

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 29 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23792091

 研究課題名（和文） Ang/Tie2 が関与する敗血症性臓器障害発症機序解明と
その制御法の確立

 研究課題名（英文） To elucidate the pathophysiology of sepsis-associated organ
dysfunction involving the Ang/Tie2 signaling pathway

研究代表者

和田 剛志 (WADA TAKESHI)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：30455646

研究成果の概要（和文）：救急領域で扱う過大生体侵襲に合併する臓器不全の病態解明とその制御法の確立を目指し、主に臨床血液サンプルを用いて VEGF や Ang、それらの受容体などの血管新生関連因子と、敗血症、重症外傷、心停止後症候群に合併する臓器不全との関わりを検討した。特に Ang2 が凝固線溶異常と関連して重要な役割を果たしていることを証明した。この成果は海外 4 学会、国内 6 学会で発表、また英文誌 4 編に発表した。

研究成果の概要（英文）：

The aim of this study was to elucidate the pathophysiology of sepsis-associated organ dysfunction involving the Ang/Tie2 signaling pathway and to establish a new therapeutic strategy for treating critical illnesses, such as sepsis, severe trauma and post-cardiac arrest syndrome. I examined the relationship between organ dysfunction associated with critical illness and angiogenic factors, including VEGF, Ang and their receptors and found that Ang2 plays a pivotal role in the development of organ dysfunction due to coagulofibrinolytic abnormalities. The findings of this study have been presented at six domestic and four international conferences and have also been published by four peer review articles.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：集中治療医学、急性期医学

1. 研究開始当初の背景

Angiopoietin(Ang)は血管内皮細胞に発現している Tyrosine kinase receptor with

immunoglobulin and epidermal growth factor homology domains (Tie2)に結合するリガンドであり、脈管形成や血管形成におい

て重要な役割を果たすことが知られているが、血管内皮細胞における炎症や血管透過性の調節を担っていることがわかってきた。Tie2 のリガンドとして Ang1、Ang2 の 2 つのサブタイプが重要であるが、Ang1 は Tie2 の agonist として作用し Tie2 のリン酸化を誘導することで PI3K pathway を介して抗炎症作用や血管透過性低下の作用をもつものに対して、Ang2 は Tie2 に結合するもののリン酸化は誘導せず Ang1 を拮抗する antagonist として血管内皮細胞における Ang/Tie2、VEGF の関係の作用を持つ。近年、敗血症性ショックの患者で Ang2 の発現が増加していたという報告や、敗血症が引き起こす二次性臓器不全の典型である透過性亢進型肺水腫 (acute lung injury ; ALI/acute respiratory distress syndrome ; ARDS) の症例において Ang1、Tie2 の発現が減少するといった報告が散見されるようになった。Angiopoietin 同様、血管新生・増殖のみならず炎症や凝固線溶系にも関連するとされている血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor; VEGF) は Tie2 を分解し、soluble Tie2 (sTie2) が生成される。sTie2 は Ang1、Ang2 に結合し Tie2 受容体のシグナル伝達を阻害する。Lipopolysaccharide (LPS) 誘発マウス敗血症モデルにおいて Ang1、Tie2 発現が減少する一方、sTie2、Ang2 が増加するといった報告があるように、VEGF は Ang1 の作用を down-regulate する作用がある。しかし逆に Ang1 とともに相乗的に作用し tumor necrosis factor- α (TNF- α)、Interleukin (IL) 1 β 、macrophage inflammatory protein (MIP) 1 α 、MIP2 α など炎症性サイトカインを誘導することがわかっている。以上のように、Ang/Tie2 シグナル伝達系と VEGF は複雑かつ相乗的、あるいは拮抗的に作用することで炎症・凝固線溶反応

に影響しており敗血症性臓器不全発症とその回復過程に深く関わっている可能性が示唆される。

2. 研究の目的

敗血症、重症外傷、心停止後症候群は炎症反応が非特異的に亢進し重症例では disseminated intravascular coagulation (DIC) に到る。DIC では凝固炎症反応が相乗的に作用して臓器不全を引き起こすが、血管透過性亢進による capillary leak syndrome がその病態の一つとして知られている。そこで VEGF、Ang などの血管新生関連因子が炎症・凝固炎症反応を介して救急集中治療領域で扱う過大侵襲病態に合併する臓器不全に密接に関わっているという仮説を証明し、その制御による予後改善の可能性を探ることを目的とした。

3. 研究の方法

in vivo 実験：ラット LPS 誘発敗血症モデルを作成し、適切なタイミングで採血、さらに犠牲死させ肺を摘出し下記に示すような方法で臓器不全を確認し、炎症・凝固線溶系データを解析することで敗血症、さらにそれに伴う DIC における臓器不全発症と Ang/Tie2 の関連を明らかにする。

臨床研究：日本救急医学会 sepsis registry に準じて敗血症症例の血液検体採取とバイタルサイン、血液データ、SOFA スコア、APACHE II スコアなどデータ集積を行う。また同様に、重症外傷 (ISS>9)、心停止後症候群患者のデータを採取し、解析を行う。

4. 研究成果

①臨床データから Ang2 が臓器不全に大きく関わっていることが判明し、抗 Ang2 抗体投与による臓器不全改善を確認しようと考え

ていたが、同様の研究を予定している他グループに薬剤提供することが決まっており、提供を受けることができなかった。今後は、現在敗血症治療薬として広く投与されているトロンボモジュリン製剤が、Ang/Tie2系に影響を及ぼし臓器不全を改善する、という仮説を証明する実験を検討している。また血管新生関連因子や PAI、トロンビンなどを制御する hypoxic-inducible factor-1 α (HIF-1 α) を生体侵襲に合併する臓器不全の治療ターゲットとしての可能性を探ることを検討している。

②すべての生体侵襲において Ang2 が凝固線溶異常、臓器不全発症に深く関わっていることを証明した。

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 4 件)

1) Wada T, Satoshi Gando, Asumi Mizugaki, Yuichiro Yanagida, Subrina Jesmin, Hiroyuki Yokota, Masahiro Ieko: Coagulofibrinolytic changes in patients with disseminated intravascular coagulation associated with post-cardiac arrest syndrome— Fibrinolytic shutdown and insufficient activation of fibrinolysis lead to organ dysfunction. Thromb Res. 2013 in press (査読あり)

2) Wada T, Jesmin S, Gando S, Yanagida Y, Mizugaki A, Sultana SN, Zaedi S, Yokota H: The role of angiogenic factors and their soluble receptors in acute lung injury(ALI)/acute respiratory distress syndrome (ARDS) associated with critical illness. J Inflamm (Lond)2013, 10: 6

10.1186/1476-9255-10-6 [doi] (査読あり)
3) Wada T, Jesmin S, Gando S, Yanagida Y, Mizugaki A, Sultana SN, Zaedi S, Yokota H. Angiogenic factors and their soluble receptors predict organ dysfunction and mortality in post-cardiac arrest syndrome. Crit Care 2012, 16:R171 10.1186/cc11648 [doi] (査読あり)

4) Wada T, Jesmin S, Gando S, Sultana SN, Zaedi S, Yokota H. Using angiogenic factors and their soluble receptors to predict organ dysfunction in patients with disseminated intravascular coagulation associated with severe trauma. Crit Care 2012, 16:R63 10.1186/cc11309 [doi] (査読あり)

[学会発表] (計 10 件)

1) Takeshi Wada, Jesmin Subrina, Satoshi Gando, Hiroyuki Yokota: Angiogenic factors and their soluble receptors predict organ dysfunction and mortality in post-cardiac arrest syndrome (PCAS). Society of Critical Care Medicine' s 42nd Critical Care Congress, Puerto Rico, 2013

2) 和田剛志、東山明日美、ジェスミン・サブリーナ、横田裕行: 生体侵襲下臓器障害と血管新生関連因子の連関 - 播種性血管内凝固症候群(DIC)との関わり - . 第40回日本救急医学会総会・学術集会, 京都, 2012 (シンポジウム)

3) Takeshi Wada, Subrina Jesmin, Satoshi Gando, Yuichiro Yanagida, Asumi Mizugaki, Hiroyuki Yokota: Angiogenic factors and their soluble receptors in acute lung injury (ALI)/acute respiratory distress syndrome (ARDS) in critically ill patients.

25th European Society of Intensive Care Medicine LIVES2012 Congress, Lisboa, 2012 (oral)

4) 和田剛志、早川峰司、東山明日美、ジェスミン・サブリーナ、丸藤哲、横田裕行：外傷における好中球エラスターゼによるフィブリン分解. 第 25 回日本外傷学会総会・学術集会, 東京, 2012 (一般演題口演)

5) 和田剛志、東山明日美、ジェスミン・サブリーナ、丸藤哲、横田裕行：心停止後症候群における血管新生関連因子の役割. 第 27 回 SHOCK 学会, 東京, 2012

6) Takeshi Wada, Subrina Jesmin, Satoshi Gando, Sayeeda Nusrat Sultana, Sohel Zaedi, Hiroyuki Yokota: Angiogenic factors and their soluble receptors in patients with DIC associated with severe trauma: 32nd International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine, Brussels, 2012 (poster)

7) 和田剛志、ジェスミン・サブリーナ、丸藤哲、横田裕行：外傷性 DIC 病態における血管新生関連因子の関与. 第 16 回エンドトキシン血症救命治療研究会, 東京, 2012 (一般演題口演)

8) 和田剛志、丸藤哲：外傷患者における VEGF 発現と凝固線溶反応. 第 38 回日本集中治療医学会学術集会, 東京, 2011 (一般演題ポスター)

9) 和田剛志、ジェスミン・サブリーナ、丸藤哲、横田裕行：外傷患者における血管新生関連因子と凝固線溶反応. 第 39 回日本救急医学会総会・学術集会, 東京, 2011 (一般演題口演)

10) Takeshi Wada, Subrina Jesmin, Sohel Zaedi, A.M. Shahidul Islam, S. Nusrat Sultana, Yoshio Iwashima, Naoto Yamaguchi, Michiaki Hiroe, Satoshi Gando. **Hiroyuki**

Yokota: Time-dependent alterations of VEGF and its signaling molecules in acute lung injury in a rat model of sepsis. 24th European Society of Intensive Care Medicine LIVES2011 Congress, Berlin, 2011 (oral)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和田 剛志

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：30455646