

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293369

研究課題名(和文) Compromised hostへの重度侵襲対策

研究課題名(英文) Management against surgical stress in compromised hosts

研究代表者

木下 学 (Kinoshita, Manabu)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究・その他部局等・准教授)

研究者番号：70531391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：Compromised hostsでは侵襲時の貪食細胞の活性酸素や炎症性サイトカイン産生が亢進し、その制御で臓器障害が軽減したが、これらは菌排除や肝再生にも重要であった。肝には菌排除に重要な肝固有とTNF-FasL系で肝障害を起こす骨髄由来の2つのクッパー細胞があり、compromised hostsでは前者が減少、後者が増加し感染と臓器障害が増悪したことからクッパー細胞の亜型と機能の正常化が肝要と考えた。また、ナノシートの創傷被覆効果を検討し、銀ナノ粒子担持の抗菌ナノシートを開発した。凝固障害を伴う大量出血時の止血ナノ粒子による止血や、光線力学療法の免疫賦活作用を利用した感染対策も検討した。

研究成果の概要(英文)：Compromised hosts enhanced productions of ROS and proinflammatory cytokines against surgical stress. Regulation of such inflammatory responses improves organ damage but these responses are beneficial for bacterial elimination and liver regeneration. Resident Kupffer cells (KC) are important for bacterial elimination while bone marrow-derived recruiting KC are involved in TNF-FasL-mediated hepatic injuries. Compromised hosts showed decreased resident KC but increased recruiting KC, leading to exacerbation of infection and organ injury. Restoration of KC phenotypic alteration and their functions are crucial for management against surgical stress. We also investigated the efficacy of nanosheet for sealing and stopping massive hemorrhage and developed the antimicrobial silver-loaded nanosheet. We examined the efficacy of hemostatic nanoparticles against massive hemorrhage with coagulopathy and also investigated the immunostimulative effect of photodynamic therapy in mouse MRSA arthritis.

研究分野：侵襲免疫学

 キーワード：compromised hosts 外科侵襲 クッパー細胞 レスベラトロール ursodeoxycolic acid ナノシート  
止血ナノ粒子 光線力学療法

## 1. 研究開始当初の背景

(1) Compromised host の最大の特徴は易感染性であり、多発外傷や熱傷、大量出血など重度侵襲後の compromised host の病態では感染対策が重要となる。私達は、重度侵襲後に生体防御能が複合的な機能不全に陥り易感染性となること、その対策として多彩な免疫賦活作用がある IL-18(発表論文 20 review)や貪食細胞機能を亢進させる CRP の有用性を報告してきた。一方、加齢生体では毒素や細菌に対する生体防御能が低下し、高血糖や高脂肪高コレステロール食摂取マウスでも感染刺激への生体防御能が低下していた。このように外科的内科的いずれの要因による compromised host でも感染を含めた侵襲刺激に対する生体防御能の低下が問題となっている。

(2) 一方、私達は侵襲自体の軽減対策として、ナノテクノロジーなどの先進技術を用いた治療対策も進めてきた。接着剤なしにあらゆる創面を被覆可能な、厚さが細胞膜と同程度の超極薄膜ナノシートを開発し、外傷性肺損傷や消化管穿孔、熱傷創の被覆治療に用いて来た。さらに抗生剤担持ナノシートを開発したが、消化管穿孔部や熱傷創部の感染防御に有用であった(発表図書 1)。また、ヘモグロビンをナノサイズのリポソームで内包した人工赤血球や同様にナノサイズのリポソームで出来た血小板止血機能を代替する止血ナノ粒子を開発し大量出血時の有用性を報告して来た。光線力学療法(PDT)を難治性感染の治療に応用し、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の関節炎に対しても PDT が有効であること、これには光増感剤の選択が重要なことを報告して来た。これらの新規治療法は侵襲軽減のみならず、生体防御能にも影響を与えることが示唆され、これを如何に有効に賦活化出来るかが compromised host 対策の鍵になると考えられる。

## 2. 研究の目的

(1) Compromised host での免疫制御による抗ショック、重症感染症対策

重度外科侵襲後や糖尿病・高脂血症等呈した生体では生体防御能が低下し(compromised hosts)、炎症性サイトカインや活性酸素(reactive oxygen species, ROS)が過剰産生され、これが多臓器障害をもたらす。そこでまず重度侵襲時のこれら炎症応答の制御対策を検討する。しかしながら炎症抑制は菌貪食などの異物排除を減弱させることが懸念される。これらの病態変化やその制御にはマクロファージが深く関与するがその機能解析を行い、compromised hosts での炎症応答抑制と菌貪食能亢進を促すような治療対策を検討する。

(2) ナノ技術を用いた侵襲軽減化対策

ナノシートによる血管損傷部の被覆止血や創傷治癒促進効果を検討し、さらに抗生剤に依らない新しい抗菌ナノシートを開発を検討する。血小板代替機能を有する止血ナノ粒子に注目し、臨床を模した凝固障害時の止血対策を検討する。PDT による感染対策では、PDT の免疫賦

活作用による新しい重症感染対策を検討する。

## 3. 研究の方法

(1) Compromised host での免疫制御による抗ショック、重症感染症対策

敗血症例での制御性 T 細胞による免疫抑制と Polymyxin B-immobilized fiber (PMX)による対策をまず検討する。次に侵襲時に発生する ROS を Superoxide dismutase (SOD)や新規合成抗酸化剤 polythiol-containing recombinant mannosylated-albumin (SH-Man-HAS)で制御して臓器障害が軽減出来るかをマクロファージ機能に着目し検討する。また、グルココルチコイド受容体(GR)などの核内受容体を刺激することで炎症応答を制御し、感染性・非感染性の侵襲による臓器障害への影響を検討する。さらに肝固有と骨髄由来の 2 つのクッパー細胞に着目し、TNF-FasL 系を介した肝傷害機序、高脂血症時の肝傷害機序、および抗酸化剤であるレスベラトロールの効果を検討する。また生体防御における炎症抑制と菌貪食能亢進を念頭に合成 CRP によるヒト末梢血単核球(PBMC)への影響、LPS tolerance による重症感染症の制御も検討する。

(2) ナノ技術を用いた侵襲軽減化対策

家兔の下大静脈に 1 cm 弱の裂傷を作製し、ナノシートによる被覆閉鎖で止血を試みる。また、マウスに皮膚欠損を作製してナノシートで被覆し創傷治癒への影響をみる。さらに抗生剤に依らない抗菌作用を期待し、銀ナノ粒子を担持させたナノシートを開発を行う。止血ナノ粒子に関して、実臨床を念頭にした急性血小板減少による易出血性病態の家兔での肝臓器出血に対してダメージコントロール処置との併用による止血ナノ粒子での止血救命効果や、大量出血時の赤血球大量輸血による希釈性凝固障害を呈したラットでの止血ナノ粒子投与時の体内動態の変化や反復投与の影響などを検討する。さらに PDT の感染対策として抗生剤併用が免疫賦活に与える影響をマウス MRSA 関節炎モデルで検討し、また PDT の免疫賦活化の機序に関して培養細胞を用いて検討する。

## 4. 研究成果

(1) 敗血症時の制御性 T 細胞と PMX での除去  
敗血症患者では制御性 T 細胞(CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>)が増加し、IL-10、IL-6、TGFβも上昇を認めて免疫抑制状態に陥っていたが、septic shock を呈した患者ではこれらの変化がより顕著であった。PMX 治療で制御性 T 細胞が減少し IL-10、IL-6、TGF-βも低下したが、PMX による免疫抑制状態の改善が患者予後と関連していた(発表論文 24)。

(2) ROS 制御による臓器障害軽減策

侵襲時にはマクロファージから ROS が産生され臓器障害を惹起する。私達は ROS 除去作用を持つ SH 基を多く付けたアルブミンを合成し、これが肝クッパー細胞のマノース受容体(CD206)と結合するような化合物(SH-Man-HAS)を新規に開発した。SH-Man-HAS の投与でクッ

パー細胞の ROS 産生が傷害に関与するようなマウスの Concanavalin-A (Con-A) 肝炎や acetoaminophen 肝炎が軽減し、その有用性が示唆された(発表論文 12)。また熱傷で発生した ROS でも生体防御能が傷害されたが、マウスにおいて熱傷時に発生する ROS を SOD の前投与で消去しても熱傷後の好中球機能不全は改善しなかった。しかし熱傷 1 時間後に SOD を投与し熱傷後に発生する ROS を消去すると好中球機能が改善し感染予後も改善した。侵襲時に発生する ROS は生体が侵襲に適応するのに必要な警告サインでもあり、生体防御に有用な一面も有すると考えられた(発表論文 7)。

(3) グルココルチコイド受容体(GR)等の核内受容体の刺激による炎症応答制御

侵襲時は ROS だけでなく炎症性サイトカインも過剰発生し臓器傷害を惹起する。マウスに 5% ursodeoxycholic acid (UDCA) 含有食を摂取させると肝単核球の GR 発現が増強し、Con-A や LPS 刺激による炎症性サイトカイン産生が抑制され肝障害が軽減した。しかし、大腸菌感染時の菌排除にはクッパー細胞の貪食能を活性化するような炎症刺激が重要で、UDCA 摂取マウスではこれが作動せず感染が増悪した(発表論文 18)。

(4) 肝固有と骨髄由来の 2 つのクッパー細胞とこれら細胞の肝再生や肝障害への関与

マウスのクッパー細胞には CD68 陽性(肝固有)と CD11b 陽性(骨髄由来)の他に、CD32 陽性の肝固有クッパー細胞が存在していた。肝固有のクッパー細胞は菌排除を、骨髄由来のクッパー細胞は腫瘍の排除を主に担当しており、同様の亜型がヒト肝でも存在した(発表論文 17)。また、骨髄由来のクッパー細胞は肝切除後の肝再生を促進する一方で(発表論文 14)、CCl<sub>4</sub> の肝傷害にも関与しており(発表論文 15)、これらはいずれも TNF-FasL 系を介していた。マウスの高脂肪食等による脂肪肝でも骨髄由来クッパー細胞が増加・活性化しており、TNF-FasL 系を介した CpG-ODN や  $\alpha$ -GalCel の肝傷害を増悪させていた(発表論文 26)。このようなマウスの食事性脂肪肝では脂肪滴の細胞内取り込みに関与する adipose differentiation-related protein (ADFP) が増加していたが、レスベラトロールの摂取で ADP が減少し、かつ肝固有の CD68<sup>+</sup>クッパー細胞の増加と脂肪肝の改善が認められた(発表論文 10)。

(5) 合成 CRP や LPS トレランスによる炎症制御と貪食細胞活性化

侵襲時の生体では ROS や炎症性サイトカインの産生亢進とクッパー細胞などマクロファージの貪食能低下が起こっていた。合成 CRP はマウスで炎症応答の抑制とクッパー細胞の貪食能亢進効果を認めたが、ヒトでも同様の効果があるか PBMC を用いて検討した。合成 CRP の添加刺激は LPS や CpG、OK432 などの菌体成分刺激による PBMC の炎症性サイトカイン産生を抑制する一方で、CD56<sup>+</sup>NK 細胞の抗腫瘍活性を増強する効果があった(発表論文 22)。しかし末梢血から採取した単球での貪食能増強効果は

明らかでなかった。また、マウスに LPS 5 $\mu$ g/kg を 3 回投与すると致死量の LPS 投与でも 100% の生存率と TNF や IFN- $\gamma$  の顕著な産生抑制を認め LPS トレランスが誘導出来た。本マウスに致死量の腸菌を投与しても LPS 投与と同様に 100% の生存率と TNF や IFN- $\gamma$  の顕著な産生抑制を認めた。LPS トレランスでは骨髄由来のクッパー細胞が増加し、これら細胞では TNF 産生能が抑制されるものの殺菌活性が顕著に増強し感染抵抗性が誘導され、重症感染対策への有用性が示唆された(論文投稿中)。

(6) ナノシートによる被覆治療と銀担持ナノシートの開発

家兔の下大静脈に 1 cm 弱の裂傷を作製しナノシートで被覆した。ナノシートの 1 枚貼りでは 6 羽中 2 羽の止血に留まったが、ナノシートを創部に重ね貼りすることで耐圧能が増し、4 枚までの重ね貼りで全例を止血出来た。さらに 1 ヶ月後の修復部にはほとんど癒着がなく、ナノシートの炎症抑制効果が示唆された(発表論文 19)。しかし炎症抑制作用により組織修復の遅延が懸念される事から、マウスに皮膚欠損を作製しナノシートの被覆による創傷治癒への影響をみた。予想に反してナノシートがコラーゲン線維に富む健全肉芽組織の再生を誘導し、創傷治癒を促進することが分かった(発表論文 25)。外傷時の組織損傷部へのナノシートを用いた被覆治療では常に感染の危険がある。既に私達は抗生剤のナノシートへの担持に成功しているが、今回は銀ナノ粒子の抗菌作用に着目しナノシートへの担持を検討した。キトサンとアルギン酸の交互積層法で作製したナノシートに光還元法で銀ナノ粒子を付着させたり(発表論文 9)、2 層のポリ乳酸(PLA)で作製したナノシートの間に銀ナノ粒子を挟み込むなどして(発表論文 6)、銀担持ナノシートを開発し、MRSA などの薬剤耐性菌に対して抗菌効果を有することを熱傷後感染マウスなどで確認した。

(7) 止血ナノ粒子による coagulopathy を伴う出血時の止血制御

家兔において循環血液量に相当する量の脱血と赤血球成分の返血を繰り返して急性血小板減少病態を作製し、肝損傷を加えて致死性の臓器出血モデルを作った。肝損傷部に対する圧迫止血処置を行いつつ止血ナノ粒子を経静脈内投与したが、止血ナノ粒子は出血部位に集積し血小板血栓形成を促進していた。これにより致死性の臓器出血が制御され止血救命効果が得られた(発表論文 13)。また、ラットで大量赤血球輸血による希釈性 coagulopathy を作製し、止血ナノ粒子の投与時の動態をみたが、リポソーム成分等は健全ラットと同様に代謝されることが分かり、反復投与でも同様の結果であった(発表論文 5)。

(8) PDT による感染対策時の抗生剤併用の影響と免疫賦活効果の機序解析

難治性の MRSA 関節炎モデルでの PDT 治療の有用性を報告して来たが、今回は抗生剤との併用効果を検討した。MRSA に有効とされるバンコマイシンやリネゾイドを併用したが、PDT

単独治療が最も効果があった。PDT による好中球遊走を含めた免疫賦活効果がこれら抗生剤との併用で減弱しており注意を要した(発表論文23)。培養細胞での研究だが、PDT で繊維芽細胞が活性化しマクロファージの CXC ケモカインや炎症性サイトカインの産生を誘導することが分かり、好中球が PDT 治療局所へ集積する機序の一端が分かった(発表論文4)。

#### <引用文献>

Inatsu A, Kinoshita M, Nakashima H et al. Novel mechanism of C-reactive protein for enhancing mouse liver innate immunity. *Hepatology* 49:2044-54, 2009.

Shono S, Nakashima H, Miyazaki H, Kinoshita M et al. The immunologic outcome of enhanced function of mouse liver lymphocytes and Kupffer cells by high-fat-cholesterol diet. *Shock* 36; 484-93, 2011.

Saito A, Miyazaki H, Kinoshita M et al. Therapeutic efficacy of an antibiotic-loaded nanosheet in a murine burn-wound infection model. *Acta Biomater* 8:2932-40, 2012.

Nishikawa K, Hagsisawa K, Kinoshita M et al. Fibrinogen gamma-chain peptide-coated, ADP-encapsulated liposomes rescue thrombocytopenic rabbits from non-compressible liver hemorrhage. *J Thromb Haemost* 10:2137-48, 2012.

Tanaka M, Kinoshita M et al. Optimal photosensitizers for photodynamic therapy of infections should kill bacteria but spare neutrophils. *Photochem Photobiol* 88:227-32, 2012.

Kinoshita M et al. Characterization of two F4/80-positive Kupffer cell subsets by their function and phenotype in mice. *J Hepatol* 53:903-10, 2010.

#### 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38件)

1. Hinoki A (1/6), Kinoshita M (3/6), Saitoh D (5/6), Takeoka S (6/6). Poly lactic acid nanosheet prevents postoperative intestinal adhesion but does not affect bacterial propagation in mice. *Br J Surg* (in press) doi: 10.1002/bjs.10122.
2. Hagsisawa K (1/13), Kinoshita M (2/13), Miyazaki H (5/13), Takeoka S (6/13), Seki S (9/13), Saitoh D (11/13), Handa M (13/13). Fibrinogen  $\gamma$ -chain peptide-coated, ADP-encapsulated liposomes rescue mice from lethal blast lung injury via adenosine signaling. *Crit Care Med* (in press).  
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=27054893](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=27054893)
3. Miyawaki H (1/10), Saitoh D (2/10), Hagsisawa

- K (3/10), Kinoshita M (6/10). Catecholamine vasomotive effect rescue mice with blast lung injury caused by laser-induced shock wave in super acute phase. *Int Care Med Exp*3; 32, 2015. doi: 10.1186/s40635-015-0069-7.
4. Zulaziz N (1/10), Kinoshita M (6/10), Miyazaki H (7/10), Saitoh D (8/10), Morimoto Y (10/10). Photodynamic therapy mediates innate immune responses via fibroblast-macrophage interactions. *Hum Cell* 28; 159-66, 2015, doi: 10.1007/s13577-015-0118-2.
5. Hashimoto M (1/11), Kinoshita M (5/11), Nishikawa K (6/11), Takeoka S (7/11), Handa M (9/11). Pharmacokinetic properties of single and repeated injection of liposomal platelet substitute in a rat model of red blood cell transfusion-induced dilutional thrombocytopenia. *J Pharm Sci* 104; 3968-76, 2015. doi: 10.1002/jps.24607.
6. Ito K (1/8), Miyazaki H (4/8), Kinoshita M (5/8), Saitoh D (6/8), Takeoka S (8/8). Sustainable antimicrobial effect of silver sulfadiazine-loaded nanosheets on infection in a mouse model of partial-thickness burn injury. *Acta Biomaterialia* 24; 87-95, 2015 doi: 10.1016/j.actbio.2015.05.035.
7. Miyazaki H (1/5), Kinoshita M (2/5), Ono S (3/5), Seki S (4/5), Saitoh D (5/5). Burn-evoked reactive oxygen species immediately after injury are crucial to restore the neutrophil function against postburn infection in mice. *Shock* 44; 252-7, 2015 doi: 10.1097/SHK.000000000000404.
8. Yoshida K (1/11), Kinoshita M (4/11), Ono S (8/11), Seki S (9/11). CD47 is an adverse prognostic factor and a therapeutic target in gastric cancer. *Cancer Medicine* 4; 1322-1333, 2015. doi: 10.1002/cam4.478.
9. Ito K (1/8), Miyazaki H (4/8), Kinoshita M (5/8), Saitoh D (6/8), Takeoka S (8/8). Development of a ubiquitously transferrable silver-nanoparticles-loaded polymer nanosheet as an antimicrobial coating. *J. Biomed. Mater Res Part B* 104; 585-93, 2016. doi: 10.1002/jbm.b.33429.
10. Nishikawa K (1/11), Kinoshita M (3/11), Seki S (10/11). Resveratrol increases CD68<sup>+</sup> Kupffer cells co-localized with adipose differentiation-related protein (ADFP) and ameliorates high-fat-diet-induced fatty liver in mice. *Mol Nutr Food Res* 59; 1155-1170, 2015 doi: 10.1002/mnfr.201400564.
11. Sato T (1/9), Kinoshita M (2/9), Saitoh D (7/9), Seki S (8/9). Treatment of irradiated mice with high-dose ascorbic acid reduced lethality. *PLoS ONE* 10: e0117020, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0117020.
12. Maeda H (1/12), Kinoshita M (8/12). Polythiol-containing, recombinant

- mannosylated- albumin is a superior CD68<sup>+</sup>/CD206<sup>+</sup> Kupffer cell-targeted nano-antioxidant for the treatment of two acute hepatitis models. *J Pharmacol Exp Ther* 352; 244-257, 2015. doi: 10.1124/jpet.114.219493.
13. Hagisawa K (1/12), Nishikawa K (2/12), Kinoshita M (4/12), Saitoh D (8/12), Seki S (9/12), Takeoka S (10/12), Handa M (11/12). Treatment with fibrinogen  $\gamma$ -chain peptide-coated, ADP-encapsulated liposomes as an infusible haemostatic agent against active liver bleeding in acute thrombocytopenic rabbits. *Transfusion* 55; 314-25, 2015. doi: 10.1111/trf.12829.
  14. Nishiyama K (1/8), Nakashima H (2/8), Kinoshita M (4/8), Seki S (7/8). Mouse CD11b<sup>+</sup> Kupffer cells recruited from bone marrow accelerate liver regeneration after partial hepatectomy. *PLoS ONE* 10: e0136774, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0136774.
  15. Sato A (1/7), Nakashima H (2/7), Kinoshita M (6/7), Seki S (7/7). Involvement of the TNF and FasL produced by CD11b Kupffer cells/macrophages in CCl<sub>4</sub>-induced acute hepatic injury. *PLoS ONE* 9: e92515, 2014 doi: 10.1371/journal.pone.0092515.
  16. Ito Y (1/8), Kinoshita M (2/8), Saitoh D (6/8), Seki S (7/8). A combination of pre- and post-exposure ascorbic acid rescues mice from radiation-induced lethal gastrointestinal damage. *Int J Mol Sci* 14; 19618-35, 2014. doi: 10.3390/ijms141019618.
  17. Ikarashi M (1/9), Nakashima H (2/9), Kinoshita M (3/9), Miyazaki H (6/9), Seki S (9/9). Distinct development and functions of resident and recruited liver Kupffer cells/macrophages. *J Leukocyte Biol* 94; 1325-36, 2013. doi: 10.1189/jlb.0313144.
  18. Takigawa T (1/10), Miyazaki H (2/10), Kinoshita M (3/10), Ono S (7/10), Saitoh D (8/10), Seki S (9/10). Glucocorticoid receptor-dependent immunomodulatory effect of ursodeoxycholic acid on liver lymphocytes in mice. *Am J Physiol-Gastr L* 305; G427-38, 2013. doi: 10.1152/ajpgi.00205.2012.
  19. Hagisawa K (1/8), Kinoshita M (3/8), Takeoka S (8/8). Effective control of massive venous bleeding by “multi-overlapping therapy” using polysaccharide nanosheets in rabbit inferior vena cava injury model. *J Vasc Surg: Venous and Lymphatic Disorders*. 1; 289-297, 2013. [http://www.jvsvenous.org/article/S2213-333X\(13\)00047-4/fulltext](http://www.jvsvenous.org/article/S2213-333X(13)00047-4/fulltext)
  20. Maemura T (1/3), Kinoshita M (3/3). Tissue Engineering of the Stomach. *J Surg Res* 183; 285-295, 2013. doi: 10.1016/j.jss.2013.02.032.
  21. Kinoshita M, Miyazaki H, Ono S, Seki S. Immunoenhancing therapy with interleukin-18 against bacterial infection in immune-compromised hosts after severe surgical stress. *J Leukocyte Biol* 93; 689-98, 2013. doi: 10.1189/jlb.1012502.
  22. Sato A (1/8), Nakashima H (2/8), Kinoshita M (3/8), Seki S (8/8). The effect of synthetic C-reactive protein on the in vitro immune response of human PBMCs stimulated with bacterial reagents. *Inflammation* 36; 781-92, 2013. doi: 10.1007/s10753-013-9604-4.
  23. Tanaka M (1/11), Morimoto Y (5/11), Kinoshita M (6/11), Seki S (9/11). Linezolid and vancomycin decrease the therapeutic effect of methylene blue-photodynamic therapy in a mouse model of MRSA bacterial arthritis. *Photochem. Photobiol.* 89; 679-82, 2013. doi: 10.1111/php.12040.
  24. Ono S (1/10), Kinoshita M (6/10), Miyazaki H (7/10), Saitoh D (10/10). Removal of increased circulating CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells in patients with septic shock using hemoperfusion with polymyxin B-immobilized fibers. *Surgery* 153: 262-71, 2013. doi: 10.1016/j.surg.2012.06.023.
  25. Aoki S (1/8), Kinoshita M (2/8), Miyazaki H (3/8), Takeoka S (7/8), Saitoh D (8/8). Application of poly-L-lactic acid nanosheet as a material for wound dressing. *Plast Reconstr Surg* 131; 236-40, 2013. doi: 10.1097/PRS.0b013e3182789c79.
  26. Nakashima H (1/8), Kinoshita M (4/8), Seki S (8/8). Activation of CD11b<sup>+</sup> Kupffer cells/macrophages as a common cause for exacerbation of TNF/ Fas-ligand-dependent hepatitis in hypercholesterolemic mice. *PLoS One* 8; e49339, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0049339.
- [学会発表](計 14 件)
1. Hagisawa K, Kinoshita M et al. Resuscitation by transfusion with Hemoglobin Vesicle in Trauma Hemorrhagic Shock / Coagulopathy Rabbits. American Heart Association Resuscitation Science Symposium 2015 Nov. Orland USA.
  2. Kinoshita M. Treatment with fibrinogen  $\gamma$ -chain peptide-coated, ADP-encapsulated liposomes as a synthetic platelet substitute against active liver bleeding in rabbits with acute thrombocytopenia. Military Health System Research Symposium. 2015 Aug. Fort Louderdel USA.
  3. Kinoshita M, Miyazaki H, Ono S, Hagisawa K. Burn evoked ROS immediately after injury are crucial to rescue the neutrophil function against post-burn infection in mice. 38<sup>th</sup> Annual congress on shock. 2015 Jun. Denver USA.
  4. Hagisawa K, Kinoshita M et al. Fibrinogen  $\gamma$ -chain peptide-coated, adenosine diphosphate-encapsulated liposomes rescue mice from lethal blast lung injury. 2015 Jun. Denver USA.
  5. Miyazaki H, Kinoshita M et al. Peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$  agonist

- improves survival in a murine model of postburn infection by modulating the macrophage function. 2015 Jun. Denver USA.
6. Nakashima H, Kinoshita M, Seki S et al. Involvement of the TNF and FasL produced by CD11b Kupffer cells/macrophages in CCl4-induced acute hepatic injury. 2014 Nov. Boston, USA.
  7. Miyazaki H, Kinoshita M et al. Application of a biodegradable nanosheet as a new dressing for burn wound. The 17<sup>th</sup> Congress of International Society for Burn injuries. 2014 Oct. Sydney, Australia.
  8. Hagisawa K, Kinoshita M et al. Treatment with fibrinogen  $\gamma$ -chain peptide-coated, adenosine diphosphate-encapsulated liposomes as an infusible haemostatic agent for dilutional coagulopathy. American Heart Association Resuscitation Science Symposium 2013 Nov. Dallas USA.
  9. Miyazaki H, Kinoshita M et al. A neutrophil elastase inhibitor improves LPS-induced acute lung injury in burn-injured mice. 15<sup>th</sup> International Congress of Immunology. 2013 Aug. Milan Italy.
  10. Nakashima H, Kinoshita M, Seki S et al. Activation of CD11b+ Kupffer cells/macrophages as a common cause for exacerbation of TNF/Fas-ligand-dependent hepatitis in hypercholesterolemic mice. 15<sup>th</sup> International Congress of Immunology. 2013 Aug. Milan Italy.
  11. Kinoshita M, Miyazaki H, Nakashima H, et al. Glucocorticoid receptor-dependent immunomodulatory effect of ursodeoxycholic acid on liver lymphocytes in mice. 15<sup>th</sup> International Congress of Immunology. 2013 Aug. Milan Italy.
  12. Kinoshita M, et al. Insulin treatment directly restores neutrophil phagocytosis and bactericidal activity in diabetic mice, thereby improving surgical site infection with Staphylococcus aureus. 36<sup>th</sup> Annual Conference on Shock, 2013 Jun San Diego USA.
  13. Ono S, Kinoshita M et al. The predictive value of endotoxin activity assay for the incidence of postoperative infectious complications following elective gastrointestinal surgery. 36<sup>th</sup> Annual Conference on Shock, 2013 Jun San Diego USA.

〔図書〕(計 1 件)

1. 藤枝俊宣, 木下 学. 高分子ナノシートの柔軟性と密着性を利用した「ナノ絆創膏」の開発と医療応用 - 外科手術の大幅な時間短縮, 低侵襲な手術の実現 - 技術情報協会, 生体模倣技術と新材料・新製品開発への応用, 2014, 540-7.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

木下 学 (Kinoshita Manabu)  
防衛医科大学校・その他部局等・准教授  
研究者番号：70531391

(2)研究分担者

関 修司 (Seki Shuhji)  
防衛医科大学校・その他部局等・教授  
研究者番号：80531392

齋藤 大蔵 (Saitoh Daizoh)  
防衛医科大学校・その他部局等・教授  
研究者番号：80531392

田中 祐司 (Tanaka Yuji)  
防衛医科大学校・その他部局等・教授  
研究者番号：50221396

阪本 敏久 (Sakamoto Toshihisa)  
防衛医科大学校・その他部局等・教授  
研究者番号：50178571

守本 祐司 (Morimoto Yuji)  
防衛医科大学校・その他部局等・准教授  
研究者番号：10449069

宮崎 裕美 (Miyazaki Hiromi)  
防衛医科大学校・その他部局等・助教  
研究者番号：30531636

高橋 哲也 (Takahashi Tetsuya)  
防衛医科大学校・その他部局等・講師  
研究者番号：82406

中島 弘幸 (Nakashima Hiroyuki)  
防衛医科大学校・その他部局等・助教  
研究者番号：10574064

萩沢 康介 (Hagisawa Kosuke)  
防衛医科大学校・その他部局等・助教  
研究者番号：50539244

小野 聡 (Ono Satoshi)  
東京医科大学・医学部・教授  
研究者番号：30531355

檜 顕成 (Hinoki Akinari)  
名古屋大学・医学部付属病院・助教  
研究者番号：90383257

西川 可穂子 (Nishikawa Kahoko)  
中央大学・商学部・教授  
研究者番号：20345416

武岡 慎司 (Takeoka Shinji)  
早稲田大学・理工学術院・教授  
研究者番号：20222094

半田 誠 (Handa Makoto)  
慶応義塾大学・医学部・教授  
研究者番号：40129614