

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18790549
 研究課題名（和文） 誤嚥性肺炎における抗炎症性脂質メディエーター、リポキシンの役割と有用性の検討
 研究課題名（英文） The role and effect of anti-inflammatory lipid mediator, lipoxin on aspiration pneumonia
 研究代表者 福永 興彦 (FUKUNAGA KOICHI)
 慶應義塾大学・医学部・共同研究員
 研究者番号：60327517

研究成果の概要：

近年抗炎症性作用をもつ脂質メディエーターが炎症性疾患の治癒過程において重要な役割を果たし、炎症の慢性化を防ぐといった新たな知見が散見されるようになった。また誤嚥・誤飲を契機に発症する誤嚥性肺炎は、高齢患者に多く 70 歳以上の肺炎入院患者における約 60%に発症すると言われており、時に重篤化することが知られている。今回申請者は本疾患のマウスモデルを作製し、抗炎症性脂質メディエーターを投与した。その結果誤嚥性肺炎が軽減されることを見出し、今後臨床の現場においても新たな治療法につながる可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,300,000	0	1,300,000
2007 年度	1,300,000	0	1,300,000
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	240,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：呼吸器病学、炎症性肺疾患、脂質メディエーター

1. 研究開始当初の背景

近年抗炎症性作用をもつ脂肪酸由来のメディエーターが炎症性疾患の治癒過程において重要な役割を果たし、炎症の慢性化を防ぐといった新たな知見が散見されるようになった。肺損傷、喘息など炎症が惹起される際、ロイコトリエン B₄ などの炎症性脂質メディエーターが重要な役割を果たしていることはこれまで多くの研究報告から明らかであるが、一方呼吸器領域においても炎症修

復過程に出現しこれを収束させる役割をもつとされているリポキシンの抗炎症性脂質メディエーターの役割についての報告が近年散見されるようになってきた。

2. 研究の目的

申請者は炎症性肺疾患における抗炎症性脂質メディエーターの役割を明らかにしたいと考えた。中でも臨床において治療が難渋すると言われている酸による急性肺障害と

細菌感染を合併した誤嚥性肺炎に焦点をあて、本疾患における抗炎症性脂質メディエーターの役割を明らかにすること、更にこれを外因性に投与しその効果を明確にすることで、臨床応用の可能性を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

7週齢雄 C57BL/6J マウスに塩酸 (pH=1.5, 0.1N, 50 μ l) を左肺選択的に投与、その後 12 時間後に同じく左肺選択的に E.Coli を投与して肺傷害を惹起した。E.Coli 投与 24 時間後に肺をマウスより採取、homogenize を行い agar plate 上で 12 時間培養し、colony forming units (CFU) を検討した。これにより塩酸肺傷害後左肺内大腸菌数/投与した大腸菌数=クリアランス比(Bacteria Growth Index: BGI)としてクリアランス機能の評価を行った。またホモジナイズした肺の上清を用いて好中球ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 濃度、炎症性サイトカイン・ケモカイン濃度を測定した。

この誤嚥性肺炎モデルを用いて抗炎症性脂質メディエーター リポキシン A4(LxA4), レゾルピン E1(RvE1)を塩酸投与 30 分前に投与して塩酸肺炎後の大腸菌増殖に対する影響、さらに種々のサイトカイン・ケモカイン産生に対する影響を検討した。また塩酸肺障害が惹起された時点で抗炎症性脂質メディエーターが影響を与えている可能性についても同様に検討した。すなわち塩酸肺障害のみを惹起したマウスに抗炎症性脂質メディエーターを前投与し気管支肺胞洗浄液(BAL)中の白血球細胞数および分画について検討した。最後に誤嚥性肺炎後の生存率についても検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては慶應義塾大学医学部倫理委員会承認のもと、無用の苦痛を動物に

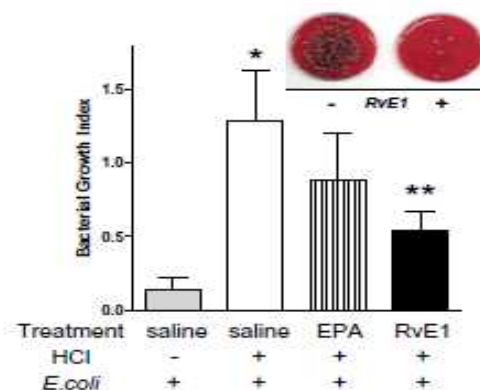
与えないような手段を用いて施行した。また、患者血清採取に関しても、慶應義塾大学医学部倫理委員会承認のもと、患者の同意を得た上で施行した。

4. 研究成果

細菌投与量を 10^5 colonies/ mouse ならびに 10 倍量である 10^6 colonies/ mouse で投与を行ったところ、 10^6 colonies/ mouse 投与群では細菌投与 12 時間後に 75%マウスの死亡を認めため、評価に適さないと判断し投与量を 10^5 colonies/ mouse とし誤嚥性肺炎モデルを作製した。

本モデルに対して当初検討予定であった抗炎症性脂質メディエーターLxA4を前投与して検討したところコントロール群の BGI と比較し優位な差を認めなかった(BGI: 1.40 ± 0.35 v.s 0.86 ± 0.22 p=0.22)。そこで申請者はオメガ酸脂肪酸のひとつであるエイコサペンタエン酸(EPA)由来の抗炎症性脂質メディエーターである RvE1 を用いて検討した。その結果 コントロール群と比較し RvE1 投与群は明らかに塩酸障害後の大腸菌の増殖を抑制した(図 1) (BGI: 1.29 ± 0.33 v.s 0.54 ± 0.13 p<0.05)。さらに RvE1 の前駆体である EPA の投与を行ったが大腸菌の増殖を抑制することはできなかった。このことから本モデルに対して RvE1 の効果を検討することとした。

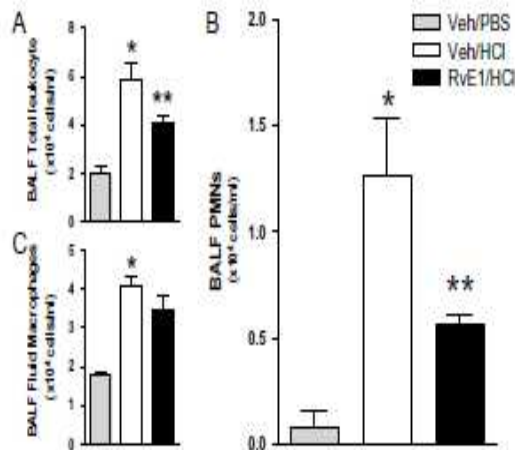
(図 1: 誤嚥性肺炎モデルにおける RvE1 の効果)



次に種々のサイトカイン・ケモカイン産生に対する影響を検討したところ、肺の MPO 濃度は RvE1 投与群において有意に低下した ($1010.0 \pm 59.6 \text{ ng/ml}$ v.s $550.2 \pm 44.6 \text{ ng/ml}$, $p < 0.05$)。さらに上清中の炎症性サイトカインである IL-1 β , IL-6, KC, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β の産生も RvE1 投与群において抑制された。さらに炎症後期に出現する炎症性メディエーターである HMGB1 も RvE1 投与群で抑制されることが明らかになった。

次に塩酸肺傷害のみの場合も効果を認めるか検討した。結果気管支肺胞洗浄液(BAL)中の白血球数、マクロファージ数には影響は与えなかったが、好中球数を有意に抑制した (図2)。

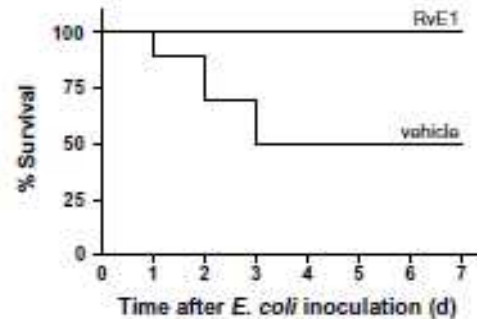
(図2：塩酸肺傷害に対する RvE1 の効果)



このことから RvE1 の予防的投与によって塩酸による肺障害の惹起を抑制することでその後の細菌性肺炎の増悪を防ぐことが示唆された。

更に誤嚥性肺炎後の生存率を検討したと

ころ RvE1 投与群は非投与群に比べ明らかに生存率を改善した (図3)。



(図3：RvE1 投与による誤嚥性肺炎後生存率への影響)

以上より誤嚥性肺炎マウスモデルにおいて RvE1 は大腸菌の増殖ならびに肺内への好中球浸潤や炎症性サイトカイン・ケモカイン産生を抑制し、さらに生存率を改善した。治療が難渋する誤嚥性肺炎において抗炎症性脂質メディエーター RvE1 は今後新たな治療薬のひとつになる可能性が示唆された。

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0件)

なし(現在投稿準備中)

〔学会発表〕(計3件)

1. 福永興壹、関博志、有田誠、浅野浩一郎、石坂彰敏：誤嚥性肺炎マウスモデルにおける抗炎症性脂質メディエーター レゾルビン E1(RvE1)の効果. 第49回日本呼吸器学会学術講演会(東京) 2009.6.14 ポスターディスカッション

2. 福永興壹：魚油と抗血栓、抗炎症.
2007.11.23 予防医学会（鹿児島）シンポジウム

3. 福永興壹：抗炎症性脂質メディエーター レゾルビンと肺炎症性疾患. 第 13 回日本エンドトキシン研究会（鹿児島）2007.10.19 イブニングシンポジウム

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

特になし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

福永 興壹 (FUKUNAGA KOICHI)

慶應義塾大学・医学部・共同研究員

研究者番号：60327517

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし