

## 自己評価報告書

平成23年4月5日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2008～2012

課題番号：20249040

研究課題名（和文） サイトカイン・ケモカインを指標とする包括的分子法医診断学の確立

研究課題名（英文） Establishment of molecular forensic diagnosis related with cytokines and chemokines

研究代表者

近藤 稔和 (KONDO TOSHIKAZU)

和歌山県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：70251923

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：法医病理学

## 1. 研究計画の概要

本研究の目的は、種々の死因におけるサイトカインとケモカインの動態に関する実験的研究及び実務的研究を展開し、これらを指標とする各種死因の分子病態生理を解明し、最終的には、サイトカイン・ケモカインを指標とする「分子法医診断学」の確立を目指すことである。敗血症、薬物中毒、溺死での全身及び局所のサイトカイン・ケモカイン動態を検索し、死因判定の有用な指標の一つとなり得るか否かについて検討する。

## 2. 研究の進捗状況

アセトアミノフェン中毒

マウスにアセトアミノフェン(200mg/kg)を腹腔内投与して肝障害モデルにおいて、IL-1ra 遺伝子欠損マウスでは、CYP1A2, CYP2E1 と CYP3A11 の発現が抑制しており、それに伴ってアセトアミノフェンの毒性代謝物 NAPQI の生成が減少するために肝障害が軽減することが明らかとなった。また、CCL3 および CCR5 の遺伝子欠損マウスではアセトアミノフェン肝毒性が軽減していたことから、CCL3-CCR5 が、アセトアミノフェン肝障害発症のための重要なケモカインシステムであると判明した。

マウスにヒ素を皮下投与して腎障害モデルでは、IIL-6がautophagyによる細胞死に対して抑制的に作用することにより、ヒ素による腎障害においては保護的作用を有するサイトカインであると判明した。

敗血症

CX3CR1 遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスに比べて、穿刺後の腹腔内細菌数は増加し、敗血症による死亡率が増悪していた。CX3CR1

遺伝子欠損マクロファージでは細菌殺菌能および炎症性サイトカインの産生能が低下していた。以上から、敗血症においてCX3CR1が細菌感染に対して重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

敗血症剖検肺におけるケモカインレセプターの発現について

剖検例より敗血症により死亡した事例を抽出し、肺におけるケモカインレセプターCCR2及びCX3CR1の発現を免疫組織化学的に検討したところ、肺に浸潤してきたマクロファージはCCR2及びCX3CR1のケモカインレセプターが陽性であり、対照群と比較して、CCR2及びCX3CR1両方陽性のマクロファージ数が増加しており、敗血症の剖検診断に役立つものと考えられた。

溺死の鑑別診断

淡水溺死と海水溺死の剖検年齢の脳及び腎臓について、アクアポリン(AQP)の発現を検討したところ、腎臓のAQP2と脳の大脳AQP4発現が、海水溺死事例で発現が亢進して、海水溺死と淡水溺死の鑑別に有用であることが明らかとなった。

静脈血栓モデル

マウスの下大静脈結紮による深部静脈血栓モデルを確立した。インターフェロン- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )の遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスに比較して、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-9の発現が亢進しており、静脈血栓の吸収が亢進していた。したがって、深部静脈血栓形成では、IFN- $\gamma$ が血栓形成に促進的役割を果たしていることが明らかとなった。

### 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

(理由)

(1) 動物実験では、各遺伝子欠損マウスの繁殖が順調であったことから、常時実験に必要な以上のマウスが維持されている。

(2) 剖検試料についても、近年の剖検数の増加に伴い、試料の収集が、当初の予定をやや上回っている。

(3) 実験モデルにおいても、比較的順調に確立できた。

### 4. 今後の研究の推進方策

(1) 薬物中毒モデルでは、肺に特異的に障害を引き起こす薬剤についてのモデルの樹立及びその解析を行う。

(2) 敗血症モデルについては、CCL3 および CCR5 の遺伝子欠損マウスを用いて、CCL3-CCR5 の敗血症における役割を解析する。また、敗血症事例のヒト肺における CCR5 陽性細胞の発現を検索する。

(3) 血栓モデルについて TNF 役割を解析する。

(4) 外傷性ショックモデルの解析を行う。

(5) 熱傷性ショックモデルの樹立を試みる。

### 5. 代表的な研究成果

(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 37 件)

1. Inui M, Ishida Y, Kimura A, Kuninaka Y, Mukaida N, Kondo T. Protective roles of CX3CR1-mediated signals in toxin A-induced enteritis through the induction of heme oxygenase-1 expression. J Immunol. 186:423-31. 2011. 査読有
2. Kimura A, Ishida Y, Wada T, Hisaoka T, Morikawa Y, Sugaya T, Mukaida N, Kondo T. The absence of interleukin-6 enhanced arsenite-induced renal injury by promoting autophagy of tubular epithelial cells with aberrant extracellular signal-regulated kinase activation. Am J Pathol. 176:40-50. 2010. 査読有
3. Ishibe T, Kimura A, Ishida Y, Takayasu T, Hayashi T, Tsuneyama K, Matsushima K, Sakata I, Mukaida N, Kondo T. Reduced acetaminophen-induced liver injury in

mice by genetic disruption of IL-1 receptor antagonist. Lab Invest. 89:68-79. 2009. 査読有

4. Hayashi T, Ishida Y, Mizunuma S, Kimura A, Kondo T. Differential diagnosis between freshwater drowning and saltwater drowning based on intrapulmonary aquaporin-5 expression. Int J Legal Med. 123:7-13. 2009. 査読有
5. Ishida Y, Hayashi T, Goto T, Kimura A, Akimoto S, Mukaida N, Kondo T. Essential involvement of CX3CR1-mediated signals in the bactericidal host defense during septic peritonitis. J Immunol. 181:4208-18. 2008. 査読有

[学会発表] (計 66 件)

1. Kimura A, Ishida Y, Nosaka M, Mukaida N, Kondo T. Crosstalk between estrogen receptor and IL-6/Jack/Stat3 signal in pathogenesis of sodium arsenite-induced renal injury. 2010 Joint meeting between the Society for Leukocyte Biology & the International Endotoxin and Innate Immunity Society, 10.8.2010, Vancouver
2. Kondo T, Nosaka M, Ishida Y, Kimura A, Kuninaka Y, Kawaguchi M. Immunohistochemical detection of MMP-2 and MMP-9 in a stasis-induced deep vein thrombosis model and its application to thrombus age estimation. 89th Annual Meeting of the German Society of Legal Medicine 9.22-25.2010, Berlin
3. Ishida Y, Kimura A, Inui M, Kuninaka Y, Matsushima K, Mukaida N, Kondo T. CCL5-CCR5 axis mediates skin wound healing by promoting endothelial progenitor cell accumulation. Tri-Society Annual Conference 2009 of the Society for Leukocyte Biology, International Cytokine Society, & International Society for Interferon and Cytokine Research, 10.21.2009, Lisbon
4. Ishida Y, Kimura A, Matsushima K, Mukaida N, Kondo T. CC Chemokine receptor 5-dependent endothelial progenitor cell homing to skin wound. 7th joint Conference of the International Cytokine Society and the International Society for Interferon and Cytokine Research, 10.12-16.2008, Montreal