

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月14日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590473

研究課題名（和文） 感染性ショックの誘導に関わるサイトカイン及び遺伝子の多項目解析

研究課題名（英文） Simultaneous detection of plural cytokines production and gene expressions, in inflammatory reaction induced shock.

研究代表者 柏村 信一郎 (KASHIWAMURA SHINICHIRO)

兵庫医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00185761

研究成果の概要（和文）：炎症病態の解析には免疫担当細胞の活性化を制御するメディエーターであるサイトカインの動態解析が有用である。しかしながら、サイトカインには複雑な相互作用が存在するため、単一のサイトカインの測定のみでは複雑な病態像を理解することは困難であった。当該研究では、モノクローナル抗体とフローサイトメトリー技術を組み合わせることでタンパク質レベルでの多項目解析を可能にしたサスペンションアレイ法を用い病態の解析を行った。当該研究の結果、炎症性疾患の病態増悪化に複数のサイトカイン産生が亢進する高サイトカイン血症がその背景として存在し、特に GITR 刺激をうけた CD4/CD25 陽性調節性T細胞の機能変化が病態の増悪化を誘導している可能性を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Inflammatory diseases, such as Rheumatoid Arthritis or infection induced septic shock decline patient's quality of life along with the progression of the diseases. To prevent the progression of diseases, rapid and precise diagnosis becomes an important matter. However, complex immune networks, mainly controlled with cytokines, obstruct proper understandings of those inflammatory diseases. In this study, I introduced newly developed flowcytometry-based suspension-array system which simultaneously measures 20-30 kind of target cytokines and proteins. Using this method, I clearly demonstrated that the abrogation of CD4+CD25+ regulatory T cell function via glucocorticoid-induced TNF receptor(GITR) were major immune modulators those induced excess productions of various kinds of cytokine and deterioration of inflammatory diseases.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：基礎医学

科研費の分科・細目：寄生虫学

キーワード：ショック、感染、サイトカイン

1. 研究開始当初の背景；感染あるいは慢性炎症性疾患で誘導されるショックの背景として、免疫系の異常な活性化に伴う高サイトカイン血症が重要な役割を果たしているかを解析することにより、新たな診断・治療法の開発が可能になると考えた。

2. 研究の目的；上記の仮説を検証する目的で、複数のサイトカイン濃度を同時測定するサスペンションアレイを導入し、炎症性疾患のヒト及びマウス血清中のサイトカイン濃度の多項目同時解析を行なった。更に遺伝子発現を解析する DNA チップとの比較を行い、直接的にエフェクター分子濃度を測定するサスペンションアレイ法の有効性と炎症病態形成における免疫系の関与を検討することを目的として研究を行った。

3. 研究の方法；マウス実験系ではマラリア感染マウス及び脳梗塞モデルマウスの系を、ヒトでは炎症性腸疾患及びリウマチ患者血清を用い、血清中の複数のサイトカイン動態についてサスペンションアレイを用いてその濃度を測定し、病態形成に伴うサイトカイン・プロファイルを作製した。同時に、リンパ球より RNA を抽出し、DNA チップを用いたサイトカイン遺伝子の発現解析を行った。またリンパ球のポピュレーションについては、細胞を蛍光抗体にて染色後、フローサイトメトリーにて解析を行った。

4. 研究成果；マラリア感染マウスおよびヒト炎症性疾患患者血清中において炎症病態の初期に多くのサイトカインの産生が亢進する高サイトカイン血症が誘導されることが明らかとなった。また、病態の増悪化には調節性 T 細胞が産生する IL-10 の血中濃度の低下と Th1 型ヘルパー T 細胞の機能亢進が関与していることが明らかとなった。これらの結果は、炎症性疾患の新しい診断・治療法の開発を考えるうえで重要な知見を与えるものと考えられた。

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 7 件)

- ① Okui S, Yamamoto H, Li W, Gamachi N, Fujita Y, Kashiwamura S, Miura D, Takai S, Miyazaki M, Urade M, Okamura H, Ueda H. Cisplatin-induced acute renal failure in mice is mediated by chymase-

activated angiotensin-aldosterone system and interleukin-18. *Eur J Pharmacol*, 2012;685:149-55 (査読有り)

- ② Takata M, Nakagomi T, Kashiwamura S, Nakano-Doi A, Saino O, Nakagomi N, Okamura H, Taguchi A, Matsuyama T. Glucocorticoid-Induced TNF receptor-triggered T cells are key modulators for survival/death of neural stem/progenitor cells induced by ischemic stroke. *Cell Death Differ*, 2012;19:756-67 (査読有り)

- ③ Yamagiwa T, Fukunishi S, Tachibana T, Okamura H, Kashiwamura S. Abrogation of Treg function deteriorates rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*, 2012;22:80-88 (査読有り)

- ④ Nagase K, Fukunaga K, Kashiwamura S, Kono T, Kamikozuru K, Yokoyama Y, Hida N, Ohda Y, Takeda N, Yoshida K, Iimuri M, Kikuyama R, Kato K, Miwa H, Matsumoto T. Immunoregulatory effects of adsorptive granulocyte and monocyte apheresis in patients with drug refractory Crohns disease. *The Apher Dial*, 2011;15:367-73 (査読有り)

- ⑤ Kato K, Fukunaga K, Kamikozuru K, Kashiwamura S, Hida N, Ohda Y, Takeda N, Yoshida K, Iimuro M, Kikuyama R, Miwa H, Matsumoto T. Infliximab therapy impacts the peripheral immune-system of immunomodulator and corticosteroid naïve patients with Crohns disease. *Gut and Liver*, 2011;5:37-45 (査読有り)

- ⑥ Saino O, Taguchi A, Nakagomi T, Nakano-Doi A, Kashiwamura S, Doe N, Nakagomi N, Soma T, Yoshikawa H, Stern DM, Okamura H, Matsuyama T. Immunodeficiency reduces neural stem/progenitor cell apoptosis in the cerebral cortex after stroke. *J Neuroscience Res*, 2010;88:2385-97 (査読有り)

- ⑦ 柏村信一郎, 平田淳一, 大家宗彦, 岡村春樹, 丸川征四郎. 感染性ショックの誘導に関わるサイトカイン動態の多項目解析, *Cytometry Research*, 2009;19:61-66 (査読有り)

2010.10.14, Souel

[学会発表] (計 13 件)

- ①横山陽子, 福永健, 柏村信一郎, 上小鶴孝二, 菊山梨紗, 吉田幸治, 武田直久, 飯室正樹, 應田義雄, 樋田信幸, 中村志郎, 三輪洋人, 松本譽之. 免疫制御性T細胞に着目した急性期・寛解期および外科手術後潰瘍性大腸炎の免疫的病態の検討 (シンポジウム). 第 48 回日本消化器免疫学会総会, 2011.7.21, 金沢
- ②福永健, 加藤恭一, 柏村信一郎, 松本譽之. 次世代白血球除去療法を目指した温熱刺激顆粒球・単球吸着療法の基礎検討: オンライン免疫調節治療の可能性 (シンポジウム). 第 48 回日本消化器免疫学会総会, 2011.7.21, 金沢
- ③Yokoyama Y, Fukunaga K, Kashiwamura S, Kamikozuru K, Kikuyama R, Kato K, Takeda N, Mastumoto T. Transition of peripheral immune-characteristics pre, post to trans-operation in ulcerative colitis. 15th International Congress of Mucosal Immunology (ICMI2011), 2011.7.7, Paris
- ④Takata M, Nakagomi T, Kashiwamura S, Nakano-Doi A, Saino O, Okamura H, Mimura O, Soma T, Taguchi A, Matsuyama T. Glucocorticoid-induced TNF receptor-stimulated T cells serve as a negative regulator for CNS repair after cerebral infraction. XXVth International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism and Function & Xth International Conference on Quantification of Brain Function and PET (Brain 2011). 2011.5.27, Barcelona
- ⑤Yokoyama Y, Fukunaga K, Kashiwamura S, Kamikozuru K, Miwa H, Mastumoto T. The transition of peripheral immune-characteristic in ulcerative colitis patients at active, quiescent and trans-colectomy. Digestive Disease Week 2011(DDW2011), 2011.5.10, Chicago
- ⑥Takata M, Kashiwamura S, Nakagomi T, Saino O, Nakano-Doi A, Doe N, Nakagomi N, Okamura H, Mimura O, Taguchi A, Mastuyama T. GITR (glucocorticoid-induced TNF receptor) triggering reduces, and its inhibition enhances, endogenous neurogenesis in post-stroke brain. 7th World Stroke Congress, 2010.10.14, Souel
- ⑦Matsuyama T, Saino O, Nakagomi T, Nakano-Doi A, Takata M, Kashiwamura S, Doe N, Nakagomi N, Mimura O, Taguchi A. CD25-positive T lymphocytes are key immunomodulator of neurogenesis after stroke. 7th World Stroke Congress, 2010.10.14, Souel
- ⑧田片将士, 柏村信一郎, 中込隆之, 斎野織恵, 土居亜紀子, 土江伸誉, 中込奈美, 岡村春樹, 三村治, 田口明彦, 松山知之. 脳梗塞後の内因性神経再生におけるGITR(Glucocorticoid-induced TNF receptor)陽性T細胞の関与の検討. 第 33 回日本神経科学大会・第 20 回日本神経化学会大会、合同大会(Neuro2010), 2010.9.3, 神戸
- ⑨斎野織恵, 田口明彦, 中込隆之, 土居亜紀子, 田片将士, 柏村信一郎, 土江伸誉, 松山知之. CD4 陽性T細胞が脳梗塞後の内因性神経幹細胞に及ぼす影響の検討. 第 33 回日本神経科学大会・第 20 回日本神経化学会大会、合同大会(Neuro2010), 2010.9.2, 神戸
- ⑩ Kashiwamura S, Li W, Okamura H. Novel-pathological roles of IL-18 in inflammatory diseases. 14th International Congress of Immunology, 2010.8.24, Kobe
- ⑪新家莊平, 柏村信一郎. 心にもワクチンを. 日本予防医学会・日本補完代替医療学会合同シンポジウム (招待講演) 第 5 回日本予防医学会講演会・第 12 回日本補完代替医療学会学術集会, 2009.11.23, 和歌山
- ⑫田片将士, 柏村信一郎, 中込隆之, 斎野織恵, 中野亜紀子, 中込奈美, 田口明彦, 笠原由紀子, 三村治, 松山知之. 実験的脳梗塞モデルにおける免疫動態の検討. 第 21 回日本脳循環代謝学会総会, 2009.11.20, 大阪
- ⑬Kashiwamura S-I, Hosotani Y, Okamura H. The roles of IL-18 expressed in normal human keratinocytes. (Symposium) The 9th World Congress on Inflammation, 2009.7.8, Tokyo

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柏村 信一郎
(KASHIWAMURA SHINICHIRO)
兵庫医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00185761

(2) 研究分担者 該当無し

研究者番号：

(3) 連携研究者 該当無し

研究者番号：