

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09052

研究課題名(和文)穿孔性細菌性腹膜炎におけるエクソゾームの役割の解析と、臨床への応用

研究課題名(英文)Analysis of role of exosome in septic peritonitis and its clinical application

研究代表者

河野 寛 (Kono, Hiroshi)

山梨大学・大学院総合研究部・特任准教授

研究者番号：40322127

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)：敗血症に起因する肺障害発症におけるexosome(Exo)とマクロファージの活性化について検討。穿孔性腹膜炎モデル(CLP)作成後に採取した血液よりexosome(Exo)を分離し正常ラットに静注。投与後の肺の病理組織変化、肺に浸潤する好中球数を検討。正常ラットより肝マクロファージ(Mf)と肺Mfを分離しExo刺激によるMf活性化をTNF産生より検討。TLR4受容体拮抗剤を共培養した系においても検討した。Exoの正常動物への投与は、肺の炎症細胞浸潤と急性肺障害を誘発。MfはExo刺激によりTNF産生が増加し、TLR4受容体拮抗剤により有意に低下。敗血症において血中Exoは急性肺障害を惹起した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血中のエクソゾームが敗血症時の臓器障害の発症に関与する事実が明らかとなり、エクソゾームが敗血症に起因する肺障害発症の基幹的因子である可能性が考えられる。今後、エクソゾームを標的とした敗血症性臓器障害の治療への要用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：The activation of exosome (Exo) and macrophages in the development of lung injury caused by sepsis was studied. Exo was isolated from blood collected after CLP model and injected intravenously into normal rats. The histopathological changes in the lungs and the number of neutrophils infiltrating the lungs were examined after administration. Hepatic pulmonary macrophages (Mf) were isolated from normal rats, and the activation of Mf by Exo stimulation was examined, and TLR4 receptor antagonist was also examined in the co-cultured system. TLR4 receptor antagonist significantly decreased TNF production. Exo in blood induced acute lung injury in sepsis.

研究分野：炎症免疫機構の解析

キーワード：臓器マクロファージ 肝類洞免疫 敗血症性臓器障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

穿孔性細菌性腹膜炎に起因する肺障害は宿主の生命に大きく関与する。したがってその発症機序の解明は重要な課題である。

2. 研究の目的

今回、穿孔性細菌性腹膜炎における血中 exosome (Exo) と肝マクロファージの活性化について検討した。

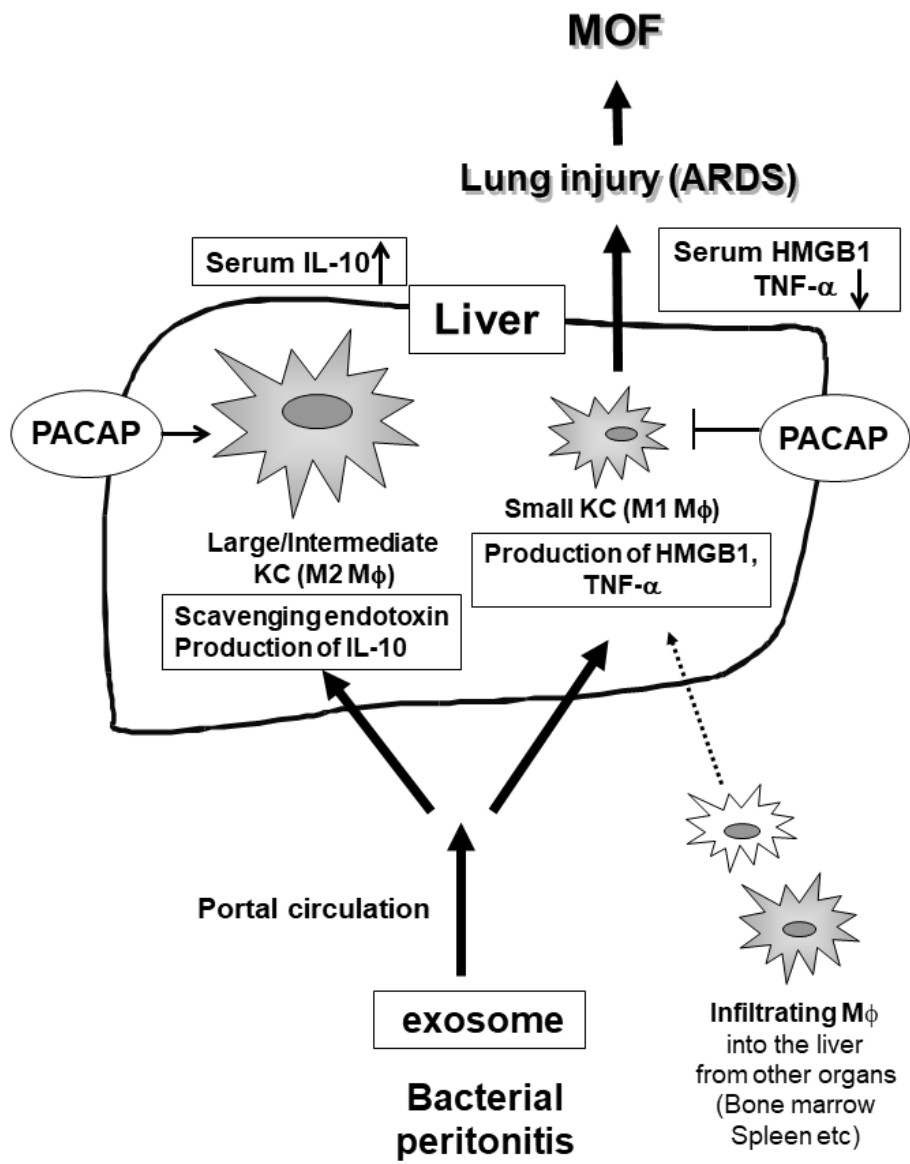
3. 研究の方法

ラット穿孔性腹膜炎モデル (cecal ligation and puncture model: CLP) 作成 12 時間後に採取した血液より exosome (Exo) を遠心法により分離し、正常ラットに尾静脈より静注した。投与後 24 時間での肺の病理組織変化、肺に浸潤する好中球数を検討した。さらに、Toll like 受容体 4 (TLR4) 拮抗剤と、肝マクロファージ (KC) 除去目的のためのリポソーム封入クロドロネート (liposome-encapsulated clodronate) を投与した動物に Exo を静注した CLP モデルにおいても検討した。正常ラットより肝マクロファージ (M ϕ) と肺間質 Mf を分離し、Exo 刺激による肝 Mf と肺 Mf の活性化を TNF-alpha 産生より評価検討した。また、TLR4 受容体拮抗剤を共培養した系においても臓器 Mf の活性化を検討した。

4. 研究成果

CLP モデル作成後、すべての動物が生存した。CLP モデルラット由来 Exo の正常ラットへの投与は、肺の炎症細胞浸潤と急性肺障害を誘発した。これらの変化は TLR4 受容体拮抗剤と肝マクロファージの除去により改善した。肝 M ϕ ならびに肺 Mf は Exo 刺激により TNF-alpha 産生が増加し、この活性化は肝 Mf で特に増強した。また、M ϕ の TNF-alpha 産生は TLR4 受容体拮抗剤により有意に低下した。

結論：穿孔性細菌性腹膜炎において、血中 Exo は急性肺障害を惹起することが明らかとなり、その機序の 1 つとして Exo 刺激による TLR4 を介した臓器 Mf とくに肝 M ϕ の活性化の関与が考えられた。細菌性腹膜炎における肝臓と肺の臓器相関が示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河野 寛
2. 発表標題 消化管穿孔性腹膜炎に起因する肺障害における血中exosomeと肝マクロファージの活性化の役割について
3. 学会等名 日本腹部救急医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河野 寛
2. 発表標題 消化管穿孔性腹膜炎に起因する肺障害における血中exosomeと肝マクロファージの活性化の役割について
3. 学会等名 日本肝臓学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

なし

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	細村 直弘 (Hosomura Naohiro) (60402070)	山梨大学・大学院総合研究部・助教 (13501)	

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