

平成22年3月31日現在

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2007 ～ 2009
課題番号：19590686
研究課題名（和文）熱中症の発生メカニズム
研究課題名（英文）Study on the mechanism of heat stroke (Role of bacterial translocation on the multi organ failure after heat stroke)
研究代表者
北 敏郎 (KITA TOSHIRO)
産業医科大学・医学部・准教授
研究者番号：00131912

研究成果の概要：異常環境下により発症する熱中症発生メカニズムを検討した。ラットを用いた熱中症モデルで腸内細菌の侵入（BT）の発生が認められた。次に、熱中症における肝臓障害発生に果たすLPSの役割を検討し、熱中症による臓器障害発生にLPSの関与が示唆された。その結果、熱中症の発生因子のPrimary factorとしてLPSが考えられ、Secondary factorとして蓄熱による直接的障害が発生している可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：We approach the study on the mechanism of heat stroke. Our quantitative bacterial culture data demonstrated that viable bacteria reached the remote organs after heat stroke. This study provides evidence for the hypothesis that the MAPK pathway controls inflammatory mediators, and we identified the pathophysiologic role of LPS in the development of organ failure after heat stroke.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医病理学

キーワード：ショック，熱中症，LPS，MAPK，多臓器不全，肝臓

1. 研究開始当初の背景

われわれは 法医剖検例において、種々な原因によりショック状態に陥って死亡する事例を数多く経験している。その際、死者が死に至る経過においてショック状態に陥ったことを客観的に示す努力がなされないまま他に主たる死因がないという理由でショック死と判断されがちである。通常、ショックという概念は その機能的な変化が主体であり、ショックにおける器質的な変化はあくまでも二次的なものと捉えられ、積極的にショック発生メカニズムにおける器質的な変化の位置づけはなされて来なかった。今回、様々なショック誘因の一つで異常環境下により発症する熱中症発生メカニズムについて検討を行った。熱中症に関する多くの研究は、臨床領域において治療目的で行われ、法医学領域での検討はきわめて少ない。この研究において、死因判定における法医実務への応用を目的として、熱中症モデルを作製し臓器障害発生メカニズムの解明を試みた。

2. 研究の目的

これまで われわれは、発生原因に拘らずショック時における臓器障害発生に Bacterial Translocation (BT) が大きな役割を果たしているという考えに基づき、ショック発生メカニズムの検討を行ってきた。今回の熱中症ショックに関しても、BT 発生の観点から大腸菌毒素 (LPS) の臓器障害発生への関与の可能性を検討する。その際、LPS あるいは虚血などの侵襲によりきわめて早い段階で体内に生じ 臓器障害を続発させると言われる各種サイトカインの誘導に大きな役割を果たしているマップキナーゼ (MAPK) に着目し、その経路のショック発生に果たす役割を MAPK 産生阻害剤 (FR167653) の使用により明らかにする。

3. 研究の方法および結果

(1) 熱中症病態モデルの作製

まず熱中症動物モデルの作製に当たり、ホットプレートを蓄熱装置として、雄 Wistar ラット (10 週齢) を用いて検討した。具体的には、ウレタンクロラロース麻酔下で、42.0°C に設定したホットプレート上に背部を保定して 140 分間まで蓄熱させた。

その結果、直腸温度は、蓄熱後漸次上昇し 140 分後には $42.3 \pm 0.31^\circ\text{C}$ となった (Fig. 1)。平均血圧 (MAP) は、蓄熱前 $85.2 \pm 3.9\text{mmHg}$ から蓄熱後 80 分では $140.4 \pm 4.1\text{mmHg}$ へと徐々に上昇したが、その後急速に低下し 140

分後には $23.6 \pm 6.3\text{mmHg}$ となり死亡する個体があった (Fig.2)。これを熱中症病態モデルとし、以下の実験に用いた。

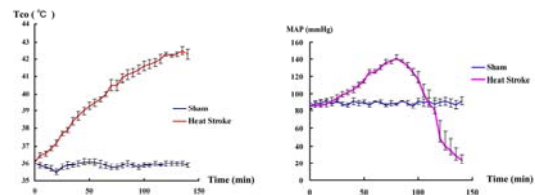


Fig. 1 Effects of heat stress on Tco

Fig. 2 Effects of heat stress on MAP

(2) Bacterial Translocation (BT) の検討

熱中症により腸管粘膜バリア障害が生じている可能性を、①細菌学的検討 および ②HRP トレーサー実験で観察した。

①細菌学的検討：諸臓器を無菌的に取り出し MacConkey 培地などを用い臓器の細菌浸襲の可能性の有無

②HRP トレーサー実験：腸管バリア障害を、トレーサーである HRP を腸管腔内に投与することによる腸管バリアの破綻の有無

細菌学的検査において、各臓器から大腸菌、モルガネラおよびセラチアなどの腸内細菌類が観察された (Table1)。トレーサー実験では、腸管粘膜バリアの破綻が生じて

いることが確認された (Fig. 3)。対照群では、破綻は認められなかった。これらの結果から熱中症による BT の発生が明らかとなった。

Table 1

Bacterial translocation of enteric organisms after heat stress

Tissue Samples	Sham	Heat stroke
Liver	0/6	2/6
Heart	0/6	2/6
Lung	0/6	3/6
Kidney	0/6	3/6

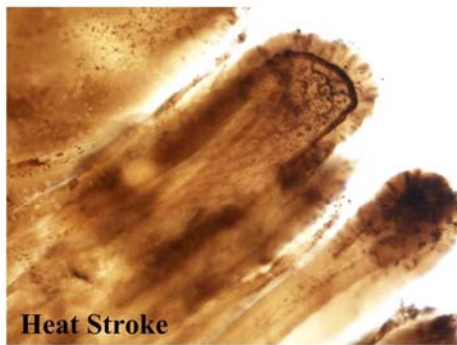


Fig. 3

(3) 肝臓障害発生に果たす LPS の役割

熱中症における肝臓障害発生に果たす LPS の役割を MAPK 阻害剤 (FR167653) の使用により検討した。熱中症モデル (Heat stroke 群), 対照群 (Sham 群), MAPK 阻害剤投与群 (FR 投与群) および FR 投与後に前記の条件下で蓄熱させた群 (FR+Heat 群) の 4 群を用いた。検査項目は、血清を用いた肝機能検査 (AST,ALT) ならびに肝臓を用いた TNF α および IL-1 β mRNA の検討, 肝臓切片における好中球発生頻度とした。

平均血圧 (MAP) は, Heat stroke 群で蓄熱 80 分後にピークを迎えたが, FR+Heat 群では蓄熱後 100 分後にピークを迎えた (Fig.4)。

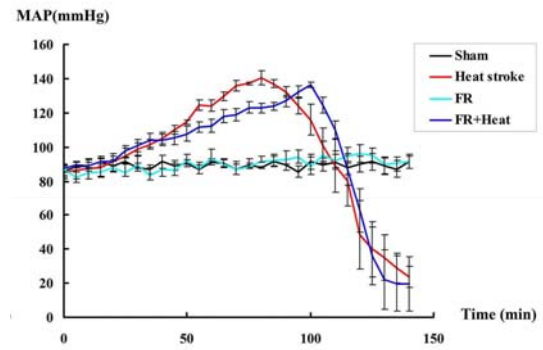


Fig. 4 Effects of heat stress on MAP

蓄熱 80 分後に Heat stroke 群で好中球の浸潤 (Fig.5) および肝臓障害発生が認められたが, FR+Heat 群では好中球の浸潤抑制および肝臓障害発生が抑制された。蓄熱 100 分後には FR+Heat 群での上記の抑制は認められなかった (Figs. 6,7)。

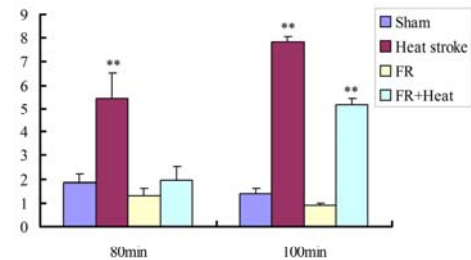


Fig. 5 Incidence of neutrophils in the liver (4500x3500 μ m) after heat stress ** p<0.01 vs Sham

TNF α および IL-1 β mRNA も同様な傾向が認められた。MAPK 阻害剤投与により, 蓄熱 80 分後に LPS による肝臓障害の発生が抑制されたが, 蓄熱 100 分後では肝臓障害の発生が観察された。

以上の結果から, 熱中症による肝臓障害発生に LPS の関与が考えられ, さらに蓄熱による直接的な肝臓障害発生の可能性も示唆された。

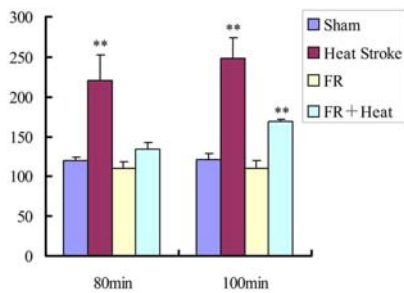


Fig. 6 The degree of liver injury was assessed by measure of serum AST (U/l).
** p<0.01 vs Sham

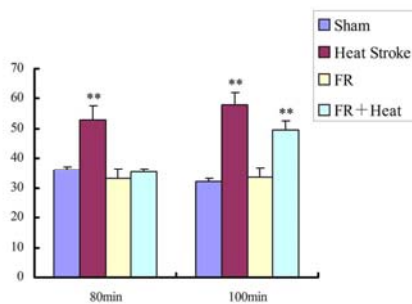


Fig. 7 The degree of liver injury was assessed by measure of serum ALT (U/l).
** p<0.01 vs Sham

(4) 心臓障害発生に果たす LPS の役割

熱中症における心臓障害発生に果たす LPS の役割を MAPK 阻害剤 (FR167653) の使用により、前記の Heat stroke 群, Sham 群, FR 投与群および FR+Heat 群の 4 群で検討した。検査項目は、血清を用いた心臓機能検査 (CPK-MB) ならびにサイトカインである TNF α および IL-1 β の蛋白定量、さらに、心筋を用いた TNF α および IL-1 β mRNA の検討および心臓切片における好中球発生頻度とした。実験中は血圧、脈拍、直腸温および心電図を観察・測定した。

平均血圧 (MAP) は、前記のように、蓄熱 80 分後に Heat stroke 群でピークを迎えたが、FR+Heat 群では蓄熱後 100 分後にピークを迎えた (Fig.4)。

Heat stroke 群で蓄熱 80 分後に CPK-MB

の増加が認められたが、FR+Heat 群では CPK-MB が抑制された。蓄熱 100 分後には FR+Heat 群での上記の抑制は認められなかった。血清中のサイトカイン (TNF α および IL-1 β) も同様な傾向が認められた。他の検査項目では変化は認められなかった。

今回の実験では、心臓障害性を示す所見としては CPK-MB の増加のみであった。これは蓄熱による全身の骨格筋由来の CPK-MB の増加が反映された可能性があり、今回の実験条件では蓄熱による心臓障害発生の確認はできなかった。しかし、血清中のサイトカイン増加が MAPK 阻害剤投与により蓄熱 80 分後に抑制されたことから、熱中症の発生因子の Primary factor として LPS の果たす役割が示唆された。

4. 研究成果

今回、われわれの実験条件下で熱中症による BT の発生が確認された。さらに、熱中症において、Primary factor ならびに蓄熱によると思われる直接的な肝臓障害発生の可能性も示唆された。これまで熱中症の発生因子の Primary factor として LPS が考えられており Secondary factor として蓄熱による直接的障害が指摘されているが、この研究でも同様な機序によると思われる結果が得られた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

- ① 北 敏郎, 佐藤 寛晃, 笠井 謙多郎, 田中 敏子, 田中 宣幸, 熱中症発生メカニズムの検討 (第 2 報), 第 93 次 日本法医学会総会, 平成 21 年 5 月 15 日, 大阪

②北 敏郎, 佐藤 寛晃, 笠井 謙多郎,
田中 敏子, 田中 宣幸, 熱中症発生メカ
ニズムの検討 (第1報), 第92次 日本法
医学会総会, 平成20年4月25日, 長崎

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

北 敏郎 (KITA TOSHIRO)
産業医科大学・医学部・准教授
研究者番号：00131912

(2)研究分担者

田中 敏子 (TANAKA TOSHIKO)
産業医科大学・医学部・講師
研究者番号：80141745

(3)連携研究者

なし