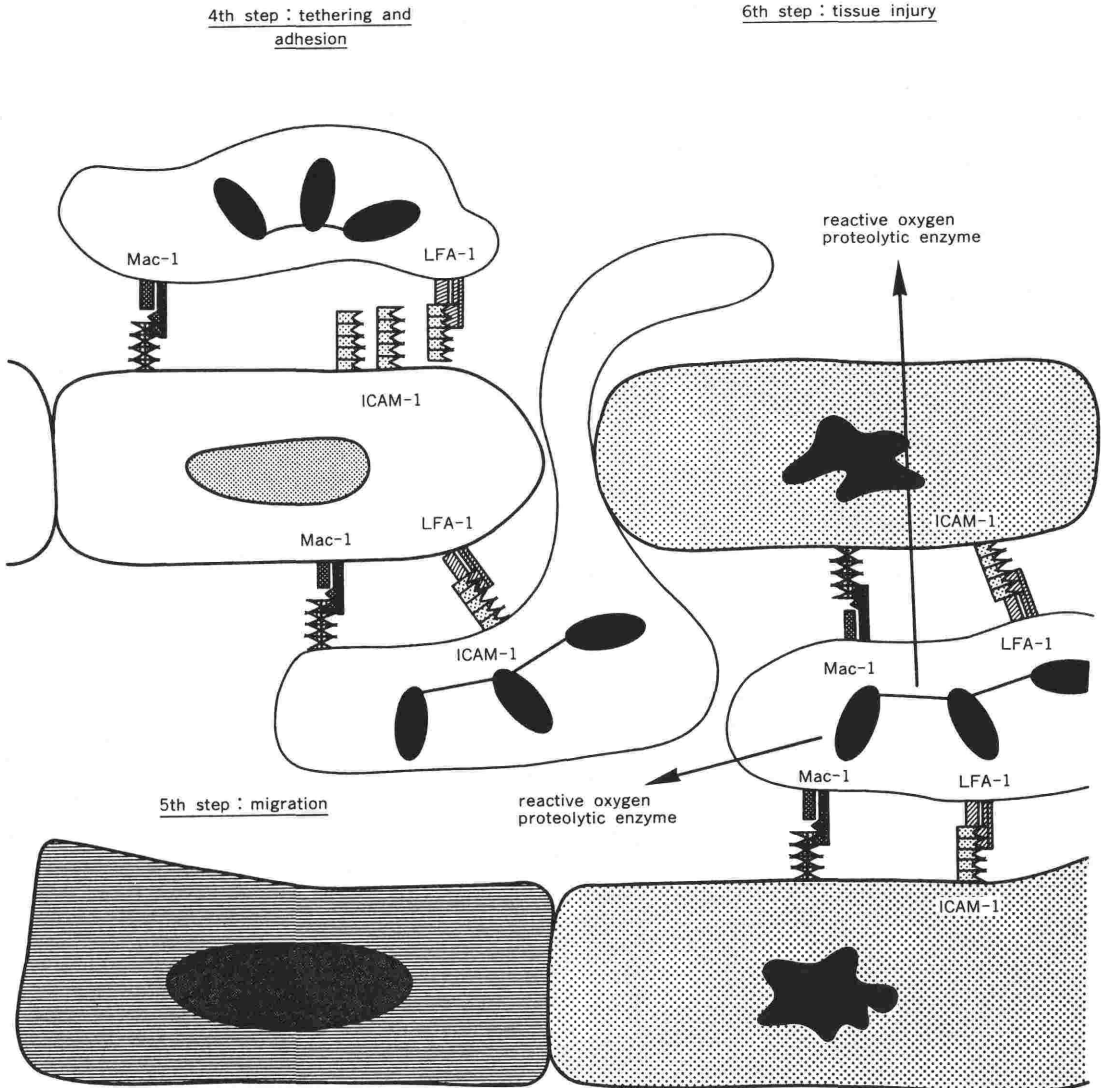


図 1 b

作用が好中球血管透過性と関係しているかもしれない。いずれにせよ、活性型へと変換した好中球のインテグリン分子と血管内皮に発現したICAM-1やVCAM-1を介して強固な安定した接着がおこる。

③第5段階(好中球の血管外への遊走)：血管内皮細胞に接着した好中球が血管外への遊走を行う。この遊走は抗ICAM-1抗体及び抗CD18抗体により阻止され、LAF-1, Mac-1とICAM-1の相互作用を介していると考えられる⁵⁾。

④第6段階(心筋細胞障害)：血管外に遊走した好中球による心筋細胞の障害である。好中球と心筋細胞との結合にはMac-1, ICAM-1を介した接着が関与している。心筋細胞の障害には活性酸素が関与するが、この活性酸素の発生にも好中球の接着状態が影響する。すなわち浮遊している好中球を刺激しても活性酸素の発生はほとんど認められないが、内皮細胞やラミニンなどの基質に接着している好中球を刺激すると大量の活性酸素が発生する⁶⁾。この好中球の接着に起因する活性酸素の発生は抗CD11b抗体および抗CD18抗体で抑制されるが、抗CD11a抗体では影響されず、Mac-1抗原の関与が示唆された。抗CD18抗体による活性酸素の発生抑制は好中球の心筋細胞への接着においても認められた。

我々は先に、Ono-Lindsey法にて、同系ラットの腹部に異所性心移植を行う系をもちいてreperfusion injuryの研究を行った⁷⁾。摘出心は室温にて保存し、移植後再灌流までの時間(温阻血時間)を60分とした。再灌流後10分から24時間まで経時的に移植心を採取し病理組織学的に検討した。再灌流後10分後より著しい間質の浮腫とともに多数の好中球が血管内皮細胞に接着している像が観察された。数時間後には、血管内皮基底膜が不明瞭となり、好中球も血管内皮上ではなく、間質へと浸潤し、6時間からは心筋細胞変性が認められるようになる。この様に好中球の重要性は組織学にも、又他の事実、例えば補体活性の抑制を介して好中球の遊走因子を減少させるためCobra venom toxinを投与したり、好中球の機能を抑制する目的でprostacyclin誘導体を投与、好中球を減少させる薬物の投与、フィルターをもちいて好中球を除去する等でpost-ischemic reperfusion injuryが軽減することからも明らかである。

機能的再灌流障害の発生機序

我々は、いわゆる“support rat”を人工心肺がわりに用いたラット摘出心血液灌流モデル(Langendorffモデル)での実験から、機能的再灌流障害及び再灌流不整脈においては、発生機序が異なることを見出した⁸⁾。このモデルでは心摘出から再灌流まで25分間の温阻血時間がある。図2で明らかな様に、非虚血群に比し、虚血後再灌流群においては、心機能の重要な指標であるLeft ventricular end systolic pressure (LVESP)が著明に低下しており、機能的にはreperfusion injuryが成立している。経時的に摘出心の組織像を検討したところ、再灌流後60分までの期間では明らかな好中球の接着及び浸潤はなく、心筋組織の変性も認められなかった。冠動脈内を灌流した血液を回収して好中球の接着分子の発現を検討したが対象群と比べ有意な差は認められなかった。少なくともこの系におけるreperfusion injuryには好中球は関与していない事は確かである。我々は灌流後経時的に心筋を得て、心筋組織内での各種サイトカイン遺伝子の発現を検討した。RT-PCR(reverse transcriptase polymerase chain reaction)法にてmRNAを検出する方法である。最終産物であるサイトカイン蛋白そのものを測定しているわけではなく問題は残るにしてもごく微量のサンプルをもちいて、サイトカインの産生を推定するには最適と思われる。結果を表1に示す。IL-6, IL-8, IFN- γ , TNF- α は摘出心組織ですでに発現していた。一方IL-2, IL-3, IL-4は虚血心、再灌流心においても、まったく発現は

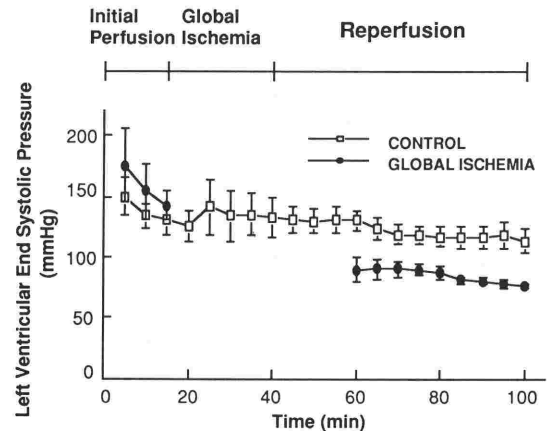


図2

認められなかった。IL-1 β , MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), IL-1 receptor antagonist は摘出心では発現は認められないものの、25分間の虚血後その発現が認められた。しかし再灌流による発現増強は明らかでなかった。IL-1 α は摘出心及び虚血心での発現は認められず、虚血心を再灌流することで発現した。もちろんこの結果は post-ischemic reperfusion injury の発生に直接 IL-1 α が関与することを示しているわけでも、他のサイトカインの関与を否定するものでもない。好中球と血管内皮の接着を増強するという機能以外の IL-1 の心機能に与える影響については、これまでいくつかの報告がなされている。すなわち心筋細胞の β -adrenergic reagent に対する反応性を抑制したり⁹⁾、心筋細胞の RNA 及び蛋白合成を阻害する¹⁰⁾ というものである。したがって本モデルでは post-ischemic reperfusion injury の機序として好中球の関与がなくても機能的再灌流障害が起こりうるという事を示している。これらの知見は今後機能的再灌流障害とサイトカインの関係を明らかにする事がその発生機序解明の一助になることを示唆している。

表1 心筋におけるサイトカイン mRNA の発現

| Cytokines | N(H) | R0(H) | Time after reperfusion | | |
|----------------|------|-------|------------------------|--------|--------|
| | | | R20(H) | R40(H) | R60(H) |
| β -actin | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ |
| IL-1 α | - | - | 2+ | 2+ | 3+ |
| IL-1 β | - | ± | ± | ± | + |
| IL-2 | - | - | - | - | - |
| IL-3 | - | - | - | - | - |
| IL-4 | - | - | - | - | - |
| IL-6 | + | 2+ | 2+ | 3+ | 3+ |
| IL-8 | + | 2+ | 2+ | 2+ | 2+ |
| IFN- γ | + | + | + | 2+ | 2+ |
| TNF- α | 2+ | 2+ | 2+ | 3+ | 3+ |
| MCP-1 | + | + | + | 2+ | 2+ |
| IL-1ra | - | ± | ± | + | + |

N: 摘出心

R0: 虚血心 (25分間)

R20: 虚血心に20分間再灌流

R40: 〃 40 〃

R60: 〃 60 〃

結 語

post-ischemic reperfusion をあくまでも2つの異なるモデルをもちいて、接着分子及びサイトカインの関与という観点からその発生機序に言及してみた。接着分子に関しても、あえて解説ははぶいたが、他の書物を参考にさせていただきたい。

文 献

- 1) Taylor AA, Gasic AC, Kitt TM, et al: A specific leukotriene B₄ antagonist protects against myocardial ischemia-reflow injury. *Clin Res* 37:528, 1989
- 2) Stahl GL, Terashita Z, Lefer AM: Role of platelet activating factor in propagation of cardiac damage during myocardial ischemia. *J Pharmacol Exp Ther* 244:898, 1988
- 3) Weisman HF, Barton T, Leppo MK, et al: Soluble human complement receptor type I: in vivo inhibitor of complement suppressing post-ischemic myocardial inflammation and necrosis. *Science* 249:146, 1990
- 4) Lawrence MB and Springer TA: Leukocytes roll on a selectin at physiologic flow rates: distinction from and prerequisite for adhesion through integrins. *Cell* 65:859, 1991
- 5) Smith CW, Rothlein R, Hughes BJ, et al: Recognition of an endothelial determinant for CD18-dependent human neutrophil adherence and transendothelial migration. *J Clin Invest* 82:1746, 1988
- 6) Nathan CF: Neutrophil activation on biologic surfaces. Massive secretion of hydrogen peroxide in response to products of macrophages and lymphocytes. *J Clin Invest* 80:1550, 1987
- 7) Yamamoto N, Tamiya Y, Uede T: Prevention of cardiac reperfusion injury following global ischemia by a monoclonal antibody, R2-1A6. *Immunopharmacology* 27:181, 1994
- 8) Kamikubo Y, Imamura M, Murashita T, et al: Neutrophil-independent myocardial dysfunction during an early stage of global ischemia and reperfusion of isolated hearts. *Immunopharmacology* (In press.)
- 9) Gulick T, Chung MK, Pieper SJ, et al: Interleukin 1 and tumor necrosis factor inhibit cardiac myocyte β -adrenergic responsiveness. *Proc Natl Acad Sci* 86:6753, 1989
- 10) Hosenpud JD, Campbell SM, Mendelson DJ: Interleukin-1-induced myocardial depression in an isolated beating heart preparation. *J Heart Transplant* 8:460, 1989