

平成 23 年 5 月 19 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590674

研究課題名（和文） 肺組織で観察される単球系細胞の性状解析と法医診断

研究課題名（英文） Histological analysis of mononuclear cells observed in the lung and its application to forensic diagnosis

研究代表者

大島 徹 (Ohshima Tohru)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：40183024

研究成果の概要（和文）：

熱中症及び熱傷性ショックで死亡したグループ（第1群）と、機械的窒息で死亡したグループ（第2群）に分けて、細胞数の比較検討を行ない、病理組織学的観察を行ったところ、機械的窒息死事例の肺組織においては、高温の悪影響による熱中症や熱傷性ショック死事例と比べて、単球及び多核巨細胞が多数認められた。また、一酸化炭素中毒死のグループ（第3群）にもマクロファージ及び多核巨細胞減少の傾向が認められ、遊走する数はある程度、浸出物の多寡と相関する傾向にあった。法医診断において、単球系細胞の観察によって、以上3群間の鑑別診断の精度が上がるものと考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Victims of heat stroke or burn shock (Group 1) and those of mechanical asphyxia (Group 2) were examined by the count of mononuclear cells infiltrated. In fact, a larger number of macrophages, as activated monocytes and polynuclear cells were observed in the lung tissues of Group 1 victims than that of Group 2. Also victims of carbon-monoxide poisoning (Group 3) were tested to find that similar tendency was seen as Group 1.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

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：法医診断, 肺組織, 単球系細胞, マクロファージ, 巨細胞, 窒息, 熱傷性ショック, 免疫組織化学

1. 研究開始当初の背景

生体の無酸素症、いわゆる窒息が原因で死亡した事例において、肺組織内にマクロファージや巨細胞などの単球系細胞が出現することが報告されているが、マクロファージや巨細胞の肺組織での出現は窒息に特異的な所見ではなく、病死や外傷死の場合にも認められる。また、これら以外にも喫煙、加齢及び General Organ Death いわゆる多臓器不全による死でも出現するとされている。したがって、このような理由から、窒息死肺におけるマクロファージと巨細胞の位置付けはまだ十分明らかではなく、重要な検討課題として残されているものと着想するに至った。

2. 研究の目的

現時点では、機械的窒息の鑑別に必要な、マクロファージや多核巨細胞の性状が充分明らかにされておらず、特に免疫組織化学的手法を用いた解析は殆どなされていない。したがって、我々は今回の申請で、熱中症と熱傷性ショックに認められる比較的細胞成分の乏しい肺組織像に注目し、機械的窒息との比較検討を行い、特に乳幼児突然死症候群 (Sudden Infant Death Syndrome)、熱中症と熱傷性ショック及び機械的窒息の鑑別に、肺の病理組織標本上での単球系細胞の算定、及びその質の評価が有効であるかについて検討し、法医診断の向上を目指した。

3. 研究の方法

材料は司法解剖で得られた肺組織、対象とする死因は機械的窒息及び熱傷性ショックで、平成 22 年度には一酸化炭素中毒例を加え、最終的に、計 22 事例が検討された。H&E 染色では、核の性状と肺胞内に存在する顆粒で単球が観察され、また、同様の核を有して貪食能の活発化を示す細胞の大きさの変化からマクロファージが同定された。高倍率 (対物レンズ, 40X) 視野下、ランダムに選んだ場所で肺胞内滲出物の量及び細胞数を調べた。単球・マクロファージは顆粒を伴う広い胞体を有し肺胞壁から肺胞側へ遊離しているものを数え、多核巨細胞は核が 2 個以上のものを数えた。ただし、以下の条件を満たす組織像の観察であることが必要であった。

1) いずれの事例、部位にも肺炎の像は認められない。

2) 原則肺胞構造が明確な部分のみで観察、従って、ブラ (胸膜下) の部分や肺胞出血により赤血球主体の末血で占められた部分を除く。

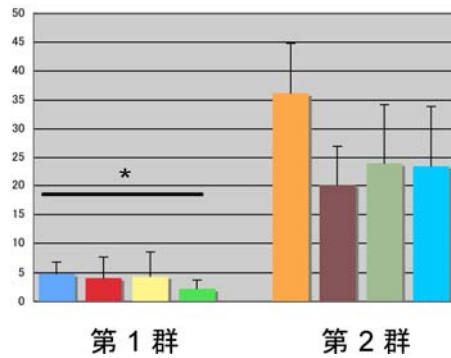
視野の数として計 100 視野を検索した。目的とする細胞、すなわち単球、マクロファージ及び多核巨細胞を確実に同定し、算定を容易にするために、免疫組織化学的染色 (ABC 法) を用いた。材料は中性ホルマリン (pH 7.6) で固定し、パラフィン包埋されたものを 1 µm に薄切したのちに、ガラス製プレパラートに乗せて用いた。キシレンで脱パラフィン後、免疫組織化学的染色を間接法に準じて行い、最終的にジアミノベンチジン (DAB) で対象細胞を可視化した。一次抗体はモノクローナル抗体の抗単球系細胞抗体を用い HAM56

(Sigma 社, 1:200 希釈), CD68 (Bioponica 社, 1:100 希釈) を用いた。

4. 研究成果

熱中症を疑われる 6 ヶ月男児、熱傷性ショックで死亡した 44 歳及び 85 歳男性、ならびに 87 歳女性のグループ (第 1 群) と、機械的窒息で死亡した 2 ヶ月及び 6 ヶ月の男児、並びに 64 歳男性と 40~50 歳の身元不明男性のグループ (第 2 群) に分けて、細胞数の比較検討を行ない、病理組織学的観察を行ったところ、機械的窒息死事例の肺組織においては、高温の悪影響による熱中症や熱傷性ショック死事例と比べて、単球及び多核巨細胞が多数認められた。免疫組織化学的に CD68 陽性細胞は HE 染色で観察及び算定された単球/多核巨細胞とほぼ同じ数と分布を示した。HAM56 は、CD68 陽性細胞を対象 (100%) としたとき、その 85% / 80% が陽性であった。

単球・マクロファージ数 *p<0.001



最終年度、新たに一酸化炭素中毒死のグループ（第3群）を加えて検討したところ、一酸化炭素中毒でもマクロファージ及び多核巨細胞減少の傾向が認められ、遊走する数はある程度、浸出物の多寡と相関する傾向にあった。

肺以外の全身諸臓器において、第1～第3群を明確に区別するために有用な組織所見は認められなかった。以下に熱中症及び熱傷性ショックを含む第1群で認められた平均的な病理組織所見を示す。

脳：全体のうっ血及び脳浮腫、

肺：高度うっ血及び隔壁拡大を伴う間質性浮腫、

肝：肝細胞の腫大とグリコーゲンの減少、

腎：充血、間質性浮腫及び尿管上皮の腫大、尿管内に尿円柱様に濃縮されたタンパク成分、

心筋：間葉系細胞の核膨化、

副腎：うっ血、間質浮腫及び皮質上皮壊死。

今後は、一酸化炭素中毒事例数を増やして定量化に努める一方で、第1群～第3群の3群間の識別の精度を一層高めるために有用な組織学的所見を明らかにしていきたい。

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9件)

- ① Zuka M., Onoe T., Kawano M., Yamagishi M., Ohshima T., Sudden death of a young male with previously undiagnosed autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD), *Leg Med (Tokyo)*, 13(2011), 35-38, 査読有

- ② 塚正彦, 大島 徹, 自動車運転中に発症し死亡した急性冠症候群の2事例, *日本交通科学協議会誌*, 第10巻, 第1号(2011), 17-20, 査読有
- ③ 永江 圭吾, 塚正彦, 大島 徹, ビニール袋を被り窒息死した2事例, *日本警察医学会雑誌*, 第6巻, 第2号(2011), 14-19, 査読無
- ④ 塚正彦, 大島 徹, 脳底動脈瘤破裂で死亡した常染色体優性多発嚢胞腎(ADPKD)の男性例, *日本法医学雑誌*, 第64巻(2010), 62-62, 査読無
- ⑤ 塚正彦, 大島 徹, 自家用車運転中に急性冠動脈症候群を発症した2事例, *日本法医学雑誌*, 第63巻(2009), 69-69, 査読無
- ⑥ 濱 隆昭, 塚正彦, 大島 徹, 異なった場所で発見された夫婦入水自殺例でのプランクトン検査結果, *日本警察医学会雑誌*, 第4巻(2009), 42-44, 査読無
- ⑦ 濱 隆昭, 塚正彦, 大島 徹, 北陸地方(主に石川県)におけるプランクトン検査の統計的検討, *日本警察医学会雑誌*, 第4巻(2009), 29-34, 査読無
- ⑧ 塚正彦, 大島 徹, 肺組織における単球及び多核巨細胞数算定の法医診断への応用, *日本法医学雑誌*, 第62巻(2008), 50-50, 査読無
- ⑨ Ohshima T., Fatal heat injury incident in a private home for elderly people: a case report, *Med Sci Law*, 46(2006), 270-272, 査読有

[学会発表] (計7件)

- ① 塚正彦, 大島 徹, 銃創が死因となった自殺の4例, 第32回日本法医学会中部地方会, 2010年10月23日, 富山県民会館(富山県)
- ② 塚正彦, 大島 徹, 脳底動脈瘤破裂で死亡した常染色体優性多発嚢胞腎(ADPKD)の男性例, 第94次日本法医学会総会, 2010年6月24日, タワーホール船堀(東京都)
- ③ 塚正彦, 大島 徹, 海面と水没した車内で遺体が発見された親子心中例, 第31回日本法医学会中部地方会, 2009年10月24日, ホテルコンコルド(静岡県)
- ④ 塚正彦, 大島 徹, 自家用車運転中の急性冠動脈症候群, 第45回日本交通科学協議会総会, 学術講演会, 2009年5月30日, 玉川大学視聴覚センター(東京都)
- ⑤ 塚正彦, 大島 徹, 自家用車運転中に急性冠動脈症候群を発症した2事例, 第93次日本法医学会総会, 2009年5月14日, 千里ライフサイエンスセンター(大阪府)

- ⑥ 塚 正彦, 大島 徹, 肺組織における単球及び多核巨細胞数算定の法医診断への応用, 第 92 次日本法医学会総会, 2008 年 4 月 24 日, 長崎ブリックホール (長崎県)
- ⑦ 塚 正彦, 大島 徹, ファンヒーターによる熱中症が疑われる乳児死亡例, 第 29 回日本法医学会中部地方会, 2007 年 10 月 27 日, 名古屋市立大学(愛知県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大島 徹 (Ohshima Tohru)
金沢大学・医学系・教授
研究者番号 : 40183024

(2) 研究分担者

塚 正彦 (Zuka Masahiko)
金沢大学・医学系・講師
研究者番号 : 00272956