

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20日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592318

研究課題名（和文）

急性肺障害における血管内皮前駆細胞の動態解析：自家移植による再生治療の試み

研究課題名（英文）

研究代表者

武山 直志（TAKEYAMA NAOSHI）

藤田保健衛生大学・医学部・教授

研究者番号：00155053

研究成果の概要（和文）：

線溶系調節因子であるPlasminogen activator inhibitor (PAI)-1の動態をICU患者で検討した。PAI-1活性値に大きな影響を与える4G/5G 遺伝子多型 (rs1799768)と血中乳酸値、生存率、重症度の関連を検討した。4G/5G 遺伝子多型のうち4Gの存在はPAI-1活性値を高め線溶系を抑制するため微小循環障害を惹起し生存率を下げる事が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：

Objective: Impaired fibrinolysis is associated with a higher incidence of both multiple organ dysfunction and mortality in the intensive care unit (ICU). Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 is the chief inhibitor of fibrinolysis. We investigated the influence of the 4G/5G polymorphism (rs1799768) of the PAI-1 gene on the plasma PAI-1 level and the outcome of critically ill patients. **Methods:** In 41 consecutive patients admitted to the ICU, PAI-1 gene polymorphism was assessed, plasma PAI-1 and arterial lactate concentrations were measured and clinical severity scores were recorded. **Results:** Homozygotes for the 4G allele had higher plasma levels of PAI-1 antigen. The mean \pm SD PAI-1 antigen level was 193.318 \pm 167.93 ng/ml for the 4G/4G genotype, 100.678 \pm 114.16 ng/ml for the 4G/5G genotype and 0.438 \pm 0.53 ng/ml for the 5G/5G genotype. There was a significant correlation between plasma PAI-1 and arterial lactate concentrations, as well as between PAI-1 and severity scores. The mortality rate was 63, 33 and 0% for patients with the 4G/4G, 4G/5G and 5G/5G genotypes, respectively. **Conclusions:** These results demonstrate that the 4G/5G polymorphism of the PAI-1 gene affects the plasma PAI-1 concentration, which could impair fibrinolysis and cause organ failure, and thus the presence of the 4G allele increases the risk of death.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 2,200,000 | 660,000 | 2,860,000 |
| 2011年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 2012年度 | 500,000 | 150,000 | 650,000 |

| | | | |
|----|-----------|-----------|-----------|
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,600,000 | 1,080,000 | 4,680,000 |

研究分野：外科系臨床医学
 科研費の分科・細目：救急医学・集中治療医学
 キーワード：集中治療, ALI/ARDS

1. 研究開始当初の背景

ALI/ARDSはICUにおける合併症で頻度が高いにもかかわらず、その詳細な発症機序は不明であり治療法も限られている。血管内皮前駆細胞 (endothelial progenitor cells; EPCs)は1997年に発見され(Asahara T et al, Science; 1997)、新たに血管が形成されつつある局所、もしくは内皮細胞障害部位に取り込まれ、分化、増殖、遊走し血管形成、ならびに内皮障害の修復に重要な役割を果たしている。EPCsは障害内皮細胞の生理的修復機構と推測されているものの、これまでのところ慢性虚血性疾患に対する検討が中心に行われており、急性発症の血管内皮細胞障害における役割はほとんど検討されていない。

2. 研究の目的

ALI/ARDS 患者において EPCs がいかなる動態を呈するか？ EPCs 自家移植が ALI/ARDS 動物モデルにおいて治療効果を有するか否か？

3. 研究の方法

ICU 入室中の患者 41 名を対象にした。経過中 SOFA スコア、DIC スコア、MODS スコアを経時的に計算した。血液は抗凝固剤にヘパリンを使用し上清および全血を 80 度に保存した。PAI-1 の遺伝子多型は全血から抽出した crude DNA を PCR 法にて増幅した後、BslI で切断しアガロースゲルで電気泳動を行い、断片の鎖長から判断した。PAI-1 活性は ELISA キットで測定を行った。

4. 研究成果

集中治療領域の患者は血液凝固系に異常を来す症例が多い。とりわけ凝固能の亢進、線溶系の抑制は重症感染症患者をはじめ多くの症例で認められ微小循環障害の一因となっている。本検討では線溶系調節因子である Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 の動態を ICU 患者で検討した。とりわけ PAI-1 活性値に大きな影響を与える 4G/5G 遺伝子多型 (rs1799768) と血中乳酸値、生存率、重症度の関連を検討した。

genotype は 4G/5G が 51% と最も多く次いで 4G/4G が 39%、5G/5G が 10% であった。死亡率は 4G/4G が 63%、4G/5G が 33%、5G/5G が 0% と 4G allele が死亡率に大きく関与していた。

| | | n | Mortality | P value |
|----------|-------|------|-----------|---------|
| | | (%) | n (%) | |
| Genotype | 4G/4G | 16 | 10 (63) | |
| | | (39) | | |
| | 4G/5G | 21 | 7 (33) | <0.05 |
| | (51) | | | |
| | 5G/5G | 4 | 0 (0) | |
| | | (10) | | |
| Allele | 4G | 53 | 27 (51) | <0.0001 |
| | | (65) | | |
| | 5G | 29 | 7 (24) | |
| | | (35) | | |

4G alleleはPAI-1活性に大きく影響を与えており (Fig. 1 A), SOFA, MODSスコアも4G alleleの存在時に悪化していた (Fig. 1 B, C)。

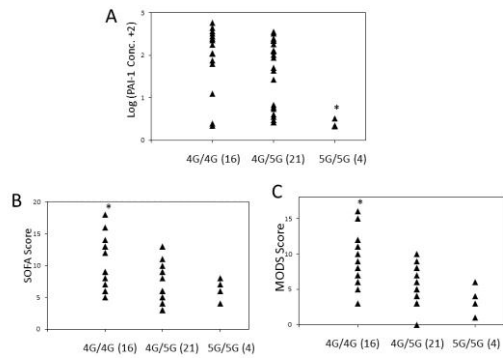


Fig. 1

SOFA, MODS, DIC スコアはPAI-1 活性値と正の相関を示した (Fig. 2)。

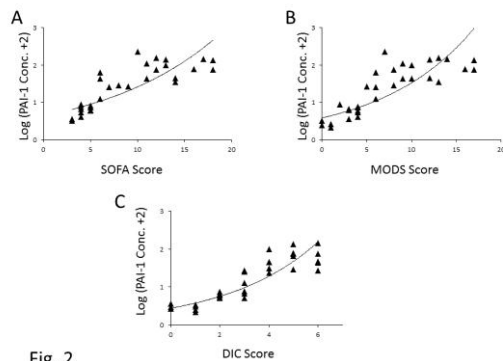


Fig. 2

動脈血液中乳酸値はPAI-1活性値と正の相関を示していた (Fig. 3)。

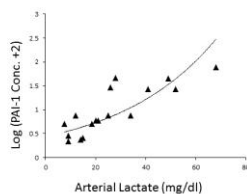


Fig. 3

以上の結果より遺伝子多型のうち4G alleleはPAI-1活性値を高め線溶系を抑制するため微小循環障害を惹起し生存率を下げるのが明らかになった。

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1件)

Huq MA, Takeyama N, Harada M, Miki Y, Takeuchi A, Inoue S, Nakagawa T, Kanou H, Hirakawa A, Noguchi H, 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator-1 gene is associated with multiple organ dysfunction in critically ill patients, *Acta Haematologica*, 有, 127, 2012: 72-80

[学会発表] (計1件)

Huq MA, Takeyama N, Hirakawa A, et al, 4G/5G polymorphism of the PAI-1 gene is associated with multiple organ dysfunction in ICU patients, The 12th joint scientific congress of KSCCM and JSICM, 2012 Feb, Chiba

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武山 直志 (TAKEYAMA NAOSHI)
藤田保健衛生大学・医学部・教授
研究者番号：00155053

