

学位論文題名

Studies on the Genesis of Pulmonary Foam Cells in the Rats

（ラットにおける肺泡沫細胞の発生機序に関する研究）

学位論文内容の要旨

毒性試験は、薬物あるいは農薬等の新しく開発された化学物質の安全性を評価するために実施されてきたと同時に、それら化学物質のヒト及び動物に及ぼす毒性を確認し、理解し、制御し、規定することに多大に貢献してきた。毒性試験において、ラットをはじめとする実験動物は、試験物質の効力及び安全性を評価するために必要な生物学的データを提供するのに非常に重要な役割を演じてきた。これら実験動物の基礎的な生物学的データの集積は、試験物質の正確な安全性評価を得るために欠くことができない。特に、毒性病理学の分野において、実験動物の自然発生病変の病理発生を理解することは重要である。

ラットの肺には泡沫細胞の集積がしばしば観察されるため、毒性試験においては薬物誘発性の変化との鑑別が試験物質の安全性評価において重要である。ラットにおけるこれら肺泡沫細胞（PFCs）は、炎症、ある種の薬物投与、あるいは高脂肪含有飼料の給与によって誘発される一方で、組織学的に特別な病変が証明されないラットの肺にも観察されてきた。これら自然発生PFCsがいかなる感染因子とも関係していないこと及び老齢ラットに比較的頻繁に出現することが述べられてきた。しかしながら、自然発生PFCsの発生機序にはいまだ不明な点が多い。本研究は、現在、毒性試験において最も汎用されているFischer344（F344）ラットの生物学的特徴をさらに明らかにするため、F344ラットにおける自然発生PFCsの病理学的特徴及びその発生機序を検討した。

第1章においては、毒性試験の実施に適合したバリアー・システム環境下の動物飼育施設内で飼育されたF344ラットに自然発生したPFCsの発生率、発生状況、及び病変の特徴を明らかにした。組織学的に、PFCsは微小空胞を充満する豊富な弱好酸性の細胞質と比較的小型の核をもっていた。組織化学的に、PFCsの細胞質内の微小空胞には、コレステロール及び種々の脂質が証明され、酸性ホスファターゼ陽性を示した。PFCsの集積は、組織学的には雄ラット494匹中53

匹（10.7%）に、雌ラット495匹中44匹（8.9%）に認められた。PFCsはその出現以外に病変が証明されない肺に比べ、吸引性肺炎、肺原発腫瘍及びリンパ肉腫の転移を示す肺において有意に高い頻度で発生した。PFCsは組織学的に52週齢から観察され、その後加齢に伴って発生率を増加する傾向を示し、その程度も重度となった。PFCsの発生率は120から140週齢の間で最高値（28.8%）に達した。血漿中の総コレステロール値は、雌雄ラットとも加齢に伴って増加した。

以上のように、F344ラットにおいて自然発生したPFCsの発生率と程度は、加齢に伴って増強することが示唆された。また、PFCsは他に病変を持たない肺に比べて、炎症性あるいは腫瘍性病変を伴う肺において有意に高い発生率で出現した。この結果は、それらの病変に起因する肺組織の損傷が、内因性の脂質の放出をきたし、PFCsが集積することを示すものと考えられた。PFCsの細胞質内にはコレステロールをはじめ種々の脂質の存在が証明され、検索したラットの血漿中総コレステロール値は加齢に伴って増加した。このことから、加齢に伴う血漿中コレステロール濃度の上昇が、PFCsの発生率及びその集積の程度の増強に関係していると考えられた。

第2章においては、PFCsの発生に及ぼすコレステロール投与及び加齢の影響を検討した。F344雌雄ラットに、1000mg/kg/dayのコレステロールを6週齢から10週齢まであるいは33週齢から37週齢までの30日間経口投与した。対照群には、同様の方法で媒体のみを投与した。投与群及び対照群の雌雄ラットにおいて、37週齢時における血漿中の β リポ蛋白、総コレステロール、リン酸質、トリグリセリド及びカルシウムの濃度は10週齢時に比べ高値を示し、これは加齢に関係した生理的変動と考えられた。投与群における β リポ蛋白及びトリグリセリド濃度は、10及び37週齢時において対照群よりも有意に高いか、高い傾向を示した。投与群の雄ラットは37週齢時に最高の β リポ蛋白濃度を示し、これは同群におけるPFCsの最高発生率と相関した。PFCsは、中性脂肪及びコレステロールを含む多数の微細空胞を細胞質に充満しており、免疫組織化学的に単球/マクロファージ由来であることが証明された。中等度に腫大し、泡沫状の細胞質をもつマクロファージが肺の血管周囲結合組織に観察された。

以上の結果から、PFCsの自然発生には加齢に伴う血漿中 β リポ蛋白濃度の増加が関与し、コレステロール投与により β リポ蛋白濃度の増強効果が、PFCsの出現率をより高めたと考えられた。肺泡マクロファージは、血液単球に由来することが知られている。本研究において肺の血管周囲に出現した泡沫化マクロファージはPFCs発生の初期段階を示すものと考えられ、ラットにおいて過剰な脂質が血液中で単球に摂取され、PFCsとして肺から排泄されるという考えを裏付ける所見とみなされた。また、検索した動脈に明らかな動脈硬化性病変が観察されなかったことから、ラットにおけるPFCsの発生は高脂血症、特に高 β リポ蛋白血症において最も早期に

出現する組織学的病変の一つと考えられた。

第3章では、高脂肪含有飼料の給与によってF344ラットに実験的に発症させた高 β リポ蛋白血症下において、血中脂質、特に β リポ蛋白濃度の変動に対する血液単球及び肺泡マクロファージの泡沫化とPFCs発生の関連性を検索した。高脂肪含有飼料を4、8及び12週間給与したF344ラットでは、血漿中 β リポ蛋白濃度及び血清の電気泳動法による β リポ蛋白分画が著明に増加し、給与12週後の動物から分離した低比重リポ蛋白及び超低比重リポ蛋白分画における脂質含量も有意に高い値を示し、高 β リポ蛋白血症が誘発されていることが証明された。これら高 β リポ蛋白血症ラットでは、血液単球増多症が観察され、泡沫化単球が血液中に高率に出現し、給与期間の延長に伴ってそれらの出現率が増加した。肺洗浄細胞中の肺泡マクロファージにおいても、PFCsが高率に観察され、給与期間の延長に伴ってその出現率及び程度が増強し、肺泡沫化単球の出現率の変動とよく相関した。組織学的に、PFCsは全ての処理群のラットに観察され、その集積の程度は給与期間の延長に伴って増強した。泡沫化単球が小血管内に頻繁に観察され血管周囲結合組織内には泡沫化マクロファージが高率に観察された。高脂肪含有飼料を4週間給与した後ラテックス粒子を静脈内に注入したラットでは、ラテックスを貪食した血液単球の出現率は対照群と大差なかったが、ラテックス含有泡沫化単球の出現率は注入後の期間の延長に伴って有意に増加し、同時にラテックス含有PFCsの出現率の増加とよく相関した。

以上のことから、高 β リポ蛋白血症ラットにおいて、血液単球が血中の過剰な脂質（ β リポ蛋白）を摂取して泡沫化単球となり、高率に肺へ移行してPFCsとして出現することが示唆された。

以上、F344ラットにおける自然発生PFCsの生物学的特徴及び病理発生については今後さらに研究を重ね明らかにされなければならないが、発生機序の基礎的知見は、ヒトにおける粥状動脈硬化症の病理発生との類似点が多く、今後ヒトの疾患モデルとしての有用性が期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 板 倉 智 敏

副 査 教 授 波 岡 茂 郎

副 査 教 授 杉 村 誠

副 査 教 授 佐 藤 文 昭

ラットの肺には泡沫細胞（PFC）がしばしば観察されるため、日常の実験、とりわけ毒性試験の安全性評価に際し、その出現の意義づけが重要である。そこで申請者は、現在、毒性試験に最も汎用されている Fischer344（F 344）ラットを用い、PFC の発生状況、形態学的特徴、発生機序について研究し、本論文をまとめた。本論文は英文88頁からなり、3章で構成されている。

第1章では、バリアー・システム環境下で飼育した F344ラットに自然発生した PFC の組織学的な発生状況と形態学的特徴を明らかにした。PFC は多数の微小空胞を有する弱好酸性の細胞質に富み、比較的小型の核を持っていた。組織化学的に PFC の細胞質の微小空胞は、コレステロール及び種々の脂質を有し、酸性ホスファターゼ陽性を示した。PFC の集積は、雄ラット494匹中53匹（10.7％）に、雌ラット495匹中44匹（8.9％）に認められた。PFC は合併病変を持たない肺に比べ、吸引力肺炎、肺原発腫瘍及びリンパ肉腫の転移を示す肺において有意に高い頻度で発生した。PFC の集積は52週齢から観察され、その後加齢に伴って発生率の増加と程度の重度化傾向を示した。血漿中の総コレステロール値は、雌雄ラットと加齢に伴って増加した。

以上の成績から、F 344ラットにおける PFC の集積は、加齢に伴って増大するほか、炎症性あるいは腫瘍性肺病変に起因する肺組織の損傷が内因性の脂質の放出をきたし、PFC を集積させるものと考えられた。また、加齢に伴う血漿中コレステロール濃度の上昇が、PFC の発生率及びその集積の程度の増大に関係していると考えられた。

第2章では、PFC の発生に及ぼすコレステロール投与及び加齢の影響を検討した。F 344雌雄ラットに、1000mg/kg/day のコレステロールを30日間（6週齢から10週齢までと33週齢から37週齢まで）経口投与した。対照群には、同様の方法で媒体のみを投与した。投与群及び対照群において、37週齢時における血漿中の β リポ蛋白、脂質及びカルシウムの濃度が10週齢時に比べ高値を示したことは、加齢に関係した生理的変動と考えられた。投与群における β リポ蛋白及びトリグリセリド濃度は、10及び37週齢時において対照群よりも有意に高いか、高い傾向を示した。投与群の雄ラットは37週齢時に最高の β リポ蛋白濃度を示し、これは同群における PFC の最高

発生率と相関した。PFC は免疫組織化学的に単球／マクロファージ由来であることが証明された。中等度に腫大し、泡沫状の細胞質を持つマクロファージが肺の血管周囲結合組織に観察された。

以上の結果から、PFC の自然発生には加齢に伴う血漿中 β リポ蛋白濃度の増加が関与し、 β リポ蛋白濃度の増大はPFC の出現率をより高めると考えられた。肺の血管周囲に出現した泡沫化マクロファージはPFC 発生の初期段階を示すものと考えられ、ラットにおいて過剰な脂質が血液中で単球に摂取され、PFC として肺から排泄されるという考えを裏付ける所見とみなされる。

第3章では、F344ラットに高脂肪含有飼料を給与し発症させた高 β リポ蛋白血症下において、血中脂質、特に β リポ蛋白濃度の変動に対する単球の泡沫化とPFC 発生の関連性を検索した。高脂肪含有飼料を4、8及び12週間給与したラットでは、血清のリポ蛋白電気泳動法による β リポ蛋白分画が著明に増加した。また、給与12週後の動物から分離した低比重 β リポ蛋白及び超低比重 β リポ蛋白分画における脂質含有量も有意に高い値を示し、高 β リポ蛋白血症が誘発された。これら高 β リポ蛋白血症ラットでは、単球増多症が観察され、泡沫化単球が血液中に高率に出現し、給与期間の延長に伴ってそれらの出現率は増加した。組織学的に、PFC は全ての処置群のラットに観察され、その集積の程度は給与期間の延長に伴って増大した。また、泡沫化単球が肺小血管内に頻繁に観察され、血管周囲結合組織内には泡沫化マクロファージが高率に観察された。高脂肪含有飼料を4週間給与した後ラテックス粒子を静脈内に注入したラットでは、ラテックス含有泡沫化単球の出現率が注入後の期間の延長に伴って有意に増加し、同時にラテックス含有PFC の出現率の増加とよく相関した。

以上の成績から、高 β リポ蛋白血症ラットにおいて、単球が血中の過剰な脂質（ β リポ蛋白）を摂取して泡沫化単球となり、高率に肺へ移行してPFC として出現することが示唆された。

以上のように、申請者はF344ラットにおける自然発生PFC の加齢に伴う発生状況と病態を明らかにし、実験的研究によりPFC の病理発生を示唆した。これらの知見は、ラットの肺の病理変化の評価に大きく貢献するとともに、単球の泡沫化が重要な初期変化と考えられているヒト粥状動脈硬化症の発生機序の解明のモデル動物ともなり得るものである。よって審査員一同は、渋谷一元氏が博士（獣医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。