

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 8 月 17 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02907

研究課題名(和文)高齢者救急医療における貪食細胞機能強化に着目した薬剤耐性菌敗血症への新規治療戦略

研究課題名(英文) Novel therapeutic strategy against drug-resistant bacterial sepsis in compromised hosts focusing on enhancing bactericidal activity of macrophages

研究代表者

木下 学 (Kinoshita, Manabu)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・免疫・微生物学・准教授)

研究者番号：70531391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：LPSプレコンディショニングは、大腸菌だけでなく緑膿菌やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の致死感染でも劇的な救命効果があった。これはLPSプレコンディショニングで骨髄由来の単球系マクロファージが肝臓に集積し、強力な貪食殺菌能が発揮されたためであった。TLR4の特異的アゴニストであるMPLAのプレコンディショニングでも強力な貪食殺菌能が誘導できた。一方、本施策の開始判断となるcompromised hostでの貪食細胞の殺菌活性減弱を評価する抗菌活性評価チップの開発では、マウスの心理的ストレスモデルである水浸拘束での好中球の貪食殺菌活性の減弱を本チップで迅速に測定することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果から、LPSもしくはMPLAを用いたプレコンディショニング誘導による薬剤耐性菌を含めた広範囲な感染症への抵抗性獲得の治療施策が示唆された。病原体の貪食除去の亢進と炎症反応の抑制は、サイトカインストームを引き起こす新型コロナ肺炎を含むあらゆる重症感染病態の制御に有用である。また、抗菌活性評価チップを用いたcompromised hostの早期診断は、迅速な感染症治療の開始に大いに資するものと期待される。

研究成果の概要(英文)：LPS preconditioning drastically increased murine survivals from the lethal infection with not only Escherichia coli but also Pseudomonas aeruginosa or methicillin-resistant Staphylococcus aureus. LPS preconditioning accumulated bone marrow-derived macrophages in the liver and strongly augmented bactericidal activity against these bacteria. Preconditioning with TLR4-specific agonist, monophosphoryl lipid A, also induced such attractive effects in mice. Regarding the development of evaluation chip of bactericidal activity by phagocytes, we enabled to quickly measure reduced bactericidal activity by neutrophils obtained from the mice receiving water-immersion restraint stress.

研究分野：侵襲免疫学

キーワード：薬剤耐性菌血症 compromised host LPSプレコンディショニング MPLAプレコンディショニング 貪食細胞機能強化 抗菌活性測定チップ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会に伴い、救急医療の分野でも高齢者の割合が急増しているが、高齢者は侵襲に脆弱で感染を併発しやすく、かつ、これが重篤化し、ショックに陥りやすい。一方、最近の薬剤耐性菌の増加も社会的に問題となっている。このような多剤耐性菌のほとんどが高齢者などの compromised hosts に日和見感染として発症するため、感染の回避や軽減化を含めた、抗菌薬に頼らない、しかも効力の強い重症感染症対策の確立が喫緊の課題となっている。

では、どうして高齢者は日和見感染に陥りやすく重篤化しやすいのか？本来、生体は炎症により菌を排除するが、高齢者のような compromised hosts では殺菌能が減弱する一方で、炎症反応が過剰となる。このような免疫応答の特徴が、感染を増悪し予後を不良にする一因と考えられる(1)。本来は炎症により誘導される貪食殺菌能の活性化を、炎症応答を抑制しつつ誘導できれば、高齢者に対する極めて有用な重症感染症対策になると考えた(図 1)。しかし、炎症と貪食殺菌能の増強は共に貪食細胞の活性化により起こるもので、炎症を伴わずに貪食殺菌能の亢進を生体で誘導できるのであろうか。このような点が本研究において解決すべき課題として研究開始当初の背景にあった。



図1 高齢者のLPSプレコンディショニング

### 2. 研究の目的

我々は、生体が反応しない極微量の大腸菌の LPS (5 $\mu$ g/kg) を 3 日間連続でマウスに投与すると、大腸菌による敗血症で炎症性サイトカインを抑制しつつ、マクロファージの殺菌能を著しく増強できることを見出し、大腸菌の致死性敗血症を 100% 救命することができた(2)。微量の LPS の前投与で大量の LPS 投与に不応性となる現象は、LPS トランスとして知られているが、我々の検討では貪食細胞内の ATP レベルが劇的に上昇したことから、むしろ LPS のプレコンディショニングによる免疫活性化というべき現象と考えた。しかし、大腸菌の LPS で誘導したこの現象は他の薬剤耐性菌の敗血症にも奏効するのかが、また、安全に LPS プレコンディショニングが導入できるかなど、この魅力的な現象を臨床に応用するにはいくつかの課題があった。さらに、LPS プレコンディショニング開始の判断には、貪食細胞の殺菌能減弱化が指標となるが、臨床でこれをどのように迅速診断することも重要な課題であった。

(1) そこで、本研究では、LPS プレコンディショニングが、薬剤耐性能の強い緑膿菌やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) のような薬剤耐性菌の敗血症に対して有効であるかを明らかにすることを目的とした。さらに、この LPS プレコンディショニングが、癌患者での癌転移抑制などの抗腫瘍活性に及ぼす影響や、抑うつ状態などの神経系に及ぼす影響など、臨床で本施策が応用されるようになった時の波及効果についても検討した。

(2) 臨床的に安全な本施策の導入を考えると、大腸菌の病原毒素である LPS を用いた患者へのプレコンディショニング導入は、いかに少量の接種であっても若干の懸念が生じる。そこで、LPS の活性部位であるリピッド A から合成したもので、TLR4 の特異的アゴニストである Monophosphoryl lipid A (MPLA) によるプレコンディショニングが、LPS プレコンディショニングと同様な貪食殺菌能の増強と炎症反応の抑制効果を誘導できるか検討することを目的とした。

(3) LPS プレコンディショニング開始の判断の指標となる、貪食細胞の殺菌能減弱化の迅速診断のための機器の開発をすることも重要であり、本研究課題の目標の1つである。すでにそのプロトタイプとなる細菌の呼吸活性を測定できるチップを開発しているが(3)、水浸拘束などの心理的ストレスをかけると貪食細胞の殺菌活性が減弱するか、また、本チップでこのような減弱を検出できるか調べることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) LPS プレコンディショニングの緑膿菌や MRSA の致死的感染症に対する効果

生体が反応しない極微量の LPS (5  $\mu$ g/kg) を 3 日間連続でマウスに腹腔内投与し、24 時間後に致死的感染を惹起する量の緑膿菌 (2  $\times$  10<sup>8</sup> CFU) もしくは MRSA (1  $\times$  10<sup>8</sup> CFU) を静脈内投与し、生存率や肝臓での貪食細胞の貪食殺菌能、サイトカイン産生能などを検討した。

#### (2) LPS プレコンディショニングが中枢神経系や抗腫瘍活性に及ぼす影響

LPS プレコンディショニングが臨床に応用されることを考えると、様々な臨床病態への LPS プレコンディショニングの影響を見る必要がある。そこで、LPS プレコンディショニングがマウスの大腸癌肝転移に与える影響をみた。マウスに LPS プレコンディショニングを誘導した後に、マウス大腸癌株 Colon26 ( $1 \times 10^3$  cells) を門脈内投与してマウス大腸癌肝転移モデルを作製、LPS プレコンディショニングが癌の発育進展に与える影響を検討した。また、LPS (8.3 mg/kg 腹腔内投与) で誘導される抑うつ状態が、ごく微量の LPS の前投与 (0.2 mg/kg 腹腔内投与, 1 週間前) によるプレコンディショニングでどのような影響を受けるかも検討した。

### (3) MPLA プレコンディショニングによる致死的重症感染症への救命効果

LPS の活性部位であるリピッド A から合成したもので、TLR4 アゴニストである MPLA を用いた MPLA プレコンディショニングの致死的重症感染症への効果を研究した。TLR4 のみを特異的に刺激することができる、この MPLA を 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  の 3 つの濃度に分けて各々でプレコンディショニングをマウスに誘導し、致死的大腸菌感染での効果を検討した。

### (4) 水浸拘束ストレスによる貪食細胞の殺菌能減弱と抗菌活性測定チップを用いた測定

熱傷や手術などの重度外科侵襲では貪食細胞の殺菌活性が減弱することが知られているが(1)、心理的ストレスでも貪食細胞の殺菌活性が減弱するかを検討した。マウスに心理的ストレスモデルである 2 時間の水浸拘束をかけ、貪食細胞の殺菌活性を共培養にてどの程度細菌を殺せるか従来からの方法で測定した。さらに開発中の抗菌活性測定チップを用いて、水浸拘束ストレス後のマウスの好中球の抗菌活性の減弱を測定した。

## 4. 研究成果

### (1) LPS プレコンディショニングの緑膿菌や MRSA の致死的重症感染症に対する効果

LPS プレコンディショニングを誘導したマウスでは致死性の緑膿菌感染症を 100% 救命出来た。緑膿菌投与 24 時間後の肝臓での生菌数は LPS プレコンディショニングにより著しく減少していたが、緑膿菌投与 1 時間後の TNF の血中濃度の上昇は抑制されなかった。LPS プレコンディショニングを誘導したマウスの肝単核球と緑膿菌を *in vitro* で共培養したところ、肝単核球の緑膿菌に対する殺菌能は LPS プレコンディショニングにより著しく増強していたが、この際の肝単核球の TNF 産生は抑制されていなかった。LPS プレコンディショニングによる緑膿菌殺菌能の増強効果は主に肝臓に集積した骨髄由来の単球系マクロファージが担っていた (論文準備中)。

一方、グラム陽性菌である MRSA 感染に関しても、LPS プレコンディショニングを誘導したマウスでは致死性の MRSA 感染症を 100% 救命出来た。従来の研究から、マウスにおける MRSA の殺菌除去には好中球が深く関与していたが(4)、今回の LPS プレコンディショニングでは好中球の MRSA 殺菌能には変化がなく、肝単核球での MRSA 殺菌能増強が予後改善に関与していた。致死性の MRSA 感染症でも、大腸菌や緑膿菌のようなグラム陰性菌で見られた TNF の血中での顕著な上昇は見られず、LPS プレコンディショニングを行ったマウスでも同様に TNF の血中での上昇は認められなかった。LPS プレコンディショニングを誘導したマウスの肝単核球と MRSA を *in vitro* で共培養したところ、肝単核球の MRSA に対する殺菌能は LPS プレコンディショニングにより著しく増強していたが、この際の肝単核球の TNF 産生は抑制されていなかった。緑膿菌と同様に LPS プレコンディショニング時の MRSA への殺菌能増強は主に肝臓に集積した骨髄由来の単球系マクロファージが担っていた (論文準備中)。

このように LPS プレコンディショニングでは、肝臓に集積した骨髄由来の単球系マクロファージに非特異的とも言える殺菌能の増強が誘導され、薬剤耐性菌による敗血症への有用性が示唆された。一方、TNF の産生は抑制されていなかったが、同時に検討していた IFN- $\gamma$  産生は顕著に抑制されており、生体での炎症本能抑制に関しては、今後さらに研究していく必要があると考えている。

### (2) LPS プレコンディショニングが抗腫瘍活性や中枢神経系に及ぼす影響

LPS プレコンディショニングを誘導したマウスでは Colon26 の肝転移が顕著に抑制され、担癌マウスの生存率も明らかに延長した (図 2) (5)。肝臓において、LPS プレコンディショニングにより肝単核球の Colon26 に対

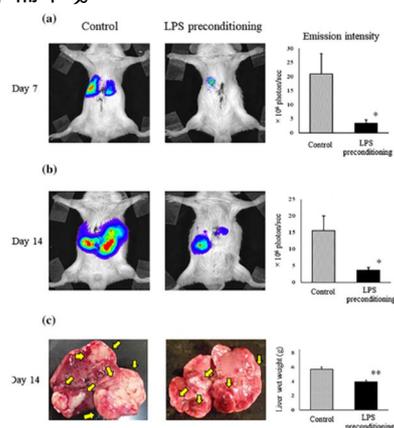


図2 LPSプレコンディショニングの大腸癌肝転移抑制効果

する抗腫瘍活性が増強していたが、肝単核球の中でもNK細胞やNKT細胞の抗腫瘍活性を司る perforin や granzyme B の産生が亢進していた。一方、炎症を司る IFN- $\gamma$ 産生は逆に抑制されていた。さらに肝NK細胞やNKT細胞のColon26に対する抗腫瘍活性をみたが、LPSプレコンディショニングによりいずれの細胞集団の抗腫瘍活性も明らかに増強していたが、とくにNKT細胞の抗腫瘍活性の増強が顕著であった(5)。

微量のLPS投与によるシンプルなプレコンディショニングが、1週間後に大量のLPS投与により惹起される抑うつ状態に与える影響を検討した(6)。その結果、プレコンディショニングにより抑うつ状態の改善が認められた。アストロサイトのマーカーであるGfapなどのmRNAレベルでの上昇が抑制されており、今後さらに研究を重ねる必要があると考えている(6)。また、現在、LPSの微量反復投与によるLPSプレコンディショニングのPTSDへの影響も検討中である。

### (3) MPLAプレコンディショニングによる致死的大腸菌感染への救命効果

MPLA 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  のプレコンディショニングでは、致死的大腸菌感染の救命率が50%に留まった。pHrod大腸菌でみた *in vitro* での肝単核球の殺菌活性はほとんど抑制されず、血中TNF値の上昇も抑制されなかった。対照的に、MPLA 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  によるプレコンディショニングでは致死的大腸菌感染を100%救命することができた。このMPLA 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  によるプレコンディショニングでは、pHrod大腸菌でみた *in vitro* での肝単核球の殺菌活性は増強され、血中TNF値の上昇も顕著に抑制されていた。一方、MPLA 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  によるプレコンディショニングでは致死的大腸菌感染を100%救命することができ、肝単核球の *in vitro* での殺菌活性も増強されていたが、血中TNF値の上昇抑制はほとんど認められなかった。このようにTLR4を特異的に反復刺激することで、貪食細胞の殺菌能増強とTNF産生の抑制が誘導されることが分かったが、2つの反応系のうち、貪食殺菌能の増強効果がより低いMPLA濃度、すなわち弱いTLR4刺激でも誘導できることが分かった(論文準備中)。TNFは本来、生体防御に必須のサイトカインで、徒にこれを抑制することは必ずしも理にかなっていないと言いはれ難い。このTNF産生に影響がなく、貪食殺菌能のみが増強されるMPLAプレコンディショニングの誘導をさらに深く研究していく予定である。

### (4) 水浸拘束ストレスによる貪食細胞の殺菌能減弱と抗菌活性測定チップを用いた測定

マウスに2時間の水浸拘束ストレスをかけると、貪食細胞の1つである好中球の殺菌活性が著しく減弱した(7)。この殺菌活性の減弱は1時間の水浸拘束ストレスでも認められた(図3A)。

一方、好中球のマイクロビーズの取り込み能も減弱していたが、こちらは1時間の水浸拘束ストレスでは変化がなかった。好中球の活性酸素産生能では2時間の水浸拘束ストレスでは低下していたが、1時間の水浸拘束ストレスでは逆に増加していた(図3B)。このように貪食細胞の殺菌活性は心理的ストレスでも鋭敏なストレスの指標になることが示唆された(7)。次に2時間の水浸拘束ストレスをかけたマウスの好中球の抗菌活性を、我々が開発した抗菌活性測定チップ(3)で測定したところ、この水浸拘束ストレスによる好中球の殺菌活性の減弱を迅速鋭敏に測定し得た(図4)(8)。

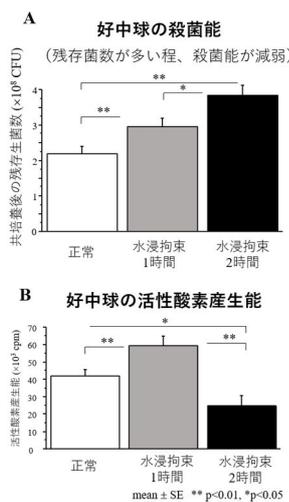


図3 水浸拘束の程度と好中球機能

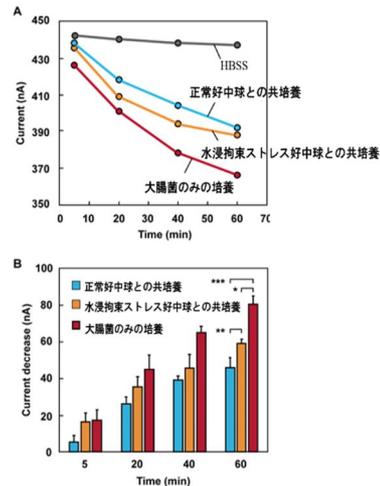


図4 水浸拘束ストレス時の好中球抗菌活性のチップでの測定

### < 引用文献 >

- Kinoshita M, Miyazaki H, Ono S, Seki S. Immunoenhancing therapy with interleukin-18 against bacterial infection in immunocompromised hosts after severe surgical stress. *J Leukoc Biol* 93:2013; 689-698.
- Kinoshita M, Miyazaki H, Nakashima H, Nakashima M, Nishikawa M, Ishikiriya T, Kato S, et al. In vivo Lipopolysaccharide Tolerance Recruits CD11b+ Macrophages to the Liver with Enhanced Bactericidal Activity and

Low Tumor Necrosis Factor-Releasing Capability, Resulting in Drastic Resistance to Lethal Septicemia. *J Innate Immun* 9:2017; 493-510.

Yamagishi A, Tanabe K, Yokokawa M, Morimoto Y, Kinoshita M, Suzuki H. Microfluidic device coupled with a microfabricated oxygen electrode for the measurement of bactericidal activity of neutrophil-like cells. *Anal Chim Acta* 985:2017; 1-6.

Kinoshita M, Miyazaki H, Ono S, Inatsu A, Nakashima H, Tsujimoto H, Shinomiya N, et al. Enhancement of neutrophil function by interleukin-18 therapy protects burn-injured mice from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* 79:2011; 2670-2680.

Nishikawa M, Kinoshita M, Morimoto Y, Ishikiriyama T, Nakashima M, Nakashima H, Ono T, et al. Lipopolysaccharide preconditioning reduces liver metastasis of Colon26 cells by enhancing antitumor activity of natural killer cells and natural killer T cells in murine liver. *J Gastroenterol Hepatol* 2020 online ahead.

Koga M, Toda H, Kinoshita M, Asai F, Nagamine M, Shimizu K, Kobayashi Y, et al. Investigation of the impact of preconditioning with lipopolysaccharide on inflammation-induced gene expression in the brain and depression-like behavior in male mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 103:2020; 109978.

Kinoshita M, Nakashima H, Nakashima M, Koga M, Toda H, Koiwai K, Morimoto Y, et al. The reduced bactericidal activity of neutrophils as an incisive indicator of water-immersion restraint stress and impaired exercise performance in mice. *Sci Rep* 9:2019; 4562.

Tanabe K, Kinoshita M, Nakashima M, Kariya K, Yokokawa M, Morimoto Y, H S. On-site rapid detection of antibacterial activity of neutrophils using freeze-dried bacteria. *Medical Device Sensor* 2:2019; e10030.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Maekawa T, Uchida T, Nakata-Horiuchi Y, Kobayashi H, Kawauchi S, Kinoshita M, Saitoh D, Sato S	4. 巻 15
2. 論文標題 Oral ascorbic acid 2-glucoside prevents coordination disorder induced via laser-induced shock waves in rat brain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0230774
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0230774	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kinoshita M, Nakashima M, Nakashima H, Seki S	4. 巻 20
2. 論文標題 Immune mechanisms underlying susceptibility to endotoxin shock in aged hosts: implication in age-augmented generalized Shwartzman reaction	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 E3260
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20133260	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Rump A, Eder S, Lamkowski A, Kinoshita M, Yamamoto T, Abend M, Shinomiya, Port M	4. 巻 69
2. 論文標題 Development of new biokinetic-dosimetric models for the simulation of iodine blockade in the case of radioiodine exposure in man	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Drug Res	6. 最初と最後の頁 583-597
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/a-0960-5590	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Hagisawa K, Kinoshita M, Takikawa M, Takeoka S, Saitoh D, Seki S, Sakai H	4. 巻 59
2. 論文標題 Combination therapy using fibrinogen $\alpha$ -chain peptide-coated, ADP-encapsulated liposomes and hemoglobin vesicles for trauma-induced massive hemorrhage in thrombocytopenic rabbits	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Transfusion	6. 最初と最後の頁 3186-3196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/trf.15427	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakashima M, Kinoshita M, Nakashima H, Kotani A, Ishikiriyama T, Kato S, Hiroi S, Seki S	4. 巻 25
2. 論文標題 Pioglitazone improves phagocytic activity of liver recruited macrophages in elderly mice possibly by promoting glucose catabolism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Innate Immun	6. 最初と最後の頁 356-368
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1753425919849620	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanabe K, Kinoshita M, Nakashima M, Kariya K, Yokokawa M, Morimoto Y, Suzuki H	4. 巻 2
2. 論文標題 On-site rapid detection of antibacterial activity of neutrophils using freeze-dried bacteria	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medical Device Sensor	6. 最初と最後の頁 e10030
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mds3.10030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kinoshita M, Nakashima H, Nakashima M, Koga M, Toda H, Koiwi K, Morimoto Y, Miyazaki H, Saitoh D, Suzuki H, Seki S	4. 巻 9
2. 論文標題 The reduced bactericidal activity of neutrophils as an incisive indicator of water-immersion restraint stress and impaired exercise performance in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 4662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-41077-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishiwaki K, Aoki S, Kinoshita M, Kiyosawa T, Suematsu Y, Takeoka S, Fujie T	4. 巻 107
2. 論文標題 In situ Transplantation of Adipose Tissue-Derived Stem Cells Organized on Porous Polymer Nanosheets for Murine Skin Defects	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.	6. 最初と最後の頁 1363-1371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.34228	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanabe Koji, Kinoshita Manabu, Nakashima Masahiro, Kariya Koki, Yokokawa Masatoshi, Morimoto Yuji, Suzuki Hiroaki	4. 巻 2
2. 論文標題 On site Rapid Detection of Antibacterial Activity of Neutrophils Using Freeze Dried Bacteria	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 MEDICAL DEVICES & SENSORS	6. 最初と最後の頁 e10030 ~ e10030
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mds3.10030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kinoshita Manabu, Nakashima Hiroyuki, Nakashima Masahiro, Koga Minori, Toda Hiroyuki, Koiwai Kazuki, Morimoto Yuji, Miyazaki Hiromi, Saitoh Daizoh, Suzuki Hiroaki, Seki Shuhji	4. 巻 9
2. 論文標題 The reduced bactericidal activity of neutrophils as an incisive indicator of water-immersion restraint stress and impaired exercise performance in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4562
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-41077-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishiwaki Keisuke, Aoki Shimpo, Kinoshita Manabu, Kiyosawa Tomoharu, Suematsu Yoshitaka, Takeoka Shinji, Fujie Toshinori	4. 巻 107
2. 論文標題 In situ transplantation of adipose tissue-derived stem cells organized on porous polymer nanosheets for murine skin defects	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.34228	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hagisawa Kohsuke, Kinoshita Manabu, Takase Bonpei, Hashimoto Kenichi, Saitoh Daizoh, Seki Shuhji, Nishida Yasuhiro, Sakai Hiromi	4. 巻 50
2. 論文標題 Efficacy of Resuscitative Transfusion With Hemoglobin Vesicles in the Treatment of Massive Hemorrhage in Rabbits With Thrombocytopenic Coagulopathy and Its Effect on Hemostasis by Platelet Transfusion	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 SHOCK	6. 最初と最後の頁 324 ~ 330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SHK.0000000000001042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Kinoshita m
2. 発表標題 Medical countermeasure for post-traumatic immunosuppression and susceptibility of infection
3. 学会等名 Japan-US Technical information exchange forum on blast injury (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kinoshita M, Hagisawa K
2. 発表標題 Development of hemostatic nanoparticles (platelet substitutes) for the resuscitation of trauma hemorrhage
3. 学会等名 Non-conventionaal Threat Asia Pacific (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kinshita M, Aoki S, Kiyosawa T, Fujie T, Takeoka S, Hagisawa K, Seki S
2. 発表標題 Basic fibroblast growth factor-loaded PLGA nanosheet promotes wound healing of refractory skin lesions after burn injury
3. 学会等名 Annual Conference on SHOCK (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kinoshita M, Hagisawa K
2. 発表標題 The efficacy of platelet substitutes, H12(ADP)liposomes, for the treatment of hemorrhagic shock caused by mesenteric injury in rabbits with trauma-induced coagulopathy
3. 学会等名 Military Health Research Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木下 学、西川 誠、中島正裕、中島弘幸、関修司
2. 発表標題 LPS preconditioningによる抗腫瘍活性増強効果と外科周術期管理での有用性
3. 学会等名 日本エンドトキシン自然免疫研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kinoshita M, Nishikawa M, Nakashima H, Nakashima M, Ishikiriyama T, Kato S, Seki S
2. 発表標題 LPS preconditioning potently enhances liver antitumor activity in mice despite marked suppression of inflammatory response
3. 学会等名 日本免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木下 学
2. 発表標題 人工赤血球、人工血小板開発の最前線、外傷性大量出血への挑戦
3. 学会等名 埼玉県急性期治療フォーラム(招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	守本 祐司  (Morimoto Yuji)  (10449069)	防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、 動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・生理 学・教授  (82406)	

## 6. 研究組織 (つづき)

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中島 弘幸 (Nakashima Hiroyuki)  (10574064)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・免疫・微生物学・助教  (82406)	
研究分担者	武岡 真司 (Takeoka Shinji)  (20222094)	早稲田大学・理工学術院・教授  (32689)	
研究分担者	鈴木 博章 (Suzuki Hiroaki)  (20282337)	筑波大学・数理物質系・教授  (12102)	
研究分担者	小野 聡 (Ono Satoshi)  (30531355)	東京医科大学・医学部・兼任教授  (32645)	
研究分担者	宮崎 裕美 (Miyazaki Hiromi)  (30531636)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・防衛医学研究センター 外傷研究部門・助教  (82406)	
研究分担者	四ノ宮 成祥 (Shinomiya Nariyoshi)  (40505260)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・分子生体制御学・教授  (82406)	
研究分担者	中島 正裕 (Nakashima Masahiro)  (70738103)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・免疫・微生物学・助教  (82406)	
研究分担者	関 修司 (Seki Shuhji)  (80531392)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・免疫・微生物学・教授  (82406)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	齋藤 大蔵  (Daizoh Saitoh)  (90531632)	防衛医科大学校（医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・防衛医学研究センター 外傷研究部門・教授）    (82406)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関