

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23792086

研究課題名(和文) 全身性炎症反応症候群(SIRS)のトリガーとしてのアデノシン3リン酸(ATP)

研究課題名(英文) Plasma ATP triggers inflammation in SIRS

研究代表者

角 由佳(SUMI, YUKA)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：40403084

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：様々な全身性炎症反応症候群(SIRS)で、血中にATPが放出されていることを明らかにした。虚血再灌流障害である心肺蘇生後患者では、死亡群では、生存群に比べ、明らかに血中ATP値が高値を示し、重症度スコアであるAPACHE score と正の相関関係を示した。また、敗血症では、血中ATPが、好中球機能活性の指標であるCD11bと相関した。SIRS患者では、血中に放出されたATPが好中球を活性化し、炎症の惹起に寄与している事が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In systemic inflammatory syndrome response (SIRS) patients, plasma ATP levels were significantly higher than healthy controls (HC). Among SIRS, in post cardiac arrest syndrome (PCAS) patients, that whole-body ischemic reperfusion injury causes inflammation, plasma ATP was higher in non-survivors compared to survivors and HC. Besides, the ATP levels in PCAS correlate with APACHE score. In sepsis patients, neutrophil activation (CD11b expression) was significantly higher than in HC and the mean florescence intensity of CD11b correlates with plasma ATP. These data suggest that ATP release from damaged cells or activated inflammatory cells stimulates neutrophils via ATP receptors and triggers inflammation in SIRS.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：救急医学

キーワード：ATP 炎症反応 好中球 CD11b 心肺蘇生後 敗血症

1. 研究開始当初の背景

全身性炎症反応症候群 (Systemic Inflammatory Response Syndrome; SIRS) は、外傷や敗血症など様々な侵襲によって惹起される全身の炎症であり、サイトカインなどの炎症性メディエーターが血中に放出され、多臓器不全を引き起こす予後不良の病態である。多くの炎症細胞の中でも、活性化された好中球はこの炎症反応において、重要な役割を示している。感染部位あるいは傷害を受けた組織へ活性化された好中球が遊走するには、アデノシン 3 リン酸 (ATP) の放出とそのレセプターが重要な役割を示すことを我々は報告してきた。そこで、*in vitro* で得たこの結果をふまえて、SIRS 病態において、ダメージを受けた細胞から ATP が血中に放出され、その ATP が好中球を刺激し余剰な好中球活性に働いているのではないかと考えた。

2. 研究の目的

敗血症を中心とした SIRS 患者で、血漿中に ATP が放出されているかを明らかにし、その ATP が好中球機能活性に寄与しているのか、患者の重症度と相関しているのか明らかにすること。

3. 研究の方法

SIRS 患者の血漿中の ATP が上昇しているか明らかにする。

測定系を確立 (採血法、部位) し、従来の高感度クロマトグラフィー (HPLC) だけでなく、市販の ATP 迅速検査機器 (ルミノメーター) が運用できるか整合性を確認する。

重症度 (APACHE, SOFA) と血漿 ATP 濃度との相関関係を評価する。

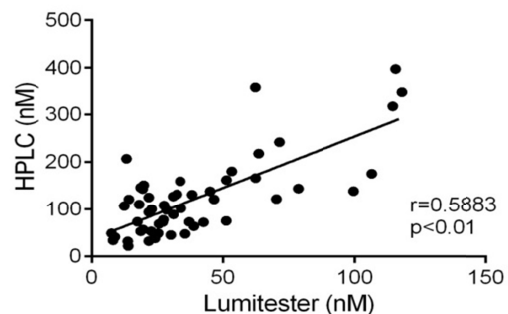
③ フローサイトメトリー (FACS) を用いて、好中球機能 (CD11b 発現) を測定し ATP 濃度との関係を明らかにする。

4. 研究成果

血漿中 ATP 測定法の確立

採血は、機械的刺激による ATP 放出を避けるために、動脈ラインを留置し、愛護的に血液を採取した。元来のクロマトグラフィーと、迅速検査機器 (lumitester) での同時測定 (n=55) を行い、その結果を比較した。クロマトグラフィー (HPLC) と Lumitester の結果は、有意な相関関係を認めたと (Spearman, $r=0.5883$, $p<0.01$ 、図 1) Lumitester の結果の方が、明らかに低値を示した。検体の準備過程で、ATP から ADP, AMP, Adenosine へ変化してしまっていることが示唆された。

図 1. Plasma ATP by methods



この結果を踏まえ、bedside で測れる lumitester の方が簡便であるものの、HPLC で得られた data で解析をすることとした。

SIRS 患者の血漿 ATP 濃度

2011 年 2 月から 2013 年 3 月の 38 人の SIRS 患者 (男性 31 名女性 7 名) を対象として、その血漿中 ATP を HPLC で測定した。その内訳は、敗血症 (Sepsis) 20 名 熱傷 (Burn) 3 名 心肺蘇生後 (PCAS) 15 名であった。コントロールとして、健常者 8 名を対象とした。

図 2. Plasma ATP in SIRS patients

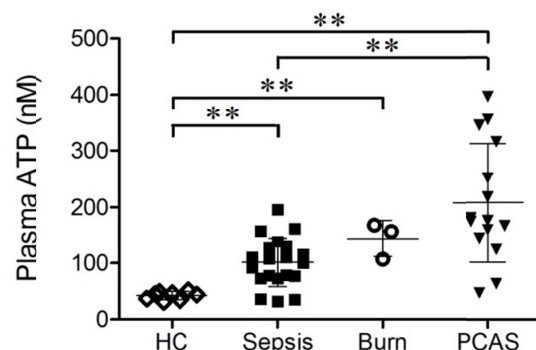


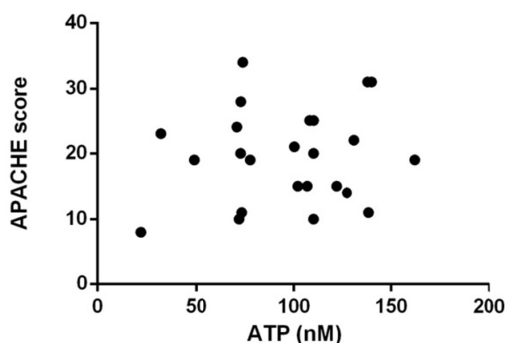
図 2 に示すように、SIRS 患者では、明らかに健常者に比べ血漿中 ATP が高値を示した(図 2. **p<0.01)。

重症度と血漿中 ATP 濃度の関係

敗血症

上記 SIRS 患者の中でも、敗血症(sepsis) 患者に注目し、その重症度、炎症反応と ATP 濃度との関係性を評価した。敗血症患者 20 名(男性 17 名女性 3 名、年齢 63±15 歳)の内訳は、軟部組織感染症 6 名、肺炎 6 名、尿路感染症 3 名、胆道系感染症 2 名であった。起因菌としては、大腸菌、連鎖球菌、クレブシエラなどが検出された。敗血症性ショックを呈したものは、11 名(55%)、DIC を合併したものは 14 名、30 日死亡率は 25%であった。血漿中 ATP 濃度と、重症度スコア APACHE score (図 3.)および SOFA score には、明らかな相関関係を認めなかった。また、炎症の指標である白血球や CRP とも相関関係は認めなかった。

図 3 . Plasma ATP と APACHE score



心肺蘇生後脳症 (PCAS)

一方、全身の虚血再灌流障害である心肺蘇生後脳症の患者 (n=15) では、心拍再開後すぐの血中 ATP と APACHE score には、正の相関関係をみとめた(図 4)。

また、ATP だけでなく、その分解産物 ADP, AMP は、死亡群では生存群および healthy control に比べ、明らかに高値を示すことがわかった(図 5)。

心肺蘇生後脳症において、血漿中の ATP はその予後予測因子となる可能性が示唆された。

図 4. ATP と APACHE score (PCAS 患者)

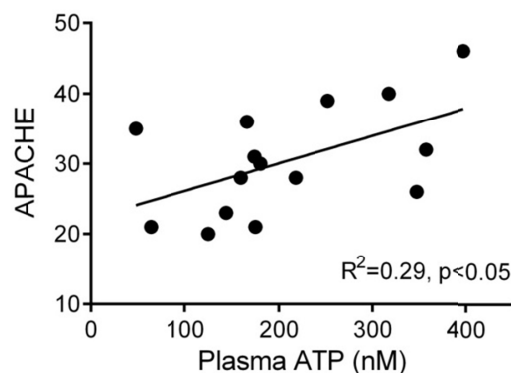
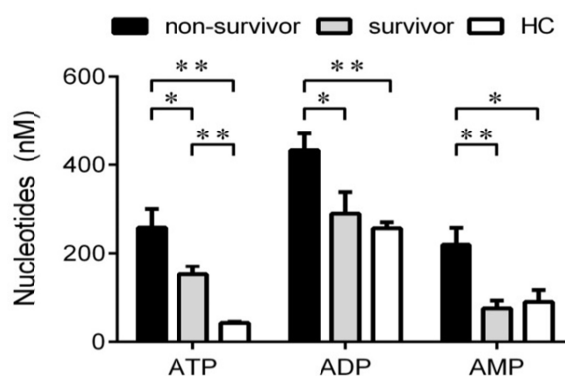


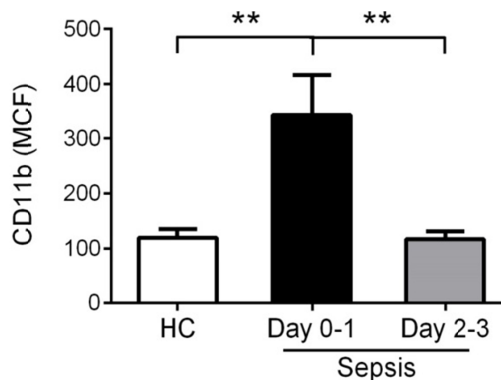
図 5. PCAS 患者の血漿中 ATP, ADP, AMP



③ 好中球機能(CD11b)と ATP の関係

敗血症患者において、好中球活性化の指標である CD11b 発現を、フローサイトメトリーで測定した。(n=13) 敗血症患者では、来院時に明らかに CD11b 発現は、健常者に比べ高値を示し、時間経過とともに改善していることが明らかとなった。(図 6. ** p<0.01)

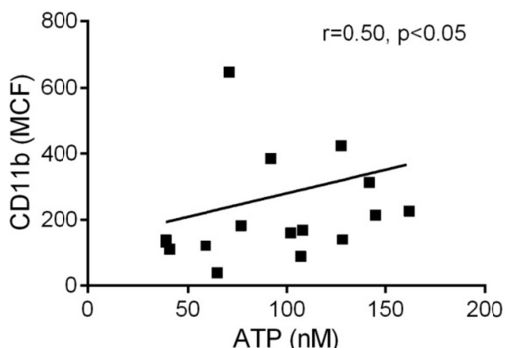
図 6. CD11b 発現の推移 in Sepsis



また、敗血症生存患者の CD11b 発現と ATP の相関関係を検討したところ、有意な正の関係を認めることが明らかとなった(図 7.)

Spearman correlation, $p < 0.05$)

図 7. Plasma ATP と CD11b in Sepsis



このことから、血漿中で上昇した ATP が白血球活性化に寄与していることが示唆された。

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 2 件)

Yuka Sumi, Tobias Woehrle, Yu Chen, Yi Bao, Xiaou Li, Yongli Yao, Yoshiaki Inoue, Hiroshi Tanaka, Wolfgang G Junger. Plasma ATP is required for neutrophil activation in a mouse sepsis model. SHOCK. 2014
Morikawa M, Inoue Y, Sumi Y, Kuroda Y, Tanaka H. Leukocyte deformability is a novel biomarker to reflect sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. Acute Medicine and Surgery. 2014

〔学会発表〕(計 5 件)

角由佳、Plasma ATP in SIRS patients、第 7 回アジア救急医学会 2013 年 10 月 24 日、東京
角由佳、ATP/アデノシンバランスからみた敗血症、第 41 回日本救急医学会 2013 年 10 月 22 日、東京
角由佳 Plasma ATP levels and outcome of sepsis、第 36 回ショック学会 2013 年 6 月 4 日、San Diego、USA
角由佳、Nucleotides as prognostic

factors for post-cardiac arrest syndrome、American Heart Association Scientific Sessions Conference 2012、co-located with the Resuscitation Science Symposium、2012 年 11 月 3 日、Los Angeles、USA

角由佳、血漿中 ATP を経時的に測定した重症急性膵炎の 1 例、第 33 回日本炎症再生学会

2012 年 7 月 6 日、福岡

〔図書〕(計 1 件)

角由佳：へるす出版、救急医学 35、ミトコンドリアとバクテリア 細胞共生説からみる 7: 788-790, 2011.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)
取得状況 (計 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

角由佳 (SUMI Yuka)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号：40403084

(2) 研究協力者

黒田洋子 (KURODA Youko)
順天堂大学・男女共同参画室・派遣社員
Wolfgang Junger
Harvard 大学・教授