

令和元年6月24日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11401

研究課題名(和文)重症外傷患者における血管内皮障害と免疫応答メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of mechanisms between endothelial injury and host immune response in severe trauma patients

研究代表者

大須賀 章倫 (OSUKA, AKINORI)

大阪大学・医学系研究科・招へい教員

研究者番号：60552081

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：重症熱傷を受傷すると受傷部位だけでなく、体中の血管内皮細胞や腸細胞もダメージを受ける。この自らの組織のダメージは熱傷治療に必要な輸液量の増加をもたらし、多臓器不全の進展などと関連する。免疫系のメッセンジャーであるサイトカインも多数放出されるが、これらはネットワークとして機能しており、時間経過とともにそのネットワーク構成が変化する。これらのネットワークを解析することにより予後を推測することができる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重症熱傷を受傷した後に大量の蘇生輸液が必要になるメカニズムの一部を解明した。多臓器不全に至る原因として腸管が大きな役割を担っていることも解明した。さらにサイトカインはネットワークとしてみることも重要であることも解明した。これらの知見により、今までに行われてきた治療を見直し、新たな治療戦略の開発が可能になり、今までは助からなかった不幸な事故の被害者を救命できるようになる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Severe burn injury damage not only injured site, but also endothelial cells and intestinal cells of the injured host. The endothelial damage increase fluid requirements to resuscitate the burn injury. And the intestinal damage is associated with development of multiple organ dysfunction syndrome. Many kinds of cytokines are released to respond the traumatic damage and work as immunological messengers. These cytokines networks each other. The network change with time following the injury. We can predict the patients prognosis by analyzing the network changes.

研究分野：外傷、熱傷

キーワード：熱傷 血管内皮 腸管 多臓器不全 サイトカイン グリコカリックス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

外傷は我が国における5歳から39歳までの死亡原因の1位に挙げられる。近年自然災害などが各地で起きており、多くの熱傷や外傷の傷病者を出している。これら傷病者の死因は急性期のショックとその後続発する、感染性合併症からの多臓器不全である。ショックの病態に関しては、血管透過性の亢進が病態の増悪に関与しており、中でも熱傷性ショックではその体液変動は著しい。我々は、蘇生の急性期には大量の輸液を要し、その合併症として心不全や肺水腫、コンパートメント症候群を生じ予後を悪化させることを報告してきた。また、多臓器不全に陥ると治療に難渋するだけでなく救命が困難となり、集中治療に莫大な治療費を要する。外傷後に生じる一連の免疫反応は、内因性のシグナルである DAMPs と外因性のシグナルである PAMPs の両者がトリガーとなっていると考えられており、我々は外傷によりパターン認識受容体の一つとして重要視されているインフラマソームが全身のほぼすべての免疫細胞において活性化することを、マウスモデルを用いて世界で初めて報告した。インフラマソームの活性を抑制することで外傷後の死亡率が著明に増加することも示し、インフラマソームの活性化による自然免疫能が生体防衛的役割を担うことを見出した。また、外傷後には自然免疫系により増強された炎症反応が抗菌能力を増強させるとともに、有害な "two-hit response" を形成し、同時に制御性T細胞(Treg)を活性化することで、過剰に起きた炎症反応をコントロールしていることが動物モデルにおいて示されてきている。さらに我々の研究室では以前より多臓器不全の進行と血管内皮障害の関連性に関して報告してきている。このように重度侵襲に伴うショックとその病態、および全身炎症反応と多臓器不全の関連性、その進行を制御する研究を世界に先駆けて進めてきた。

本研究では血管内皮障害の指標としてグリコカリクスをターゲットとし、免疫応答反応との関連性を解明するものである。グリコカリクスは血管内皮上に存在し、血管内皮の透過性を維持していると考えられている。グリコカリクスは陰性に荷電しているため、その破綻によりアルブミン等のタンパク質が血管外へ漏出する。このグリコカリクスの障害に関しては、IL-1やTNF、IL-6といったサイトカインの関与が考えられている。IL-1はインフラマソームの活性産物であるが、インフラマソーム活性とグリコカリクスの破綻の関連性に関しては未解決のままである。

本研究により、血管内皮障害をグリコカリクスの破綻という観点から免疫応答反応との関連性を明らかにすることで、侵襲時の血管内皮障害、免疫応答の両面からみた適切な免疫調節法が提案できれば、侵襲期の体液変動を制御し、多臓器不全への進行を食い止めるといった新たな治療が可能になる。

2. 研究の目的

重症侵襲期における血管内皮障害の指標としてグリコカリクスの損傷の程度を測定し、各種サイトカインおよび炎症の指標としてインフラマソーム活性、抗炎症の指標としてTreg活性を測定することによりこれらの関連性を明らかにする。具体的には以下の2点に絞って研究を行う。

- (1) 重症外傷後の蘇生に要した輸液量、血中 DAMPs 量、インフラマソームおよび Treg 活性、各種サイトカイン濃度と血管内皮障害の程度(血中シンデカン-1濃度)の相関関係を明らかにする。
- (2) 輸液剤の種類、重症度、予後と上記の関連性を明らかにし、今後の新たな治療展開を模索する。

3. 研究の方法

重症外傷受傷後におこる免疫応答の変化(サイトカイン、インフラマソーム活性、Treg機能)と血管内皮障害(グリコカリクス障害産物:シンデカン-1)の進行との関連性を評価し、血管透過性亢進と多臓器不全進展のメカニズムを解明する。研究計画を進める上で、次の2つを主に検討する。

- (1) 重症熱傷患者の血液を経時的に採取し、血中のシンデカン-1、各種 DAMPs、各種サイトカイン、インフラマソーム活性・Treg活性を測定し、免疫応答とグリコカリクス障害との関連を明らかにする。
- (2) 上記測定結果と臨床データ(輸液量・輸液剤の種類、各種血液検査、感染性合併症の有無)、予後についての関連性を検討し、適切な免疫応答制御の方向性を示す。

4. 研究成果

- (1) グリコカリクスの脱落のマーカーであるシンデカン-1を経時的に測定するとともに、他の血管内皮障害のマーカーとしてトロンボモデュリン、PAI-1、ATIIIを測定した。その結果以下のことが明らかになった。

重症熱傷患者においてグリコカリクスが脱落し、この程度は蘇生輸液量と相関すること、血管内皮障害は熱傷の重症度に相関するが、生命予後との関係は明らかでないこと、グリコカリクスの脱落が蘇生輸液量の増加と関連していることは仮説通りであったが、重

症度ではなく、年齢に相関するという事実は世界初の報告である (図 1)。

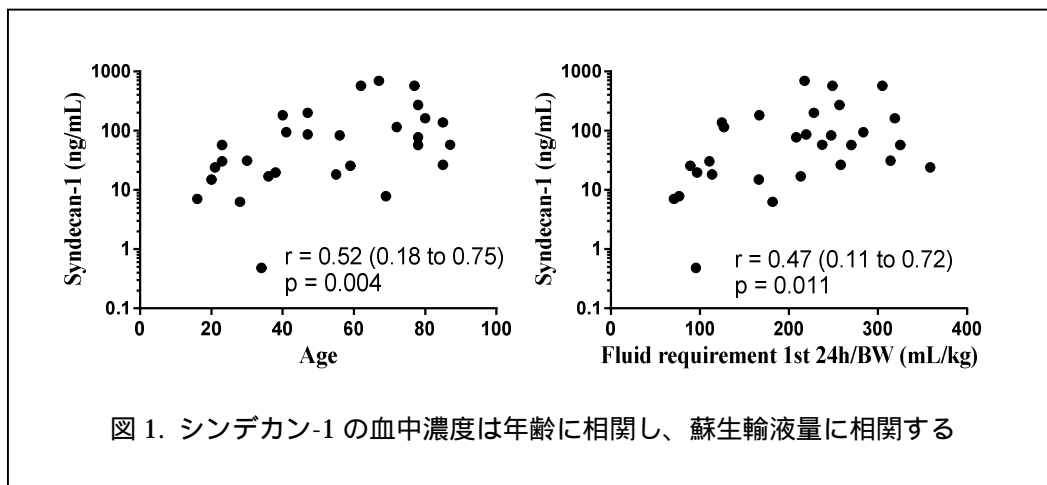


図 1. シンデカン-1 の血中濃度は年齢に相関し、蘇生輸液量に相関する

- (2) さらに腸細胞障害マーカーとして I-FABP を経時的に測定したところ、腸管ダメージが深達性熱傷の面積と相関し、多臓器不全の進行にかわりがあることが証明された (図 2)。重症熱傷受傷直後から腸の内皮細胞がダメージを受け、それが多臓器不全と関係するという報告は新しい知見であり、今までの我々の研究成果を合わせて日本救急医学会雑誌に報告した。

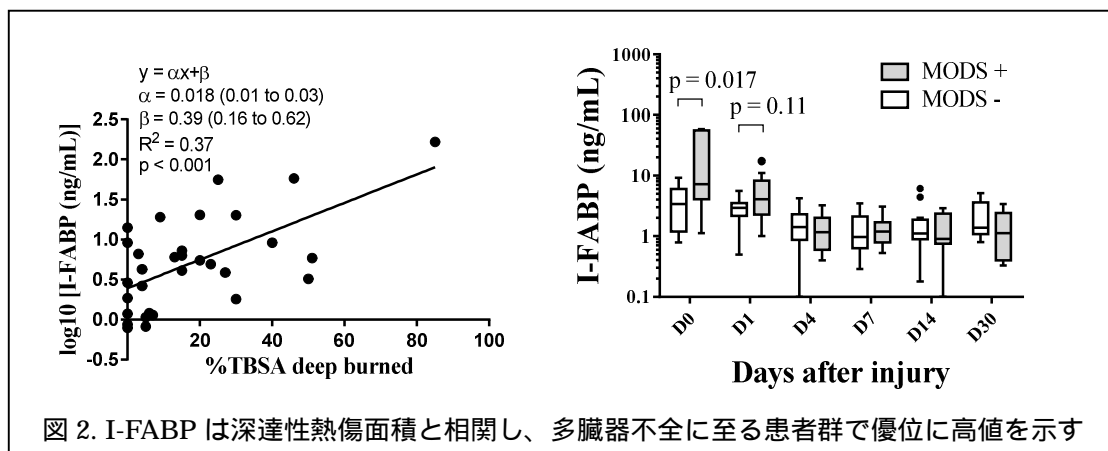


図 2. I-FABP は深達性熱傷面積と相関し、多臓器不全に至る患者群で優位に高値を示す

- (3) また各種サイトカインを経時的に測定することにより、サイトカインは経時的にそのネットワークが変化し、単独ではなく相互作用が予後に関連することを示した (図 3)。

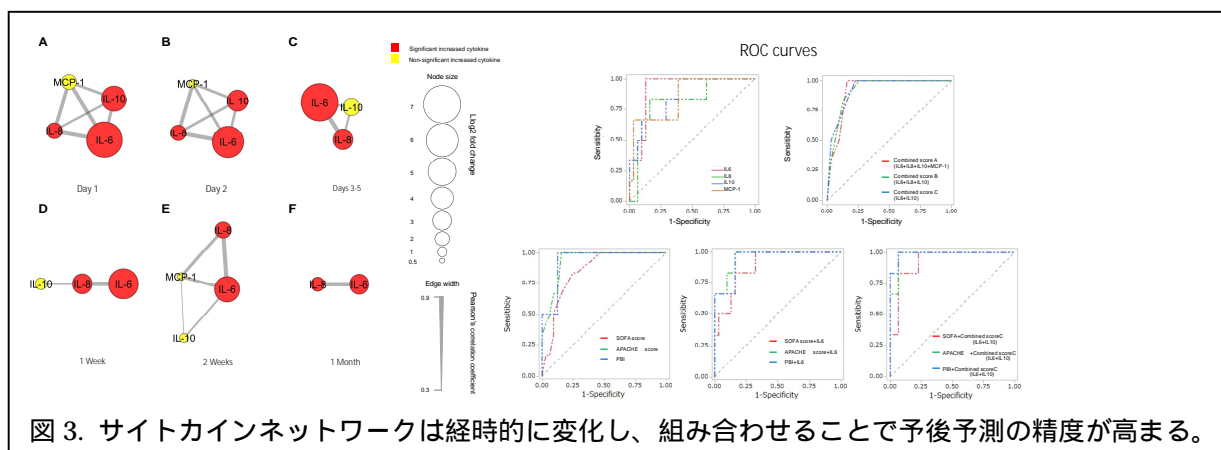


図 3. サイトカインネットワークは経時的に変化し、組み合わせることで予後予測の精度が高まる。

- (4) インフラマソームと Treg の経時的変化 (図 4) からは、生命予後との関連性などは現在のところ見いだせていないが、研究過程において重症熱傷患者では白血球、特にリンパ球と好中球が低下し、予後と関連することを見出し (図 5)、現在論文を投稿中である。

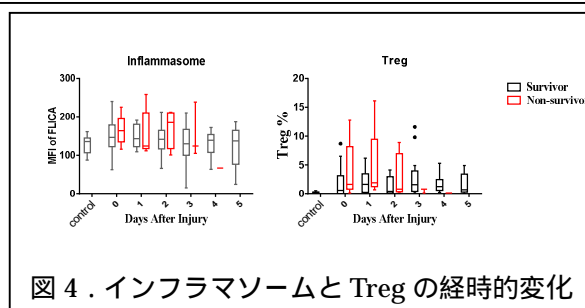


図 4. インフラマソームと Treg の経時的変化

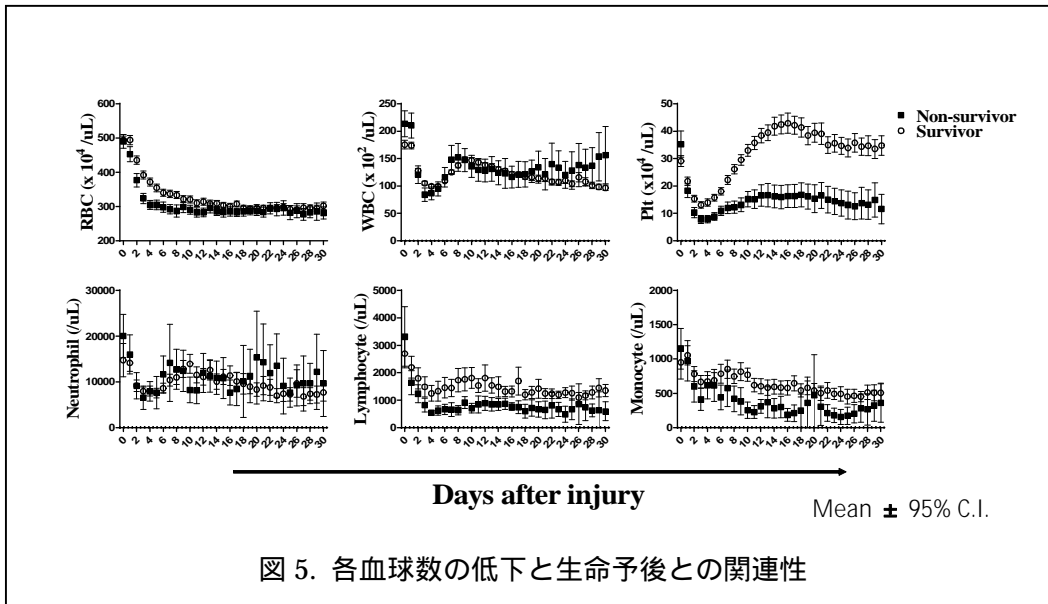


図 5. 各血球数の低下と生命予後との関連性

- (5) 熱傷受傷後に補体因子の C1 エラスターゼインヒビター活性が低下することが蘇生輸液量の増加と関連することも解明し(図 6)、現在論文投稿中である。補体と自然免疫系の活性化および血管内皮障害は互いに密接に関連することが解明されつつあり、我々の知見もこれらのメカニズム解明の一翼を担うものである。

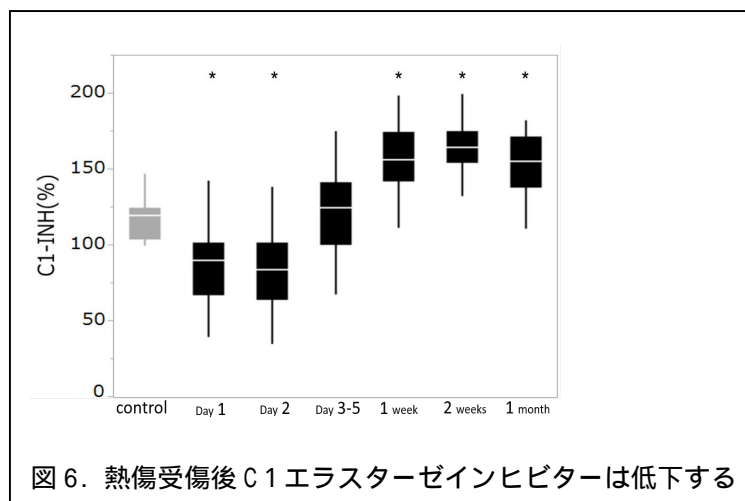


図 6. 熱傷受傷後 C1 エラスターゼインヒビターは低下する

当初の研究目的は概ね達成でき、新たな知見も多くえられた。これらの知見を発展させ、現在はグリコカリクスをターゲットとした新たな治療戦略の開発に取り組んでいる。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

Matsuura H, Matsumoto H, Osuka A, Ogura H, Shimizu K, Kang S, Tanaka T, Ueyama M, Shimazu T. Clinical Importance of a Cytokine Network in Major Burns. Shock. 査読有. 2019 Feb;51(2):185-193. doi: 10.1097/SHK.0000000000001152.

Osuka A, Kusuki H, Yoneda K, Matsuura H, Matsumoto H, Ogura H, Ueyama M. Glycocalyx Shedding is Enhanced by Age and Correlates with Increased Fluid Requirement in Patients with Major Burns. Shock. 査読有. 2018 Jul;50(1):60-65. doi: 10.1097/SHK.0000000000001028.

大須賀章倫、米田和弘、工藤大介、清水健太郎、小倉裕司. 腸管と腸内微生物生態系の変化が重症病態に及ぼす役割, 日本救急医学会雑誌. 査読有. 2017 28:827-834. doi:10.1002/jja2.12231.

Osuka A, Kusuki H, Matsuura H, Shimizu K, Ogura H, Ueyama M. Acute intestinal damage following severe burn correlates with the development of multiple organ dysfunction syndrome: A prospective cohort study. Burns. 査読有.2017 Jun;43(4):824-829. doi: 10.1016/j.burns.2016.10.015.

〔学会発表〕(計 7 件)

Akinori Osuka, Takuma Ishihara, Kentaro Shimizu, Ayumi Shintani, Hiroshi Ogura, Msashi Ueyama. EARLY DROPS OM BLOOD CELLS ARE PROGNOSTIC MARKERS IN PATIENTS WITH MAJOR BURNS. Society of Critical Care Medicine 47th Critical Care Congress. 2018.

Akinori Osuka, Hiroshi Matsuura, Hiroshi Ogura. AGING IS A CRUCIAL FACTOR FOR GLYCOCALYX DISRUPTION LEADING TO INCREASE RESUSCITATION FLUID REQUIREMENT IN BURN PATIENTS. 76th Annual Meeting of AAST and Clinical Congress of Acute Care Surgery. 2017.

Akinori Osuka, Hirofumi Kusuki, Kazuhiro Yoneda, Kentaro Shimizu, Hiroshi Ogura. Acute intestinal damage following burn injury correlates with the development of MODS. The 17th Joint Scientific Congress of the KCCM and JSICM. 2017.

Akinori Osuka, Hirofumi Kusuki, Kazuhiro Yoneda, Kentaro Shimizu, Hiroshi Ogura. Acute intestinal damage following burn injury correlates with the development of multiple organ dysfunction syndrome. 第 44 回 日本集中治療医学会. 2017.

Hiroshi Matsuura, Hisatake Matsumoto, Akinori Osuka, Hiroshi Ogura, Toshihiro Tanaka, Suijin Kang, Takeshi Shimazu. THE KEY CYTOKINE NETWORK ASSOCIATED WITH THE SEVERITY AND PROGNOSIS IN EXTENSIVE BURN PATIENTS. 46th Critical Care Congress. 2017.

大須賀章倫.重症熱傷の白血球減少と凝固異常. 第 43 回日本集中治療医学会. 2016

大須賀章倫、松本寿健、松浦裕司、黒木雄一、宮尾大樹、米田和弘、中島紳史、高橋弘毅、清水健太郎、小倉裕司、上山昌史. 広範囲熱傷におけるグリコカリクスの崩壊. 第 44 回日本救急医学会総会. 2016.

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：松浦 裕司

ローマ字氏名：(Matsuura, hiroshi)

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学部附属病院

職名：医員

研究者番号 (8 桁): 10791709

研究分担者氏名：高橋 弘毅

ローマ字氏名：(Takahashi, hiroki)

所属研究機関名：関西医科大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号 (8 桁): 30609590

研究分担者氏名：嶋津 岳士

ローマ字氏名：(Shimazu, takeshi)

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：教授

研究者番号 (8 桁): 50196474

研究分担者氏名：清水 健太郎

ローマ字氏名：(Shimizu, kentaro)

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学部附属病院

職名：助教

研究者番号(8桁): 60379203

研究分担者氏名：小倉 裕司

ローマ字氏名：(Ogura, hiroshi)

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：准教授

研究者番号(8桁): 70301265

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、研究者個人に帰属されます。