

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K08928

研究課題名(和文)敗血症におけるInnate Lymphoid Cell の機能解析

研究課題名(英文)Functional Analysis of Innate Lymphoid Cell in sepsis.

研究代表者

津田 雅庸 (Tsuda, Masanobu)

愛知医科大学・災害医療研究センター・教授

研究者番号：70506683

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：今回の研究では自然免疫系のリンパ球であるInnate Lymphoid Cell (ILC)の敗血症における機能解析を行った。

当院集中治療室に入院した敗血症患者とEICUに入室した非敗血症患者(外傷、くも膜下出血、熱傷、心肺停止後症候群、急性薬物中毒など)で比較検討を行った結果ILC-1細胞はリンパ球中で敗血症群 $0.32 \pm 0.03\%$ 、非敗血症群 $0.40 \pm 0.03\%$ と非敗血症群で有意($p > 0.05$: Mann-Whitney test)に高値を示した。一方自然免疫系で重要な働きをするNK細胞は敗血症群 $13.5 \pm 2.0\%$ 、非敗血症群 $14.7 \pm 1.4\%$ と有意差を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の検討では敗血症患者においてILC細胞が減少している結果となった。このことは敗血症における免疫抑制の一因を担っていると考えられる。実際に単球中のHLA-DR陽性細胞も敗血症では($48.0 \pm 6.0\%$)非敗血症($74.0 \pm 5.0\%$)と比べ有意($p < 0.05$: Mann-Whitney test)に減少しており、敗血症における免疫抑制の理由の一つを示唆される結果となった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed the function of Innate Lymphoid Cell (ILC), a lymphocyte of the innate immune system, in sepsis.

Comparison of septic patients admitted to the intensive care unit and non-septic patients admitted to the EICU (trauma, subarachnoid hemorrhage, burns, post-cardiopulmonary arrest syndrome, acute drug intoxication, etc.) showed that ILC-1 cells were significantly ($0.32 \pm 0.03\%$ in the septic group and $0.40 \pm 0.03\%$ in the non-septic group) higher in the lymphoid cells than in the septic group. The sepsis group showed significantly higher levels ($p > 0.05$: Mann-Whitney test) than the non-sepsis group ($0.32 \pm 0.03\%$). On the other hand, NK cells, which play an important role in the innate immune system, were $13.5 \pm 2.0\%$ in the septic group and $14.7 \pm 1.4\%$ in the non-septic group, showing no significant difference.

研究分野：免疫

キーワード：Innate Lymphoid Cell 敗血症 免疫抑制 Immunoparalysis

1. 研究開始当初の背景

救急集中治療分野において感染の制御は患者の予後を最も左右する因子であり、重症感染領域ではその免疫機構で自然免疫の重要性が再認識されている。生体の免疫系は感染性微生物に対してさまざまな防御機構を構築している。免疫機構は大きく自然免疫と獲得免疫も2つに分類され、自然免疫は、Toll様受容体 (TLR) などを介して、病原体を排除し、主に好中球やマクロファージ、Natural Killer (NK) 細胞といった細胞が担っている。近年自然免疫系での重要な発見がされ、抗原受容体を持たない自然免疫系のリンパ球が存在することが明らかになり、Innate Lymphoid Cell (ILC) と命名された (Spits H, Di Santo JP. *Nat Immunol.* 2011;12:21-7.)。これらの ILC 細胞は産生するサイトカインにより ILC1、2、3 のサブセットに分類されサブセットはそれぞれ CD4 陽性 T 細胞と対応する転写因子によって分化・制御されており (Sonnenberg GF, Artis D. *Nat Med.* 2015;21:698-708.)、炎症早期に大量のサイトカインを産生することにより生体防御機構の一翼を担っていると考えられている。ILC1 は恒常的に Th1 細胞分化の転写因子である T-bet を発現し、IL-12 に反応して IFN γ や TNF α を産生し、炎症性ミエロイド系細胞の遊走を促進することで、感染制御を担う重要な細胞であることが示されている (von Burg N, Turchinovich G, Finke D. *Front Immunol.* 2015;6:416.)。

2. 研究の目的

今回の研究において自然免疫系のリンパ球である Innate Lymphoid Cell (ILC) の敗血症における機能解析を行い、新たな診断治療の指標とすべく研究を行った。
この研究によりまず敗血症における ILC 細胞群の分布がどのように変化するかを確認を行い、これにより敗血症における変化をとらえ、非敗血症の重症患者の免疫と比べ新たな知見が得られるかの確認を行う。

3. 研究の方法

当院集中治療室 (Emergency Intensive Care Unit: 以下 EICU) に入院した重症患者と健常人で ILC 細胞の分布に違いがあるのかの検討をまず行った。更に敗血症患者 (Sepsis-3 (*JAMA.* 2016 Feb 23;315(8): 801-10. doi: 10.1001 / jama.2016.0287.) における敗血症) と EICU に入室した非敗血症患者 (外傷、くも膜下出血、熱傷、心肺停止後症候群、急性薬物中毒など) で比較検討を行った。

EICU 入室時に Polymorphprep™ (AXIS-SHIELD PoC AS) を用い単核球成分を抽出し、抽出したリンパ球は細胞表面抗原マーカーを染色、フローサイトメトリーを使用し T 細胞 (CD45⁺, CD3⁺)、B 細胞 (CD45⁺, CD3⁻, CD19⁺)、単球 (CD45⁺, CD3⁻, CD14⁺)、NK 細胞 (CD45⁺, CD3⁻, CD56⁺)、ILC1 lineage negative CD45⁺ CD127⁺ CD161^{+/+} CD294⁻ CD117⁻ として解析を行った。

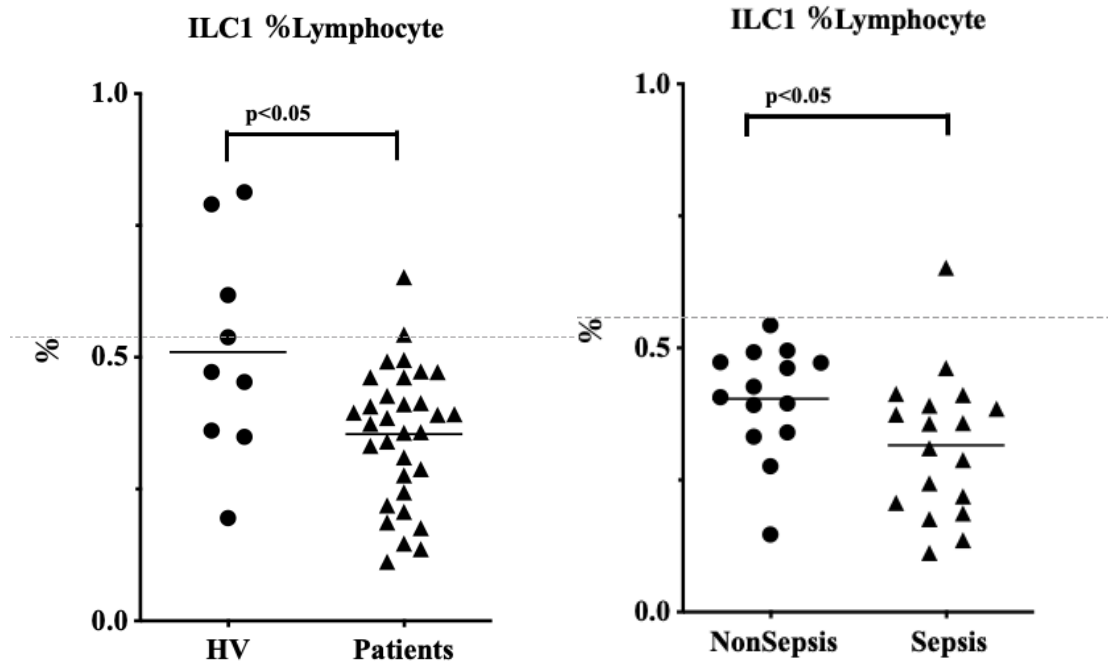
4. 研究成果

ILC 細胞の分布は、健常成人では単核球中で健常人 0.50 ± 0.07%、EICU 入室群では 0.34 ± 0.02% と健常成人で有意 (p > 0.05: Mann-Whitney test) に高値を示した

ここで健常成人に比べ重症病態では ILC 細胞の割合が低下していることが解析できたため、更に敗血症における違いの検討を行った。

平均年齢は敗血症 (中央値 73.0 歳)、非敗血症 (中央値 67.0 歳) (2 群において有意差なし)、C-reactive protein は敗血症 13.5 ± 2.0 (SE) mg/dl、非敗血症 8.8 ± 1.8 mg/dl と差は認めなかったがプロカルシトニン は敗血症群で有意に上昇していた (敗血症 17.5 ± 7.3 ng/ml、非敗血症 1.1 ± 0.3 ng/ml)。

ILC-1 細胞はリンパ球中で敗血症群 0.32 ± 0.03%、非敗血症群 0.40 ± 0.03% と非敗血症群で有意 (p > 0.05: Mann-Whitney test) に高値を示した。一方自然免疫系で重要な働きをする NK 細胞は敗血症群 13.5 ± 2.0%、非敗血症群 14.7 ± 1.4% と有意差を認めなかった。また BDTM CBA Flex Set を使用しサイトカイン産生の影響も検討を行ったが、INF γ (敗血症群 11.1 ± 3.9 pg/ml、非敗血症群 10.1 ± 4.7 pg/ml)、IL-6 (敗血症群 81.8 ± 33.4 pg/ml、非敗血症群 10.9 ± 1.5 pg/ml)、IL-10 (敗血症群 9.7 ± 4.0 pg/ml、非敗血症群 9.8 ± 4.1 pg/ml)、TNF α (敗血症群 14.6 ± 5.6 pg/ml、非敗血症群 9.2 ± 3.8 pg/ml) にそれぞれ有意差を認めなかった。



今回の検討では健常人に比べ重症患者で ILC が減少していること、さらには敗血症患者において他の重症病態患者と比較しさらに ILC 細胞が減少している結果となった。このことは敗血症における免疫抑制の一因を担っていると考えられる。実際に単球中の HLA-DR 陽性細胞もフローサイトメトリーで解析を行い敗血症では(48.0 ± 6.0%)、非敗血症(74.0 ± 5.0%)と比べ有意($p < 0.05$: Mann-Whitney test)に減少しており、敗血症における免疫抑制の理由の一つを示唆される結果となった。

経時的な ILC の変化については今回の検討では行うことができなかったため今後さらなる検討も必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 津田 雅庸
2. 発表標題 敗血症における Innate Lymphoid Cellsの解析
3. 学会等名 47回日本集中治療学会学術度総会
4. 発表年 2020年

〔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	武山 直志 (Takeyama Naoshi) (00155053)	愛知医科大学・医学部・特命教授 (33920)	

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
---------	---------