様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　７ 年　 ９ 月 １９ 日現在

機関番号：１０１０７
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2022～2024
課題番号：２２Ｋ０８９４９

研究課題名（和文）急性大動脈解離に伴う肺障害に対する好中球エラスターゼ阻害薬の作用機序の基礎解析

研究課題名（英文）Basic analysis of the mechanism of action of neutrophil elastase inhibitors for lung injury associated with acute aortic dissection

研究代表者
白坂　知識（Tomonori, Shirasaka）

旭川医科大学・医学部・客員准教授

研究者番号：１０７１０５７７

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,100,000円

研究成果の概要（和文）：急性大動脈解離に伴う呼吸機能低下には、好中球エラスターゼ活性の上昇を含む全身性炎症反応が関与すると考えられている。本研究ではその阻害薬の肺への抗炎症効果を検証するため、解離手術で得た大動脈組織を用いてpStat3を指標に免疫染色を行い、炎症の亢進を確認した。さらに、過去の臨床データから阻害薬使用の有無と呼吸機能の関連を検討したが、有意差は得られなかった。現在はラットモデルの構築を進めつつ、急性呼吸障害のリスク因子を解析し、年齢、D-dimer値、解離の進展度を独立因子として同定、論文化を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究は、急性大動脈解離に伴う呼吸障害の発症機序に炎症反応、とくに好中球エラスターゼ活性が関与することを示唆し、その阻害による治療介入の可能性を示した点で学術的意義がある。さらに、リスク因子の同定により、急性期における呼吸管理の質を向上させる可能性があり、術後合併症の予防や患者予後の改善につながる点で社会的意義も大きい。

研究成果の概要（英文）：Respiratory dysfunction in acute aortic dissection is thought to result from a systemic inflammatory response, including elevated neutrophil elastase activity. To investigate the anti-inflammatory effects of neutrophil elastase inhibitors in the lungs, we analyzed aortic tissue obtained during surgery using immunohistochemistry, with phosphorylated Stat3 (pStat3) as a marker. Increased inflammation in dissected tissue supported our hypothesis. A retrospective analysis of clinical data was also conducted to assess the relationship between inhibitor use and respiratory function, but no significant differences were found. We are now developing a rat model to further explore the mechanism. In parallel, we analyzed clinical cases to identify risk factors for acute respiratory distress and found that age, D-dimer levels, and the extent of dissection were independent predictors. A manuscript is in preparation.

研究分野：心臓大血管外科

キーワード：急性大動脈解離　全身性炎症性症候群　好中球エラスターゼ

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１（共通）

１．研究開始当初の背景

急性大動脈解離は血管構造の破綻により発症する重篤な疾患であり、救命率は外科的治療の進歩によって向上している。しかし術後には高頻度で急性肺障害（ALI）を併発し、長期人工呼吸管理を要する症例も多い。これは大動脈解離に伴って惹起される全身性炎症反応症候群（SIRS）が関与していると考えられるが、その詳細な病態機序は十分に解明されていない。特に好中球エラスターゼの活性化が肺障害に深く関与することが報告されており、これを標的とした治療法の確立が臨床的に強く望まれている

２．研究の目的

大動脈解離に合併する肺障害の病態解明と、新たな予防的治療戦略の基盤を築くために、本研究の目的を以下の二つに設定した。

1. 急性大動脈解離に伴って惹起される炎症性サイトカインや好中球エラスターゼの活性化が肺障害の原因となるかを解明すること。
2. 好中球エラスターゼ阻害薬（シベレスタット）が肺障害の発症や進展を抑制しうるかを基礎的および臨床的に検証すること。

３．研究の方法

○ 組織学的解析（ex vivo）：

急性大動脈解離手術で得られた大動脈組織を用い、炎症性サイトカインや転写因子の発現を免疫染色で評価した。IL-6 抗体の検出が困難であったため、下流因子である pStat3 の発現を炎症マーカーとして解析した。

○ 臨床データ解析：

過去 10 年間の急性大動脈解離症例 200 例を対象に、好中球エラスターゼ阻害薬投与の有無と術後呼吸機能の改善度を比較検討した。

○ 動物実験系の構築：

免疫不全マウスに大動脈解離組織の培養上清を投与して肺障害を評価し、さらに阻害薬を併用することで抑制効果を検証する計画を進めた。またラットで大動脈解離モデルを用いて、炎症性サイトカインの免疫染色やウエスタンブロット、ELISA による定量化を試みた。

４．研究成果

組織解析の成果(令和 4 年度)：

急性大動脈解離の手術で得られる組織を用いて、病変部位において実際に炎症が惹起されているかどうかを、免疫染色法を用いて組織学的に解析した。 始めに、炎症性メディエーターである IL-6 の発現変化を検討したが､適切な抗体を見つけることができなかった。そのため、IL-6 の転写因子である Stat3 のリン酸化(pStat3)を指標に、炎症の惹起と炎症性メディエーターの発現を評価した。大動脈解離群において大動脈壁内部の pStat3 陽性細胞の割合は約 71%で、コントロール群(真性瘤)と比較して高い傾向にあり(約 51%)、大動脈症例では炎症が強く惹起されていることが示唆され、本研究の仮説をサポートする結果となった。

臨床解析の成果(令和 5 年度)：

本研究での仮説を臨床例で検証すべく、過去 10 年間の急性大動脈解離症例 200 例での好中球エラスターゼ阻害薬使用有無による呼吸機能改善の程度を比較した。その結果、好中球エラスターゼ阻害薬使用群と非使用群で呼吸機能改善に有意差は認められなかった。これは症例ごとの重症度の不均一性が影響した可能性があり、さらに症例数を増やし重症度のグループ化を行った比較解析が必要であることが示唆された。

動物モデル・追加解析(令和 6 年度)：

大動脈解離組織の培養を試みたが、組織の生存率を維持するためには、血清などの成長因子を大量に使う必要があり、培養上清に微量遊離された炎症性メディエーターの影響を動物モデルで検討することが困難であった。そこで、ラット大動脈解離モデルを作成し、

ELISA や質量分析などを用いて肺組織内の炎症を定量化するための実験系構築を継続して行っている。動物実験系の確立に困難が続いたため、臨床データを用いた追加解析を行った。当院で手術を行った急性大動脈解離 100 例を解析し、急性呼吸障害の独立したリスク因子として年齢、D-dimer 値、大動脈解離の進展度を同定した。この成果について、現在論文作成中である。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計1件（うち査読付論文　1件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　0件）

１．著者名 Narita Masahiko、Tsutsui Masahiro、Ushioda Ryouhei、Kikuchi Yuta、Shirasaka Tomonori、Ishikawa Natsuya、Kamiya Hiroyuki	４．巻 10
２．論文標題 Proximal and extended aortic arch replacement in acute DeBakey type I aortic dissection	５．発行年 2023年
３．雑誌名 Frontiers in Surgery	６．最初と最後の頁 01-08
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fsurg.2023.1081167	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

〔学会発表〕　計0件

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

－

６．研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究分担者	小山　恭平 (Oyama Kyohei) (00818479)	旭川医科大学・医学部・講師 (10107)	

７．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

８．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関