

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09405

研究課題名(和文)新しい骨軟部組織損傷モデルの妥当性の評価及び、外傷後臓器障害発生機序の検討

研究課題名(英文)A investigation of a role of remote organ failure after tissue injury using our new tissue injury model.

研究代表者

塚本 剛志 (Tsukamoto, Takeshi)

日本医科大学・大学院医学研究科・研究生

研究者番号：20626270

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々が開発した骨軟部組織損傷モデル(TBXモデル)に出血性ショックを加えた(two-hit model)。骨軟部組織損傷(TBX移植)のみ、或いは出血性ショック+蘇生のみでは早期(3時間後)への全身性炎症変化(IL-6値)は軽度であった。一方で、骨軟部組織損傷(TBX移植と出血性ショック+蘇生を掛け合わせると相乗効果によって、重度の全身性炎症反応(IL-6値)をもたらした。この結果は従来提唱されているtwo-hit theoryを裏付ける結果であり、我々が使用したtwo-hitモデルは、今後の外傷後に発生する臓器障害の発生メカニズムを解明するための研究に有用なモデルであることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重症外傷後引き続き臓器障害のため死にいたる症例に対し、臓器障害発生メカニズムの機序解明、さらにそれに基づく治療法の開発は、今後の外傷治療に大きく貢献できると考える。今回の研究成果は、まだ検体数少ないということ、経時的な炎症反応の変化を見るにいたってないため、今後、さらなる研究の継続を行うべきであろうと考える。

研究成果の概要(英文)：In severe trauma, a significant systemic inflammatory response occurs early in the course of injury. Recent studies have revealed that tissue damage and endogenous factors released by tissue damage play a pivotal role in the development of the systemic inflammatory response after severe trauma.

We have developed a model of soft tissue injury (TBX model) with the addition of hemorrhagic shock (two-hit model). In the TBX model, the systemic inflammatory changes in the early phase (after 3 hours) of soft tissue injury alone (TBX transplantation) or hemorrhagic shock + resuscitation alone were mild. On the other hand, the synergistic effect of soft tissue injury (TBX transplantation) combined with hemorrhagic shock and resuscitation resulted in a severe systemic inflammatory response. These results support the two-hit theory proposed previously and suggest that the two-hit model we used is a useful model for future studies to clarify the mechanism of organ damage that occurs after trauma.

研究分野：生体侵襲学、外傷学

キーワード：骨軟部組織損傷 臓器障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1)重症多発外傷では、受傷早期より著しい全身性炎症反応が生じる。近年の研究により重症外傷後に生じる全身性炎症反応の発症には、組織損傷、および組織損傷により放出される内因子因子が重要な役割を果たしていることが明らかとなっている。
- (2)従来の動物骨軟部組織損傷モデルは、開腹、骨折、筋挫滅によって軟部組織損傷としてきた。しかし、それらは必ずしも臨床的な外傷を反映しておらず、外傷に伴う疼痛や、鎮痛目的で投与される麻酔・鎮痛薬が、外傷後に起こる炎症反応を修飾してしまう欠点が見られた。また、従来のモデルは骨軟部組織損傷の程度(外傷重症度)を定量的に評価することが困難であり、骨軟部組織損傷そのものが外傷後の炎症、臓器障害への影響を検討する有用なモデルが存在しないのが現状であった。研究代表者の塚本は、これらの欠点を解決した骨軟部組織損傷モデルを開発した。マウスの四肢・胸郭をミンチ(以下TBX: tissue bone matrix)したものを同種マウスの背部皮下に随意量を移植するものであり、これにより組織損傷を定量化し、注入量をコントロールすることにより組織損傷の効果を調節することが可能となった。先行研究において、TBX移植マウスでは移植後21時間で腸管運動抑制が起こり、また血漿中の炎症性サイトカインが上昇すること、また腸管運動抑制は、移植するTBX量に依存することを示した。
- (3)臨床における骨折患者は、骨折単独損傷だけではなく、他臓器損傷を伴った重度外傷を呈することも珍しいことではない。そのような患者に対する骨折治療(内固定術)のタイミングは重要であり、外傷後の全身性炎症が亢進している状態に内固定術を行うことで、炎症反応が過剰反応し、その後多臓器不全(Multiple Organ Failure: MOF)に至ることが知られている(two-hit theory)。

2. 研究の目的

我々は新しい画期的な動物骨軟部組織損傷モデルを開発した。この新しいモデルの骨軟部組織損傷研究における妥当性を評価し、外傷後臓器障害発生メカニズムを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) sham 群 ラットの大腿動静脈にカニューレションのみを行い、3時間後に犠牲死させ血漿を採取
- (2) TBX 群 体重あたり10%のTBXを移植し、ラットの大腿動静脈にカニューレションのみを行い、TBX移植3時間後に犠牲死させ血漿を採取
- (3) 出血性ショック群 ラットの大腿動静脈にカニューレションを行い、静脈から脱血し、平均動脈圧を 35 ± 2 mmHgを30分間維持し、その後、脱血した血液を1時間かけて蘇生し、蘇生終了後に犠牲死させ血漿を採取

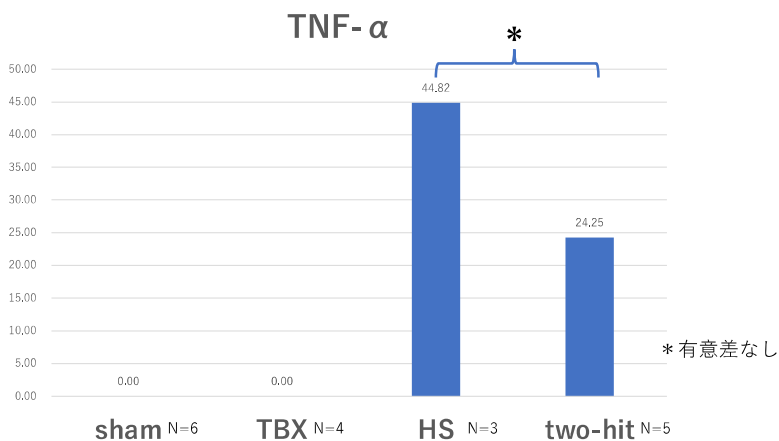
(4) two-hit 群 体重あたり 10%の TBX を移植し、ラットの大腿動静脈にカニューレーションを行い、静脈から脱血し、平均動脈圧を $35 \pm 2\text{mmHg}$ を 30 分間維持し、その後、脱血した血液を 1 時間かけて蘇生し、蘇生終了後に犠死させ血漿を採取

採取した各群の血漿中のサイトカイン量 (TNF- α 、IL-6) を ELISA 法で測定した。

4 . 研究成果

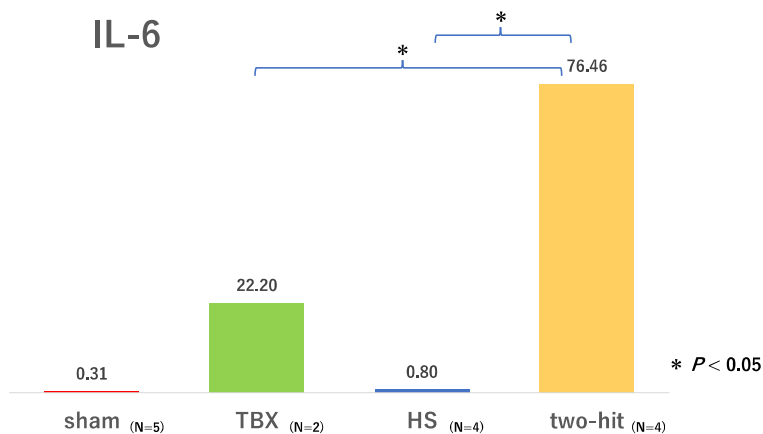
TNF- α

Sham 群、TBX 群とも検出されなかった。出血性ショック群が高値を示し、ついで two-hit 群が上昇していたが、出血性ショック群と two-hit 群との間で有意な差は見られなかった。



IL-6

TBX 群、出血性ショック群とも、sham 群との有意差はなかった。一方、two-hit 群は、TBX 群、出血性ショック群と有意差を認めた。



一般的には、侵襲後早期の生体の炎症反応として、侵襲後 1-2 時間で TNF- α や IL-1 など上昇し、それに次いで侵襲後 3-4 時間で IL-6 が上昇するとされている。今回の結果のみでは TNF- α と IL-6 との関係の説明することはできなかった。一方 IL-6 のみの結果を考察すると、体

重あたり 10%の TBX 移植のみ、あるいは出血性ショックのみでは移植後あるいは出血性ショック-蘇生後 3 時間では何らかの炎症性変化をもたらすが、この変化は軽度あるいは中等度の変化であるにもかかわらず、これらが合わさることで相乗効果をもたらし、過剰な炎症反応が惹起されることが示唆された。これはまさに two-hit theory を裏付ける結果と考えられた。しかしまだ十分な検体数がないこと(N が少ない) 3 時間以降の継時的なこれらサイトカインの動態を見る必要があり、今後さらに研究を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	増野 智彦 (Masuno Tomohiko) (00318528)	日本医科大学・医学部・講師 (32666)	
研究分担者	吉野 由希子 (Yoshino Yukiko) (80813097)	日本医科大学・大学院医学研究科・研究生 (32666)	

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