

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860843

研究課題名(和文) 新生児慢性肺疾患における炎症の役割とその経時的変化

研究課題名(英文) The role and kinetics of inflammation in neonatal chronic lung disease

研究代表者

若林 健二 (Wakabayashi, Kenji)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：20723795

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は海外での研究活動を6年余り行った研究代表者が帰国後に手掛けた初めてのプロジェクトであり、1) マウスを用いた新生児慢性肺疾患 (CLD)モデル確立、2) CLD発生初期における炎症細胞の動態解析に関してほぼ予定通りの目標を達成した。本研究費は所属機関における実験室環境と体制確立、10報の論文出版への貢献に加えて、多くの国内・国際多施設共同研究体制を確立し、2つの外部資金獲得を得るための基盤形成に成功し、今後の更なる研究発展へのシーズも産み出して3年間の研究機関を完了した。

研究成果の概要(英文)：This grant was the first project for the principal investigator (PI) since he returned from the 6-year work in the UK. In the 3-year funding period, the PI successfully established his unique translational research lab at his institution, and also developed a number of research alliances both nationally and internationally. In terms of the achievement from this grant, his group produced 10 publications, 9 conference presentations, and 1 book chapters on top of the 3 new funding awarded during the 3-year period. More specifically, the group developed mouse neonatal chronic lung disease (CLD) model using hyperoxic chamber and analyzed the number and activation status of inflammatory cells in the early phase of the CLD model.

研究分野：集中治療医学

キーワード：新生児医学 集中治療医学 呼吸器病学 免疫学 生理学 新生児慢性肺疾患 炎症

1. 研究開始当初の背景

出生後の新生児集中治療室 (NICU) 内における新生児慢性肺疾患 (CLD) 進行防止の為に有効とされる主な治療は、水分量制限や人工呼吸器設定調整などの支持療法のみである。病因に関しては炎症の影響が一つの大きな話題であるが、長期の全身ステロイド投与は神経予後を悪化させる事から、タイムリーで効果的な抗炎症剤治療の為に、より詳細な炎症進行に関する病態生理の理解が求められている。一方で、NICU 退院後の CLD を有する患児にとっての大きな問題は、RS ウイルスを始めとした呼吸器感染に伴う再入院や、成人期まで続くとも言われる気道過敏性である。これは患児の QOL や医療経済的な側面から考えて大きな問題であるが、このような問題の背景に免疫学的変化を始めとした、CLD 特有の病態生理が関与しているかについての詳細な検討は殆ど為されていない。

2. 研究の目的

研究新生児における主たる研究の目的は以下の通りであった。

- (1) マウス CLD モデルの実験プロトコールと解析手法の確立
- (2) CLD 急性期における炎症細胞の動態・活性化状態の解析
- (3) CLD を有する個体における急性期以降の感染症・気道過敏症モデルの確立と解析

3. 研究の方法

研究計画においては、

- (1) マウス新生児慢性肺疾患モデルの実験プロトコールと解析手法の確立
- (2) 新生児慢性肺疾患急性期における炎症細胞の動態・活性化状態の解析
- (3) 慢性肺疾患を有する個体における急性期以降の感染症・気道過敏症モデルの確立と解析

以上の3つの研究が計画された。詳細かつ経時的変化を視野に入れた生理学的・免疫学的解析により、この領域において新たな視点を提供し、新生児慢性肺疾患の病態の解明への基盤になる事をその目標とした。

4. 研究成果

(1) マウスを用いた新生児慢性肺疾患 (CLD) モデルの確立

当該研究領域において多用される高酸素モデルの確立を行った。高酸素チャンバーを共用施設へ設置後に、既存のガイドラインに沿った飼養保管環境、酸素ボンベ使用量についての調査・調整を行った上で予備実験を行った。成人マウスは 85%酸素において急性肺傷害を惹起することを確認した上で、新生児マウスを同条件下で3週間飼育を行った。結果的に高酸素曝露群のみ粗大な肺胞構造が認められ、実験的 CLD が形成されることが確認された (図 1)。

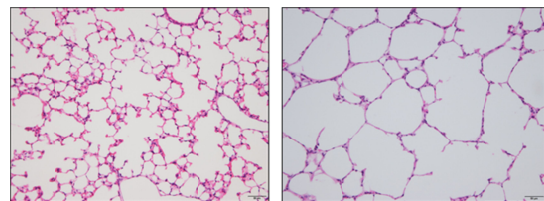


図 1 : 室内気曝露群 (左) と高酸素曝露群 (右) の肺組織拡大標本。
高酸素曝露 : 85%酸素、出生当日から3週間曝露

(2) CLD 発生初期における炎症の動態解析

当初の計画では肺内における白血球数を主な計測した、FACS を用いた経時的解析を行う予定であったが、成熟マウスにおける高酸素曝露における肺傷害の機序が好中球非依存性であったことが伺われた (肺傷害が起きても肺胞内の好中球を検出し得なかった)。この結果を踏まえ、白血球だけではなく肉皮細胞や上皮細胞といった実質細胞の解析や、近年話題となってきた細胞外小胞も含めた解析 () を共に行うべきであると判断し、新たな研究費を取得したうえで研究協力者との技術提携を強める方針へと切り替えた。結

果的に本プロジェクトは次なる研究プロジェクト（若林：若手研究B 平成28年～30年度予定）に発展的に引き継がれる事となった。

(3) CLD を有する個体における急性期以降の感染症・気道過敏症モデルの確立と解析
当初の計画ではCLDモデルマウスの作成後に、長期的な気道過敏症に対する機序解明を目指す予定であったが、マウス用人工呼吸器の故障や本学実験動物センターの改築などの要因が絡んだ結果、長期間の飼育（2ヶ月近く）を要する本実験系におけるデータ収集には至らなかった。継続となったプロジェクト（若林：若手研究B 平成28～30年度）の中で、実験を施行することも今後検討している。

(4) 実験室環境と共同研究体制の確立
帰国して初めてのプロジェクトであった本研究費の一部は、研究代表者が研究室と研究体制を立ち上げることに使用された。具体的には研究室内の生理学的解析機器の導入、大学院生2名の受け入れに伴うチームの拡大などである。加えて、共同研究体制の強化が行われ、国立成育医療研究センター病院と都立小児総合医療センターという国内有数の小児病院を交えた多施設共同研究体制を構築し、「後期研修の中で研究の風に触れる」事を目的とした「リサーチエレクティブ」制度を国内で初めて樹立、都立小児総合医療センターより宮下徳久を1ヶ月連携研究員として受け入れた。加えて、炎症解析については国立成育医療研究センター集中治療科と共同で外部研究費を取得（成育医療研究開発費（研究分担社：若林）：平成28年～平成30年度）、国際共同研究としての技術提携に関してはGreat Britain Sasakawa FoundationよりButterfield Award（二国間共同研究推進のための資金）を取得し、研究者の交流を3回行い（高田の来日2回、若林の渡英1回）、濃密な議論と技術習得が行われた。

<引用文献>

Robbins PD, et al. Nat Rev Immunol. 2014;14(3):195-208.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計10件)

若林健二. 肺傷害は多臓器不全を惹起する？ 救急・集中治療 多臓器不全～その常識は正しいか？～ 総合医学社、2017. 印刷中

Michael Wilson, Kenji Wakabayashi 他. Inhibition Of TNF Receptor p55 By A Domain Antibody Attenuates The Initial Phase Of Acid-Induced Lung Injury In Mice. *Frontiers in Immunology*. 査読有、2017 (8)
DOI:10.3389/fimmu.2017.00128

Tatham KC, O'Dea KP, Romano R, Donaldson HE, Wakabayashi K 他. Intravascular donor monocytes play a central role in lung transplant ischaemia-reperfusion injury. *Thorax*. 査読有、2017;印刷中
DOI:

10.1136/thoraxjnl-2016-208977
足立裕史、塩田修玄、原茂明弘、増田孝広、若林健二他、内頸静脈弁とカテーテル留置、臨床麻酔、査読有、2016.01; 40 (1): 81-85.

URL:<https://mol.medicalonline.jp/archive/search?jo=aq7rinse&vo=40&nu=1>

足立裕史、若林健二、中沢弘一. 注意すべき状態2:セロトニン症候群 in 精神疾患と麻酔、LiSA. 査読無、2015.12; 22 (12): 1244-1247.

URL:<http://medicalfinder.jp/doi/abs/10.11477/mf.3101200456>

塩田修玄、原茂明弘、増田孝広、若林健二 他、非侵襲的陽圧呼吸の鎮静にモルヒネ塩酸塩へのスイッチング

が有効であった 1 例、臨床麻酔. 査読有、2015.10; 39 (10): 1449-1451. URL: <http://www.fujisan.co.jp/product/2805/b/1219442/>

Takafumi Ohmori, Nobuhiro Shiota, Akihiro Haramo, Takahiro Masuda, Fumi Maruyama, Kenji Wakabayashi 他. Post-operative cardiac arrest induced by co-administration of amiodarone and dexmedetomidine: a case report、J Intensive Care. 査読有、2015.10; 3 (10):43. DOI: 10.1186/s40560-015-0109-0

Fletcher ME, Boshier PR, Wakabayashi K 他. Influence of glutathione-S-transferase (GST) inhibition on lung epithelial cell injury: role of oxidative stress and metabolism、American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology. 査読有、2015; 308 (12): 1274-1285. DOI: 10.1152/ajplung.00220.2014.

Kate Tatham, Kieran O'Dea, Kenji Wakabayashi 他. The role of ex vivo lung perfusion in lung transplantation、Journal of the Intensive Care Society. 査読有 2015.02; 16 (1): 58-63. DOI: 10.1177/1751143714554062

杉村竜一、若林健二、村川泰裕. カクシャ・ネット医学分科会～大学院留学のススメ～ 細胞工学、査読無、2014.05; 33 (5).

[学会発表](計9件)

若林健二. Ventilator-induced lung injuryにおける monocytes の役割. 第2回新生児研究懇話会 2016.12 東京

若林健二. Biotrauma の観点から見た肺傷害と多臓器不全のメカニズム. 第38回日本呼吸療法医学会 2016.07 名古屋

Kenji Wakabayashi, Tomoya Tateishi, Yushi Adachi, Naohiko Inase, Kochi Nakazawa. Ventilator settings and outcome of noninvasive and invasive ventilation for patients with acute respiratory failure on chronic interstitial lung disease. American Thoracic Society International Conference 2016 2016.05 San Francisco, CA, USA

若林健二、足立裕史、立石知也、稲瀬直彦、中沢弘一. 間質性肺炎急性増悪例の人工呼吸器設定についての検討. 第43回日本集中治療医学会学術集会 2016.02

Kajikawa Y, Hosokawa S, Wakabayashi K, Maejima Y, Isobe M, Doi S. Dexmedetomidine Ameliorates Monocrotaline Induced Pulmonary Arterial Hypertension in Rats. American Heart Association Scientific Sessions 2015 2015.11.10 Orland, USA

若林健二、丸山史、田坂有理、大森敬文、篠田健、増田孝広、中沢弘一、三高千恵子、榎田浩史. RS ウイルス肺炎による呼吸不全に対して ECMO を導入したが、広範囲脳梗塞のために死亡の転帰を辿った小児の一症例. 第37回呼吸療法医学会学術集会 2015.07

梶川優介、若林健二、細川奨、前嶋康浩、磯部光章、土井庄三郎. Dexmedetomidine ameliorates monocrotaline induced pulmonary arterial hypertension in rats. 第

79 回日本循環器学会学術集会

2015.04.24 大阪

Wakabayashi K 他. Volutrauma と atelectrauma では炎症の度合いが異なる：肺血管内単球の人工呼吸器関連肺損傷における役割. 第 42 回日本集中治療医学会学術集会 2015.02
梶川優介, 細川奨, 若林健二, 前嶋康浩, 磯部光章, 土井庄三郎. 肺高血圧症の進展におけるデクスメトミジンの役割. 第 21 回日本小児肺循環研究会 2015.01.31 東京

〔図書〕(計 1 件)

日米医学医療交流財団, 若林健二
他. はる書房, 放射線科診療にみる
医学留学へのパスポート. 2015, 327

〔その他〕

ホームページ等

http://reins.tmd.ac.jp/html/100009240_ja.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

若林 健二 (WAKABAYASHI, Kenji)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・助教
研究者番号：20723795

(3) 連携研究者

滝 敦子 (TAKI, Atsuko)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・講師
研究者番号：20614481

土井 庄三郎 (DOI, Shouzaburoh)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・教授
研究者番号：80262195

内田篤治郎 (UCHIDA, Tokujiro)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・教授
研究者番号：40262183

(4) 研究協力者

高田 正雄 (TAKATA, Masao)