

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目: 若手研究(B)  
 研究期間: 2007~2009  
 課題番号: 19791072  
 研究課題名(和文)人工呼吸下での気道内 mucin の発現に対する異常体温の影響—高体温 vs 低体温—  
 研究課題名(英文)Influence of abnormal body temperature on expression of mucin in the respiratory tract under the artificial respiration—Hyperthermia vs hypothermia—  
 研究代表者  
 長谷川 輝(HASEGAWA AKIRA)  
 大分大学・医学部麻酔科学講座・助教  
 研究者番号: 90448548

研究成果の概要(和文): 炎症は、気道内のムチンを増加させるが、ムチンの発現が異常体温によりどのような影響を受けるかはわかっていない。まず炎症と体温の関係を明らかにした。熱ショック蛋白質(HSP)は侵襲に対する細胞保護効果がある。ラットエンドトキシンショックモデルを作成し、HSPを誘導した場合の保護効果について検討した。結果は、温熱ストレス(42℃15分間)を加えることにより、HSPが誘導され、炎症を有意に抑制し、生存率は改善することが判明した。今後さらに、体温と炎症、ムチン発現との関係について研究を進めていく。

研究成果の概要(英文): Inflammation lets mucin in the respiratory duct increase ,but does not understand whether expression of mucin comes under what kind of influence by abnormal body temperature. First of all, I clarified relations of inflammation and body temperature. It is known that we have cytoprotective protection effect for aggression in heat shock protein (HSP). I made a rat endotoxin shock model and examined protection effect when I induced HSP. As s result, it was recognized that HSP was induced by adding heat stress (42℃15minutes), and inhibited inflammation significantly, and improved the survival rate. I will push forward study about body temperature and relations with expression of mucin more in future.

交付決定額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	0	1,900,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	420,000	3,720,000

研究分野: 麻酔・蘇生学

科研費の分科・細目: 集中治療

キーワード: 人工呼吸、体温、温熱ストレス、熱ショック蛋白質、ムチン

## 1. 研究開始当初の背景

集中治療室に入室する患者は、呼吸循環管理を目的に入室する患者が多く、挿管下に人工呼吸管理を行うことが大多数である。人工呼吸を行う際の人工呼吸器の設定や人工呼吸を行う期間は、患者の状態により様々であるが、概して人工呼吸の期間が長期間にわたる例や高い気道内圧で管理が行われる例等はいわゆる ventilator associated pneumonia もしくは ventilator induced lung injury と言われる状態に至るものが見受けられ、患者の予後に与える影響は多大である。また、人間が本来持っている気道内の免疫防御反応である喀痰は、喫煙をしているものや呼吸器自体に過敏性の病変を有しているものには、人工呼吸時に多量の排出が認められるが、元来このような病変もなく、心不全の兆候もないものにも多量の排出が見られることがある。人工呼吸を含む機械的伸展を肺に施すと、サイトカインを含む様々な炎症性メディエータが放出されることが知られている。これらのサイトカインの中で IL-1 $\beta$  や TNF- $\alpha$  などは、気道の粘膜上皮を覆うムチンの一種である MUC2 や MUC5AC などの遺伝子を活性化し、粘液の産生を亢進することが判明してきた。粘液の産生自体は、外界からの異物や刺激に対し、物理的に上皮を覆って、生体を守るために必要な生体防御反応の一つと考えられるが、過剰な産生はガス交換を妨げ、血液の酸素化を悪化することにつながると思われる。当教室では、今までに一貫して人工呼吸中の生体反応の研究と急性肺障害/急性呼吸窮迫症候群の病態解明と治療に関する研究を行っており、この中で高気道内圧換気を行うと生体は HSP70 を発現し、生体を防御することや急性肺障害に対し低体温療法を施すことが損傷を軽減することを明らかにしてきた。しかしながら現在までのとこ

ろ、人工呼吸下で、気道内に感染が無い状態での mucin の発現が異常体温（高熱もしくは低体温）によりどのような影響を受けるかはわかっていない。よって、今回の研究では、体温の変化が、気道内における MUC2、MUC5AC 遺伝子の活性に与える影響を明らかにする。

## 2. 研究の目的

これまで行われてきた研究では、IL-1 $\beta$  や TNF- $\alpha$  などのサイトカインを増加させる炎症は、気道内の MUC2 や MUC5AC を増加させることが判明している。しかしこれらの研究では体温という臨床上最も重要なパラメータの一つを加味していない。よって今回の研究では、体温を高体温、平熱、低体温という3群に設定し、その状況下での人工換気中の MUC2 や MUC5AC の発現を蛋白及び mRNA レベルで明らかにする。また、同時に各種サイトカインの濃度を測定し、mucin との関係も調査することが目的である。

## 3. 研究の方法

雄性の SD ラット (250-350g) を使用。セボフルランで迷妄麻酔後、腹腔内にペントバルビタールを投与し麻酔を導入。気管切開を施し、16G の静脈留置針の外筒を気管内に挿入し、固定。麻酔の維持と血液のサンプリングに 24G 静脈留置針の外筒を、右外頸静脈と左大腿動脈にそれぞれ挿入。麻酔（鎮静）の維持はミダゾラムを持続投与して行う。Pressure control ventilator で、補助調節呼吸（最高気道内圧 15cmH<sub>2</sub>O）を行い、体温にて、低体温：34℃、平熱：38℃、高体温：42℃の3群に分ける。時間設定は0, 2, 4, 8, 16時間とし、それぞれの時間に以下の実験用に数匹ずつ儀死させ、気管から気管支にかけての組織を摘出する。同時に血液も採取し、摘出した組織とともに、以下の実験に用いる。

また、肺のコンプライアンスを犠死直前に測定する。

(1) 気管及び気管支・・・HE 組織による組織学的検討、MUC2、MUC5AC に対する免疫組織化学、

MUC2、MUC5AC 蛋白に対する Western blotting、MUC2、MUC5AC mRNA に対する RT-PCR、ELISA 法を用いた気管及び気管支中の TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等のサイトカインの測定

(2) 血液・・・血液ガス分析

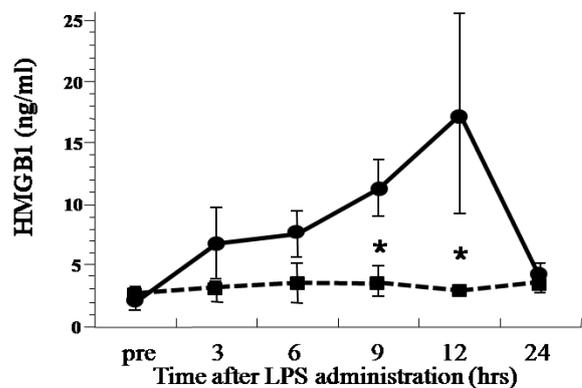
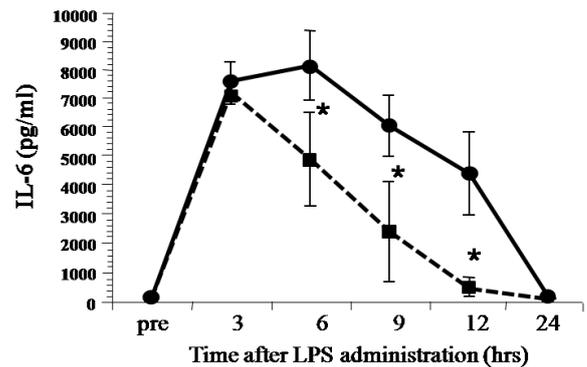
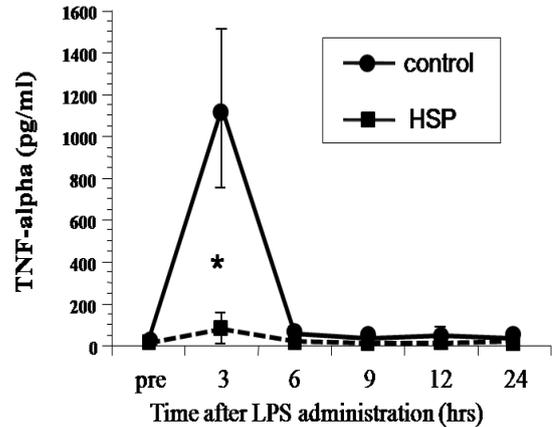
(3) 肺のコンプライアンス・・・気道内圧に対して流入したガスの容量を記録

上記の実験を低体温群、平熱群、高体温群で行い、検討する。

#### 4. 研究成果

まず炎症と体温の関係を明らかにするために研究を行った。温熱ストレスなどで誘導される熱ショック蛋白質 70 (HSP70) は侵襲に対する細胞、臓器保護効果のあることが知られている。一方、HMGB1 (High Mobility Group Box 1) は敗血症の致死性に関与する新たなメディエータとして注目されている。そこで Wistar 系雄性ラットを用い、エンドトキシンを静注することでエンドトキシンショックモデルを作成し、HMGB1 の発現と温熱処理により HSP72 を誘導した場合の保護効果との関連性について検討した。結果は、温熱ストレス (42°C 15 分間) を加えることにより、HSP が誘導され、エンドトキシンショックモデルの生存率は改善し、サイトカイン、HMGB1 を有意に抑制し、肺炎症所見も改善することが判明した。その機序としては HSP70 の誘導により、HMGB1 の上昇が抑制されたことが関与していると考えられた。このことから、短時間の高体温は炎症を抑えることが示された。しかし、現在のところ、体温の変化により、

MUC2、MUC5AC 遺伝子活性に有意差を見出せる結果には至っておらず、今後さらなる研究を進める予定である。



## 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1件)

- ① 長谷川 輝、岩坂日出男、萩原聡、野口隆之  
Relationship Between HMGB1 and Tissue Protective Effects of HSP72 in a LPS-Induced Systemic Inflammation Model. J Surg Res. 2009 Nov 3. [Epub ahead of print]

[学会発表] (計1件)

- ① 長谷川 輝、敗血症の致命的メディエーターであるHMGB1に対するHSPの効果、日本麻酔科学会第55回学術集会、2008年6月14日、横浜

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

長谷川 輝 (HASEGAWA AKIRA)  
大分大学医学部麻酔科学講座・助教  
研究者番号：90448548

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし