

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23592671

研究課題名(和文)血清・喀痰中のExosomal miRNAを用いたARDSの新規診断・治療戦略

研究課題名(英文)Novel diagnosis and therapy for ARDS by using exosomal miRNA in serum and sputum.

## 研究代表者

鷺島 克之(Sagisima, Katsuyuki)

熊本大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40336235

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：ARDSは重症急性呼吸不全であり有効な薬物治療はない。全ての生命現象は遺伝子発現レベルで制御されるが、microRNAはその発現を負に制御すること(RNA干渉)がノーベル賞授賞(2006年)となった。今回、ARDSに関連するmicroRNAのプロファイルを行い複数の遺伝子を同定することができた。さらに、直接型(肺由来)と間接型(肺外由来)の各ARDSに起因するmicroRNA、ARDS慢性期の線維化に關与するmicroRNA、ARDSの転帰として死亡に起因するmicroRNAを絞り込めた。今後、microRNAの機能解析を基にARDSの病態のメカニズムを明確にし診断治療へとつなげていく。

研究成果の概要(英文)：ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome) is severe acute respiratory failure which has been not effective medicines. All biological phenomenon is regulated by various proteins and RNAs expression. MicroRNA worked as a RNA interference negatively. Great discovery of microRNA was awarded as the Nobel Prize in 2006. In the present study, we identified ARDS related multiple microRNAs was associated about direct ARDS (pulmonary origin) and indirect ARDS (extrapulmonary origin). We also discovered fibrosis related microRNAs in chronic sustained ARDS and its mortality related microRNAs. In our next plans, some clinical results will be confirmed statistically by large number of enrolled patients, and targeting novel microRNAs will be utilized for clinical diagnosis and treatment for ARDS after identification of microRNAs.functions.

研究分野：救急医学

キーワード：ARDS Exosome microRNA Serum Profiling

## 1. 研究開始当初の背景

ARDS(Acute Respiratory Distress Syndrome)は重症急性呼吸不全であり、ARDS Network が推奨する有効な治療法としては、Low Tidal Volume Ventilation や prone position が報告されている(NEJM,2000, 2013)が、薬物治療に関してはステロイドが一部で有効性を示す(controversial)以外、ほとんど有効性はない。ARDS を救命するためには早期診断・治療を行うことが重要であり、新たな診断・治療法の開発が必要である。ARDS 発症には alveolar microenvironment における活性化好中球浸潤による急性炎症が主体となっている。好中球やマクロファージからの cytokines や mediators の産生により肺胞上皮や血管内皮細胞などの周囲組織が傷害を受け、alveolar-capillary barrier の破綻から血管透過性亢進による間質の浮腫が病因である。この急性炎症を制御する観点からの、ステロイド使用や好中球エラスターゼ阻害剤などの創薬が行われてきた。

Non-coding RNA(ncRNA)が、RNA干渉のメカニズム(Nobel Prize,2006)により、転写後の制御を行っていることが分かりmicroRNAとして注目されている。このmicroRNAは生命現象(発生、分化、増殖など)を制御しており、その機能を解明することは重要である。microRNAは、primary miRNA(pri-microRNA)として産生され、核外に輸送され、mature microRNAとなる。その後、RISCが結合し、microRNAの相補性の10-11塩基内でRNAは切断され翻訳を阻害する。

microRNAのターゲット遺伝子は、約100-200以上が存在する。ARDSなどの急性炎症において、生体防御反応としてmicroRNAの発現パターンで炎症を制御し(炎症促進分子を抑制し、抗炎症分子の発現を促進)、ホメオスタシスの維持に貢献している可能性がある。この炎症のターゲット遺伝子群の機能制御を合算した最終的なphenotypeを勘案すると、種々の疾患に対してmicroRNAが新たな治療法になる可能性がある。血清中のmicroRNAの意義については以下の2点が考えられる。

細胞の過剰な増殖分裂に伴い細胞破壊を生じ、その際、血中にmicroRNAが放出された可能性。

細胞から産生されたmicroRNAが、直接細胞外へ放出された可能性が示唆される。

2007年、Valadi Hらは、ヒトとマウスのMast細胞株を用いて、培養上清中のexosome(50-90nm)を精製し、Exosome中に1300種のmRNAと121のmicroRNAが存在することを明らかにし、Exosomeを介した新たなRNAの運搬(情報伝

達)のメカニズムが存在することを示し、これらをExosomal shuttle RNAとした(Nature Cell Biol,2007)。また、2008年、Skog JらはGlioblastomaの患者の手術検体から癌細胞を分離培養し、その培養上清のExosome中の3462種のmRNA発現が元細胞より5倍以上発現が亢進し、microRNAは全体の約17%を占めていた。さらに、健常者と比して患者血清のexosome中にmiR-21が40倍発現していることを明らかにした。Exosome中の蛋白,mRNA,microRNAが他の細胞に運搬され、機能的に制御を受けることを証明した(Nature Cell Biol,2008)。

Pre-microRNAは、exosome内に取り込まれ、細胞膜と癒合の後、細胞外へ放出される。分泌されたexosomeは、標的細胞にendocytosisにて取り込まれ、mature microRNAとなり、mRNAの翻訳制御を行う。このように細胞間でのexosomeを介したmicroRNAの移動・運搬がなされ、細胞間および臓器間での機能制御といった新たなmicroRNAのメカニズムの存在が示唆されている。innate immunityに関する報告として、healthy volunteerにLPSを投与し、血清中のmicroRNAのprofilingを行っている(BBRC,2009)。一方、ARDSに関する研究はなく、血清中のExosomal microRNAが細胞・組織・臓器間のクロストークの中心となっている可能性を明らかにすることは極めて興味深い。

我々はICUへ入室したARDSの患者に対して、Neutrophil Elastase Inhibitor(Sivelestat)の認可前後studyを行った。生存群においてSivelestatは、有意にP/F ratioが改善させた。そのメカニズムの一つとして、喀痰の成分であるMUC5ACの分泌をSivelestatが抑制している可能性が示唆された(unpublished data)。ARDS病態において喀痰の制御が重要な意味を持っているかもしれない。

喀痰からのmicroRNAの同定の報告としては、肺扁平上皮癌患者の15人の喀痰のmicroRNA microarrayにより、癌に特異的なmiR-205, miR-210 and miR-708を同定している (Mod Pathol,2010)。また、肺腺癌患者の痰と組織のprofilingから、腺癌に特異的に発現が亢進したmiR-21, miR-375, miR-200b, と低下したmiR-486の4つのmicroRNAを組み合わせて、肺癌診断の感度・特異度が増加した(Int J Cancer, 2010)。非小細胞癌の患者の痰から、microRNAを分離し、miR-21のROC解析により、感度69.6%、特異度100%と非侵襲的診断とした痰を用いたmiR-21は有効であることが示唆された(Lung cancer, 2010)。以上の肺癌でのstudyで、痰からmicroRNAを精製過程において細胞(上皮細胞、白血球な

ど)の除去行程はない。つまり、癌細胞の微細な混入も踏まえた上での測定結果で、Biomarkerとしてのexosomeの意義については言及していない。これまで、免疫細胞(DC,マクロファージなど)が産生するexosome内に、蛋白、核酸、免疫・アレルギー分子など多くの分子を混入し、細胞間の機能を正・負に制御していることが報告されている(Theory O, Nature Rev Immunol,2009)。また、敗血症(LPS投与murine model)における肺実質組織において種々のmicroRNAの発現変化している(BMCGenomics,2007)。現状としてARDSとmicroRNAやexosomeに関連した報告はない。

以上より、ARDSでの急性炎症状態においては種々のmicroRNAが発現している可能性があり、喀痰中におけるexosomal microRNAの発現profileを明らかにすることは病態のメカニズムを紐解くきっかけになると考える。

## 2. 研究の目的

臨床献体として採取可能な血液や痰に着眼し、その中に安定して存在する Exosomal microRNA を標的とし、ARDSに対しての新たな診断・治療法を開発することを目的とする。

## 3. 研究の方法

健常者とARDSの患者からの血液と痰を採取していく。喀痰には粘液が多いため、ストックは生理食塩水などにて溶解しておく。また、血清、痰の検体中に細胞成分の含有を予防するため、0.45 mmのFilter処理を行う。また、血液は血清・血漿を分離し、血球についてはlymph prepを用いて白血球を分離し lysis bufferにて溶解しておく。Exosomeの精製には、miRCURY Exosome Isolation Kit-Serum and Plasma (Exiqon)を用いて行い、Exosome濃縮サンプルにキャリア RNA(MS2 bacteriophage RNA)およびRNA抽出モニター用のコントロール合成RNAであるUniSP2, UniSp2, UniSp4, UniSp5, RNA template mix (RNA Spike-in kit)を用いた。その後、RNA抽出はmiRNeasy Mini Kit (Qiagen)を用いて行った。各抽出RNAを吸光度測定およびAgilent2100 Bioanalyzerを用いて検定した。Universal cDNA Synthesis Kit II(Exiqon社, Takara code: E23301)を用いて、total RNAから定量PCRの鋳型となる1本鎖cDNA合成を行った。その後、miRCURY LNATM Universal RT microRNA Ready-to-Use PCR panels(Exiqon: 756種類のヒトmicroRNAを標的としたprobeがけくwellに固相化されている。)に鋳型cDNAを注入し、LightCycler® 480 Instrument IIによりPCRによる増幅と解析を行った。

## 4. 研究成果

ARDS患者の血清と気管液を中心に解析を行った。気管支液については、種々の条件での精製のpurityが確保されなかったため、引き続き条件を検討中である。血清からexosomeとmiRNAの精製はBioanalyzerにて十分なpurityを確保することができた。

### 一 次 性 ARDS 関 連 の exosomal microRNA の同定

ARDSの病態において、肺炎などの肺原発の一次性(直接)ARDSが肺外病変からの二次性(間接)ARDSよりも重症化する。これらに関連するmicroRNAの同定を行った。急性期ARDSにおいて、発症から2日以内の血清を用いて、一次性と二次性の比較を行った。以下のmicroRNAが一次性ARDSに著明に発現が亢進していた。

miR-642a-5p, miR-545-3p, let-7b-5p, miR-942-5p, miR-144-5p, miR-142-5p, miR-330-5p, miR-769-5p, miR-409-3p, let-7d-5p, miR-502-5p, miR-451a, miR-584-5p, miR-873-5p, miR-141-3p, miR-363-3.

特に、miR-642a-5p肺原発に起因した炎症に関連しており、死亡にも関与していた。let-7b-5p, miR-942-5p, miR-144-5pも同様な傾向を示しており、今後、患者血清の側定数をふやすことと、その後in-vitro, animal modelなどによる検証を行い、標的microRNAをより明らかにしていく予定である。

### 二 次 性 ARDS 関 連 exosomal microRNA の同定

また、同一患者において、一次性(肺炎)と二次性(尿路感染)のARDSを合併する症例について比較検証を行い、2次性ARDSにて有意に増加するmicroRNAを以下に同定した。miR-1207-5p, miR-23a-5p, miR-940, miR-632, U6 snRNA, miR-450a-5p, miR-145-5p, miR-616-5p, miR-300, miR-223-3p, miR-582-5p, miR-551a, miR-1538, miR-27a-3p, miR-143-3p, miR-99b-3p, miR-194-3p.

肺以外の炎症(特に敗血症)に起因するmicroRNAと二次性ARDSの両者に関連するmicroRNAとしては、miR-632, miR-450a-5p, miR-616-5pがあげられる。さらに症例数を増やし検証し、標的治療となるmicroRNAを絞り込んで行く予定である。

### 肺線維化関連の exosomal microRNA の同定

急性 ARDS の病態が遷延すると慢性期(1 週間移行)に移行し、肺線維化が顕著化し人工呼吸の離脱が困難状態となる。これに関連する microRNA を同定するために、ARDS 発症より 1 週間後の血清を急性期と比較検証を行った。以下に線維期に特異的な microRNA を示した。miR-432-5p, miR-376c-3p, miR-651-5p, miR-134-5p, miR-301a-3p, miR-542-5p, miR-190a-5p, miR-216a-5p, miR-154-5p, miR-483-3p, miR-19b-1-5p, miR-122-5p, miR-98-5p, miR-618, miR-16-2-3p, miR-511-5p。

#### ARDS による死亡関連 exosomal

##### microRNA の同定

重症 ARDS から死亡に起因する可能性のある急性期における microRNA の同定を行うために、ARDS の死亡および生存患者の入室 2 日までの血清の比較を行った。以下に ARDS 死亡に関連する microRNA を示した。

miR-424-5p, let-7f-5p, miR-545-3p, miR-142-5p, miR-942-5p, miR-424-5p, let-7b-5p, miR-873-5p, miR-409-3p, let-7d-5p, miR-769-5p, miR-582-3p, miR-144-5p, miR-502-5p, miR-142-3p。

一次性 ARDS は予後不良であり、肺炎に起因することが多い。したがって、肺炎による敗血症と死亡に両方に起因する microRNA の中で miR-424-5p, miR-873-5p, miR-582-3p, miR-142-3p は特に死亡との強い関連性があり、今後そのメカニズムについて解析し、臨床応用の可能性を追求していく。

#### 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 10 件)

1) Overexpression of microRNA-223 regulates the ubiquitin ligase FBXW7 in oesophageal squamous cell carcinoma. *British Journal of Cancer*, 106 (1), 2012, 182-188. Kurashige J, Watanabe M, Iwatsuki M, Kinoshita K, Saito S, Hiyoshi Y, Kamohara H, Baba Y, Mimori K, Baba H. 査読有

2) Serum microRNA-21 is a novel biomarker in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Surgical Oncology*, 106 (2), 2012, 188-192. Kurashige J, Kamohara H, Watanabe M, Tanaka Y, Kinoshita K, Saito S, Hiyoshi Y, Iwatsuki M, Baba Y, Baba H. 査読有

3) 術前%肺活量が待機的手術後のICU 管

理に影響する. *ICU とCCU*, 36 (2), 2012, 129-134. 廣佐古進, 境恵祐, 鷺島克之, 蒲原英伸, 興相博次, 木下順弘 査読無

4) MicroRNA-200b regulates cell proliferation, invasion, and migration by directly targeting ZEB2 in gastric carcinoma. *Annals of Surgical Oncology*, 19 (Suppl 3), 2012, S656-S664.

Kurashige J, Kamohara H, Watanabe M, Hiyoshi Y, Iwatsuki M, Tanaka Y, Kinoshita K, Saito S, Baba Y, Baba H. 査読有

5) Clinical impact of serum exosomal microRNA-21 as a clinical biomarker in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer*, 119 (6), 2013, 1159-1167. Tanaka Y, Kamohara H, Kinoshita K, Kurashige J, Ishimoto T, Iwatsuki M, Watanabe M, Baba H. 査読有

6) Rapid Response Team (RTT)は院内急変に有用である?, 25, 1220-1230, 2013, 救急・集中治療, 木下順弘. 査読無

7) A validation of presepsin levels in kidney dysfunction patients: four case reports. *Kotera A, Sagishima K, Tashiro T, Niimori D, Kamohara H, Kinoshita Y. J Intensive Care.2(1),2014,63 査読有*  
.doi: 10.1186/s40560-014-0063-2.

8) A resuscitated case of cardiopulmonary arrest due to massive hemoptysis caused by a ruptured thoracic aortic aneurysm. *Kotera A, Iwashita S, Kasaoka S, Okamoto K, Sakaguchi H, Kawasuji M, Sagishima K, Kamohara H, Kinoshita* *Acute Medicine and Surgery*, 2014; 1; 252-253 査読無

9) Electrocardiogram findings of patients with serum potassium levels of nearly 10.0 mmol/L: a report of two cases. *Kotera A, Iwashita S, Kasaoka S, Okamoto K, Sakaguchi H, Kawasuji M, Sagishima K, Kamohara H, Kinoshita Y. 査読有*

*Acute Medicine & Surgery* 1, 2014, 234-237

10) 重症患者における早期経静脈栄養の影響救急医学, 38 (3), 2014, 363-369. 蒲原英伸, 木下順弘. 査読無

(学会発表)(計 29 件)

1) SIRS におけるCXCL-8 の発現の意義とその受容体(CXCR1, CXCR2) を標的とした治療戦略.日本外科学会, 2011年5月25日,震災のため紙面発表. 蒲原英伸, 高橋将史, 石河隆敏, 境恵祐, 廣佐古進, 鷺島克之, 木下順弘, 馬場秀夫

2) OTC 薬(アセトアミノフェンとプロムワレリル尿素) の大量服薬による劇症肝炎に対し、血漿交換・急性血液浄化による救命例の検討。

日本中毒学会, 2011年07月30日, 岡山. 蒲原英伸, 田代貴大, 城野剛充, 鷺島克之, 木下順弘

3) IL-6 による大腸癌細胞の増殖. 浸潤機構とlet7a\_mir146a 発現の意義. 日本消化器外科学会, 2011年07月13日, 名古屋. 蒲原英伸, 蔵重淳二, 木下浩一, 田中洋平, 馬場秀夫

4) 急性・慢性炎症病態下における血清中と白血球中のmicroRNA-21 の発現とその意義. 日本救急医学会, 2011年10月18日, 東京. 蒲原英伸, 田中洋平, 城野剛充, 鷺島克之, 馬場秀夫, 木下順弘

5) Imipenem / Cilastatin による腎障害と薬剤熱をきたした重症急性膵炎の検討. 日本化学療法学会西日本支部会, 2011年11月24日, 奈良. 蒲原英伸, 田代貴大, 城野剛充, 鷺島克之, 木下順弘

6) 食道癌術後の膿胸によるARDS 合併に対してドレナージ・集中治療管理により救命できた症例の検討. 日本外科感染症学会, 2011年12月1日, 三重. 蒲原英伸, 前川愛, 徳永竜馬, 岩槻政晃, 渡邊雅之, 城野剛充, 鷺島克之, 馬場秀夫, 木下順弘

7) 生体侵襲によるIFN $\gamma$  とIP-10 の推移とその意義について, 第39 回日本集中治療医学会, 2012年02月28日, 千葉. 蒲原英伸, 田代貴大, 城野剛充, 鷺島克之, 馬場秀夫, 木下順弘

8) Edwardsiella tarda, E.coli の混合感染による肝膿瘍から敗血症 多臓器不全へと重症化した症例の検討. 日本感染症学会, 2012年04月25日, 長崎. 蒲原英伸, 田代貴大, 城野剛充, 鷺島克之, 木下順弘

9) 難治性全身硬直による呼吸不全から重症化し, 臨床的に驚愕病が疑われた一例. 日本救急医学会, 2012年11月13日, 京都. 蒲原英伸, 田代貴大, 城野剛充, 鷺島克之, 松本史郎, 木下順弘

10) The Role of TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand (TRAIL) in Systemic Inflammatory Response syndrome.: The Impact of TNF-alpha and IFN-gamma in Human Neutrophils. Society of Critical Care Medicine 42nd Annual Congress, 2013年01月19日, Puerto Rico, USA.

Hidenobu Kamohara, Takahiro Tashiro, Takamitsu Johno, Katsuyuki Sagishima, Yoshihiro Kinoshita

11) 食道癌術後、上行結腸の単純潰瘍から敗血症を呈した診断. 治療に苦慮した一例. 第40 回日本集中治療医学会, 2013年03月1日, 松本. 蒲原英伸, 田代貴大, 城野剛充, 鷺島克之, 河野宏明, 木下順弘

12) 高所墜落による重症頭部外傷から救命できた学生の2症例の検討. 日本外傷学会, 2013年05月23日, 福岡. 蒲原英伸, 田代貴大, 城野剛充, 鷺島克之, 河野宏明, 木下順弘

13) 肝移植術後に発症したMRSA による難治性肺化膿症に対して, 多剤抗菌薬が有効であった一例. 日本化学療法学会, 2013年06月5日, 横浜. 蒲原英伸, 新森大佑, 田代貴大, 城野剛充, 鷺島克之, 河野宏明, 木下順弘

14) APRV とVolume View が有効であった輸血関連循環負荷(TACO) の一例. 日本呼吸器療法医学会. 2013年07月20日, 東京. 蒲原英伸, 新森大佑, 田代貴大, 城野剛充, 鷺島克之, 河野宏明, 木下順弘

15) Curcumin protects the chemotaxis of neutrophils through CXCR1 and CXCR2 in systemic inflammatory response syndrome. European society of intensive care medicine, 2013年10月5日, Paris, France. Hidenobu Kamohara, Daisuke Niimori, Takahiro Tashiro, Takamitsu Johno, Katsuyuku Sagishima, Yoshihiro Kinoshita

16) SIRS 患者における高タンパク質消化態流動食の有効性の検討. 日本救急医学会, 2013年10月21日, 東京. 蒲原英伸, 新森大祐, 田代貴大, 鷺島克之, 木下順弘

17) The interaction of discoidin domain receptor 1 (DDR1) with collagen contribute to leukocytes migration and adhesion in systemic inflammatory response syndrome. Society of Critical Care Medicine 43rd Annual Congress, 2014年01月9日, San Francisco, USA. Hidenobu Kamohara, Daisuke Niimori, Takahiro Tashiro, Katsuyuku Sagishima, Yoshihiro Kinoshita

18) 敗血症性ショックに対する胸骨圧迫が原因と思われた肝損傷性の出血性ショックの一例. 第41 回日本集中治療医学会, 2014年02月27日, 京都. 蒲原英伸, 新森大祐, 田代貴大, 鷺島克之, 木下順弘

19) 当院ICU における人工呼吸管理中の経腸栄養チューブ留置についての検討(特に薬物不応性の胃内栄養残存例について). 第41 回日本集中治療医学会, 2014年02月27日, 京都. 蒲原英伸, 新森大祐, 田代貴大, 鷺島克之, 木下順弘

20) 新生児期に MRSA 感染により発症した壊死性気管支炎の一例, 第 118 回日本小児科学会学術集会, 2015 年 4 月 17 日, 大阪市. 坂本理恵子, 木下順弘 他

21) 多発性骨髄腫へのプロテアソーム阻害剤 (Bortezomib) による下痢を契機に敗血症およ

び肺炎をきたした一例, 第 42 回日本集中治療医学会, 2015 年 2 月 9 日, 東京. 蒲原英伸, 新森大祐, 田代貴大, 小寺厚志, 鷺島克之, 木下順弘

22) 炎症局所における血管透過性関連因子が SIRS 病態に与える影響について, 第 42 回日本集中治療医学会, 2015 年 2 月 9 日, 東京. 蒲原英伸, 新森大祐, 田代貴大, 小寺厚志, 鷺島克之, 木下順弘

23) 集中治療室における終末期治療縮小率と病理解剖率の年次推移. 第 42 回日本集中治療医学会, 2015 年 2 月 9 日, 東京. 小寺厚志, 鷺島克之, 蒲原英伸, 木下順弘

24) 人工呼吸離脱後の急性期嚔下りハビリの導入基準としての舌圧測定の有用性. 第 42 回日本集中治療医学会, 2015 年 2 月 9 日, 東京. 小寺厚志, 鷺島克之, 蒲原英伸, 木下順弘

25) 早期の集中治療介入が奏功したインフルエンザ脳症の 1 例. 第 42 回日本集中治療医学会, 2015 年 2 月 9 日, 東京. 鷺島克之, 小寺厚志, 蒲原英伸, 木下順弘

26) 熊本大学病院集中治療室における小児症例の管理について. 第 42 回日本集中治療医学会, 2015 年 2 月 9 日, 東京. 坂本理恵子, 蒲原英伸, 木下順弘

27) 食道癌に対する胸骨後胃管再建術後に心タンポナーデを来した 3 症例. 第 42 回日本集中治療医学会, 2015 年 2 月 9 日, 東京. 田代貴大, 新森大祐, 小寺厚志, 鷺島克之, 蒲原英伸, 木下順弘

28) 妊婦が脳死状態に陥った場合の対応について. 第 27 回日本脳死・脳蘇生学, 2014 年 6 月 28 日, 東京. 木下順弘, 鷺島克之, 蒲原英伸.

29) 本県における救急救命士再教育の取り組み. 第 17 回日本臨床救急医学会, 2014 年 6 月 1 日, 栃木. 木下順弘

〔図書〕(計 8 件)

1) 尿の異常. 214-217, 2013, 標準救急医学改定第 5 版, 医学書院 東京, 木下順弘.

2) 呼吸困難. 38-41, 2013, 救急検査指針・救急検査認定技師テキスト, へるす出版, 木下順弘.

3) 救急医療における治療方針の決定, 70-78, 2013, シリーズ生命倫理学「救急医療」有賀徹・手島豊 編, 丸善出版 東京, 木下順弘.

4) 除草剤・殺虫剤中毒, 636-641, 2013, 集中治療専門医テキスト(電子版), 総合医学社 東京, 木下順弘.

5) 脊髄損傷, 48-49, 2013, 今日の治療指針 2013, 医学書院 東京, 木下順弘.

6) 脳死下臓器提供, 163-164, 2014, 目でみる救命救急医療 杉本侃 監修, 日本臨床社 大阪, 木下順弘.

7) 心停止後症候群と蘇生後脳症, 7-8, 2014, 目でみる救命救急医療 杉本侃 監修, 日本臨床社 大阪, 木下順弘.

8) 救急医療における終末期医療のあり方に関する提言(ガイドライン), 254-257, 2014, Emergency Care, メディカ出版, 木下順弘.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鷺島克之(Sagishima Katsuyuki)

熊本大学・集中治療部・助教

研究者番号: 40336235

### (2) 研究分担者

木下順弘(Kinoshita Yoshihiro)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号: 30195341

蒲原英伸(Kamohara Hidenobu)

熊本大学・大学院生命科学研究部・准教授

研究者番号: 90398222

廣佐古進(Hirosako Susumu)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号: 70432995

境恵祐(Sakai Keisuke)

熊本大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 10433038

### (3) 連携研究者

荒川博文(Arakawa Hirofumi)

国立がんセンター・生物物理部・部長

研究者番号: 70313088