

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592127

研究課題名(和文)

侵襲病態下における生体内細胞環境変動の解明と、これに基づく新規予防、治療法開発
 研究課題名(英文) New insight into paracellular environmental changes under severe
 insults and their application to critically ill patients

研究代表者

藤島 清太郎 (FUJISHIMA SEITARO)

慶應義塾大学・医学部・准教授

研究者番号：00173419

研究成果の概要(和文):

我々は、高度侵襲後の過剰炎症反応、感染などへの高感受性と急性肺損傷(ALI)などの臓器不全発症、易感染性の原因として、生体内細胞環境の異常変動を疑い、細胞培養と動物実験系を用いて検討した。その結果、IL-18濃度低下に伴う多数の遺伝子変動、およびIL-18少量投与の新たな動物モデルにおける抗炎症効果を明らかにし、臨床応用の可能性を示した。さらにALIモデルで、IL-17欠損による炎症反応の増悪を見だし、IL-17の新たな機能の可能性を示した。

研究成果の概要(英文):

We hypothesized that abnormal paracellular environmental changes under severe insults induce overwhelming inflammation, hypersensitivity to infection, and immuno-suppression, and used mice models of systemic inflammatory response syndrome and acute lung injury (ALI), as well as in vitro cell culture systems. We found that decrease in IL-18 levels induced changes in numerous genes in vitro, and in vivo supplementation of IL-18 resulted in anti-inflammatory effects in animal models. Furthermore, using a mouse model of ALI, we found that lack of IL-17 aggravated inflammation, suggesting new roles of IL-17.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学

キーワード：CCR4, interleukin -18, SIRS, interleukin -17

1. 研究開始当初の背景

生体が高度の侵襲に暴露されると、全身性炎症反応症候群(SIRS)を呈したり、感染な

どの二次刺激を契機に敗血症性ショック、多臓器不全の発症、感染の重篤化などが続発する。我々はこの原因として、生体内細胞環境

の異常変動を疑い、本研究を計画した。

2. 研究の目的

本研究は、細胞培養と動物実験系を用いて、未知の生体内細胞環境異常変動を明らかにし、さらに異常変動の補正が免疫機能・細胞機能に及ぼす効果を検証することで、重度侵襲に続発する多臓器不全、特に炎症性肺疾患である急性肺損傷(ALI)、急性呼吸促進症候群(ARDS)に対する新規治療法、予防法を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) マウスの SIRS、炎症性肺疾患モデルにおける、侵襲後の免疫・炎症、栄養・電解質・代謝変動の総合的解析：

マウス熱傷モデル、マウス塩酸吸入モデル、マウスブレオマイシン吸入モデルなどにおいて、蛋白アレイ、遺伝子発現解析チップ、免疫組織染色を用いて生体内細胞環境の変動を網羅的に解析する。

(2) 生体内細胞環境変動を試験管内で再現した状況下での、細胞反応性、抵抗性の解析：

肺実質細胞、免疫細胞を上記で明らかとなった異常変動、または免疫・炎症、栄養・電解質・代謝関連因子の濃度を様々に変えた環境下で培養し、生理的機能(細胞形態、代謝機能、など)や、細菌内毒素、炎症性サイトカイン等の侵襲因子に対する反応性、代謝機能、抵抗性などの変化を明らかにする。

(3) マウスの SIRS、炎症性肺疾患モデルを用いた、異常変動補正による病態変化の検討：

上記(2)で有効性が示唆された因子を中心に解析する。

4. 研究成果

(1) マウスの SIRS、炎症性肺疾患モデルにおける、侵襲後の免疫・炎症、栄養・電解質・代謝変動の総合的解析：

マウス肺に 0.1N 塩酸 50 μ l を経気道的に投

与すると、2日後に好中球集積が最大となるALIを発症する。本モデルの肺を免疫組織学的に検討した結果、1日後に細気管支上皮、肺泡領域いずれにおいても、上皮細胞の修復・再生に関与する Musashi-1 の発現が誘導されており、全肺における Musashi-1 遺伝子発現解析でも、同様の結果を得た。

また以前我々は、ARDS患者の肺局所 IL-17 濃度が高値を示すことを認めていたことから、東京大学医科学研究所と共同で、IL-17 欠損マウスを用いたブレオマイシン吸入後1週間以内に生じるALI病態の差異を検討した。IL-17 欠損マウスにおいては、予想に反し野生型マウスに比べて生存率が有意に低下し、肺組織中の好中球数も増加していた。

(2) 生体内細胞環境変動を試験管内で再現した状況下での、細胞反応性、抵抗性の解析：

以前我々が見いだした、熱傷後敗血症性ALIモデルにおける、少量 IL-18 補充の病態改善の機序を解明するため、健常マウスの脾臓を摘出し、脾細胞を種々の濃度の IL-18 共存下で培養後、遺伝子発現を解析した。その結果、約 100 個の U 字型または逆 U 字型変動を示す遺伝子を同定した。このうち、炎症との関連が疑われる IFITM1、IFITM2/3、SOCS1、SOCS3 に関し、種々の IL-18 濃度で培養したヒト単球系培養細胞 MonoMac6 における発現変動を解析したが、いずれも明らかな発現量の差を認めなかった。

(3) マウスの SIRS、炎症性肺疾患モデルを用いた、異常変動補正による病態変化の観察：

以前の我々の研究で明らかとなった、熱傷後の肺におけるケモカイン MDC/CCL22 増加と、同受容体 CCR4 に対する拮抗薬による生存率改善効果の機序を検討した。その結果、CCR4 拮抗薬投与群で肺の炎症性細胞浸潤が

有意に抑制されていた。

また、マウスブレオマイシン吸入 ALI モデルを用いて CCR4 拮抗薬や TARC/CCL17 遺伝子欠損の効果を検討したが、明らかな ALI 病態の改善を認めなかった。

IL-18 少量補充療法の応用については、熱傷前負荷を行わない細菌内毒素誘発 ALI においても、病態の改善を認めた。

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 37 件)

藤島清太郎、急性肺損傷(ALI)、急性呼吸促迫症候群(ARDS)の病態と診療、日救急医会誌、査読有、Vol 21、No 10、2010、819-827

Fujishima S, Shiomi T, et al, Production and activation of matrix metalloproteinase-7 in idiopathic pulmonary fibrosis, Arch Pathol Lab Med, 査読有, Vol 134, No 8, 2010, 1136-11452

Sekine K, Fujishima S, et al., In vivo IL-18 supplementation ameliorates lethal acute lung injury in burn-primed endotoxemic mice: a novel anti-inflammatory role of IL-18, Shock, 査読有, Vol 32, No5, 2009, 554-562

山元良、藤島清太郎、他、遅発性肺損傷を呈した塩素ガス吸入 2 症例の検討。日救急医誌、査読有、2009、Vol 20、No 7、390-396

Yogo Y, Fujishima S, et al., Macrophage derived chemokine (CCL22), thymus and activation-regulated chemokine (CCL17), and CCR4 in idiopathic pulmonary fibrosis, Respir Res, 査読有, Vol 10, 2008, 84(1-9)

Fujishima S, Morisaki H, et al., Neutrophil elastase and systemic inflammatory response syndrome in the initiation and development of acute lung injury among critically ill patients Biomed Pharmacother, 査読有, Vol 62, 2008, 333-338

宮木大, 藤島清太郎、相川直樹、【救急・集中治療領域の感染管理】救急患者における人工呼吸器関連肺炎の臨床的検討、日本外科感染症学会雑誌、査読有、Vol 5、2008、49-54

藤島清太郎、関根和彦、宮木大、他、Sepsis に対する新規治療戦略：一次侵襲後の免疫・栄養学的予防療法、Shock、査読無、Vol 23、2008、53-58

[学会発表](計 53 件)

藤島清太郎、急性肺損傷：病態の多様性と治療のストラテジー、第 25 回日本 Shock 学会総会、2010 年 5 月 28 日、東京
藤島清太郎、関根和彦ら、重症患者 lipopolysaccharide (LPS) 高感受性機序の解明：IL-18 の免疫修飾作用、第 15 回日本エンドトキシン研究会、2009 年 11 月 14 日、東京

Fujishima S, Okano H, et al., Expression of Musashi-1 in bronchiolar and alveolar epithelium in normal and injured mouse lungs, American Thoracic Society The 104th International Conference, , 2008 年 5 月 28 日, Toronto, Canada

[図書](計 11 件)

藤島清太郎、関根和彦ら、医学図書出版、エンドトキシン研究：重症患者 lipopolysaccharide (LPS) 高感受性機序の解明：IL-18 の免疫修飾作用、2010、41-45

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤島 清太郎 (FUJISHIMA SEITARO)

慶應義塾大学・医学部・准教授

研究者番号：00173419

(2) 研究分担者

宮木 大 (MIYAKI MASARU)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：60365400

関根 和彦 (SEKINE KAZUHIKO)

慶應義塾大学・医学部・共同研究員

研究者番号：90296715

(3) 連携研究者

中野 泰 (NAKANO YASUSHI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：90528225