

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月13日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890018

研究課題名（和文）誤嚥性肺炎の新規動物モデルの確立と革新的治療法の探索

研究課題名（英文）Exaggerated lymphangiogenesis and remodeled blood vessels in a mouse model and human patients of aspiration pneumonia

研究代表者

岡崎 達馬（TATSUMA OKAZAKI）

東北大学・病院・助教

研究者番号：40396479

研究成果の概要（和文）：これまでマウス慢性誤嚥性肺炎モデルはなかった。また慢性炎症は血管のリモデリングやリンパ管新生を惹起するが、繰り返す誤嚥性肺炎を慢性炎症と捉えた報告もなかった。またその脈管系の解析もなかった。我々はマウス誤嚥性肺炎モデルを作成し慢性炎症の存在及び血管のリモデリングとリンパ管新生を気道や肺で認めた。これらの原因タンパク質の発現を確認し誤嚥性肺炎で亡くなった剖検例の肺で慢性炎症とリンパ管新生亢進を確認した。

研究成果の概要（英文）：Previous studies did not show chronic inflammation or vascular changes in aspiration pneumonia or its animal models. We established a mouse model of aspiration pneumonia, and showed chronic inflammation, blood vessel remodeling, and lymphangiogenesis in the model and in patients.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：呼吸器内科学

科研費の分科・細目：呼吸器内科学

キーワード：誤嚥性肺炎、リンパ管新生、血管のリモデリング、マウスモデル、慢性炎症

1. 研究開始当初の背景

誤嚥性肺炎は入院肺炎症例のうち66.8%を、70歳以上では80.1%を占めており（*J Am Geriatr Soc* 2008）、肺炎は研究開始当初日本の死因の第4位であった。誤嚥性肺

炎の研究は高齢者の高い罹患頻度と死亡率、その家族の経口摂取継続等の要望、増え続ける症例数等からニーズの高い実際的な分野であると考えられる。一般的に誤嚥性肺炎は繰り返すため抗生剤の反復投与と耐性菌の

出現が問題となり新規治療戦略が求められている。誤嚥性肺炎は通常型、人工呼吸器関連肺炎、びまん性嚥下性細気管支炎の3つに分類され通常型が殆どを占めるが、これまで新規治療法の開発に必要な通常型誤嚥性肺炎の動物モデルがなかった。これまで慢性誤嚥性肺炎の動物モデルは存在せず、一般的に繰り返しおこるとされる誤嚥性肺炎での慢性炎症を指摘した報告はなかった。また、一般的に慢性炎症は血管のリモデリングやリンパ管新生を起こすとされているが、誤嚥性肺炎における血管やリンパ管等の脈管系を解析した報告はなかった。

2. 研究の目的

新しい通応型の誤嚥性肺炎の動物モデルとしてマウスを用いたモデルを作成する事を最初の目的とした。次に気道及び肺における慢性炎症の存在を確認する事とした。慢性炎症を確認した後その脈管系の解析を行い、気道と肺における血管のリモデリングとリンパ管新生の有無を確認する事とした。また誤嚥性肺炎で亡くなった患者さんの剖検例の肺を解析し慢性炎症やリンパ管新生の有無を確認し動物モデルとの整合性を確認する事とした。これらから誤嚥性肺炎の新たな解析対象を探索する事を目的とした。

3. 研究の方法

マウスに誤嚥物を模しトロメリンで粘性を付けた lipopolysaccharide を溶解した溶液と胃液成分で気道上皮の透過性を亢進させる pepsin をとかし HCL で pH 1.8 にした溶液を 20 μ L ずつ、週 5 日、経鼻的に計 4 週投与し 1 週毎に解析した。肺胞洗浄で洗浄液中の白血球の数を評価し気管リンパ節の重量を計測し誤嚥性肺炎の重症度の推移を評価をした。定量的 RT-PCR 法 (Q-RT-PCR 法) で気管と肺の炎症性タンパク質、血管リンパ

管新生に関連するタンパク質の発現量を計測した。気管と肺の血管及びリンパ管を蛍光免疫染色し気管で毛細血管の直径と新生リンパ管の芽の数を計測した。肺でリンパ管の肺に占める面積を測定した。気管と肺の H&E 染色で慢性炎症の有無を確認した。誤嚥性肺炎で亡くなった方の剖検肺をリンパ管のマーカーで免疫染色しリンパ管の数を数え、また H&E 染色で慢性炎症の存在を確認した。

4. 研究成果

マウス誤嚥性肺炎モデルの肺胞洗浄で白血球の増加を 1 週目から認め 3 週目にピークとなった。気管リンパ節の重量は 3 週目と 4 週目にピークを迎えた。Q-RT-PCR 法で炎症性タンパク質、血管のリモデリングに関係するタンパク質、リンパ管新生に関連するタンパク質の発現を計測したところ誤嚥モデルの肺及び気管で 3、4 週目をピークに上昇を認めた。具体的には気管の毛細血管の直径と新

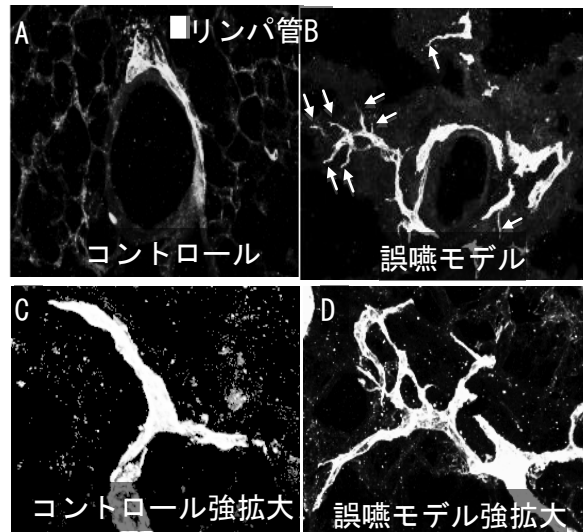


図 1; 肺の免疫染色でリンパ管を白で示している。誤嚥モデルの肺 (B) ではリンパ管新生が亢進しコントロール (A) に比べて白色部分が増え、伸びようとする細長い新生リンパ管の芽が見える (矢印)。強拡大ではコントロール (C) に比べ誤嚥モデルのリンパ管 (D) は直径が大小不同で穴があいていたり異常な形態をもつ事が分かる。

生リンパ管の芽の数は誤嚥モデルで亢進を認め気道での血管のリモデリングとリンパ管新生の亢進が示唆された。誤嚥性肺炎モデルの肺ではコントロールマウスでは観察されなかった異常な形態のリンパ管が観察された (図1)。

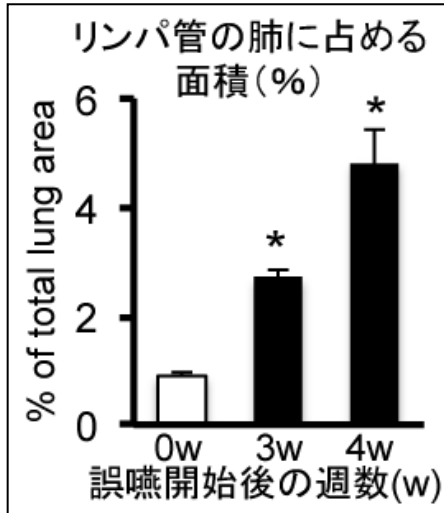


図2; 誤嚥モデルの肺をリンパ管のマーカーで免疫染色し肺に占める面積を定量化した。誤嚥開始後3週(3W)及び4週(4w)後にリンパ管の増加を認めた。* $P < 0.05$, 0w(コントロール)群との比較で。

肺でリンパ管の肺に占める面積は誤嚥モデルで上昇を認めリンパ管新生の亢進が示唆された(図2)。H&E染色は気管と肺での慢性炎症の存在を示唆していた。ヒトの剖検例の肺では誤嚥性肺炎の患者さんで免疫染色を用いてリンパ管の増生およびH&E染色を用いて慢性炎症の存在が確認された。

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2件)

①Kaijun Niu, Hui Guo, Yinting Guo, Satoru Ebihara, Masanori Asada, Takashi Ohru, Katsutoshi Furukawa, Masakazu Ichinose,

Kazuhiko Yanai, Yukitsuka Kudo, Hiroyuki Arai, Tatsuma Okazaki, and Ryoichi Nagatomi

Royal jelly prevents the progression of sarcopenia in aged mice in vivo and in vitro

Journal of Gerontology: Biological Sciences 2013年 掲載確定 査読有 doi: 10.1093/gerona/glt041

②Niu K, Asada M, Okazaki T, Yamanda S, Ebihara T, Guo H, Zhang D, Nagatomi R, Arai H, Kohzuki M, Ebihara S.

Adiponectin Pathway Attenuates Malignant Mesothelioma Cell Growth

Am J Respir Cell Mol Biol. 46; 515-23, 2012 査読有

[学会発表] (計4件)

①岡崎達馬、海老原覚、海老原孝枝、一ノ瀬正和

新規通常型誤嚥性肺炎のマウスモデルの確立とその脈管系の解析

日本老年学会 2013年06月05日

大阪

②Tatsuma Okazaki, Mayumi Nihei, Satoru Ebihara, Makoto Kobayashi, Kaijun Niu, Mutsuo Yamaya, Takae Ebihara, and Masakazu Ichinose

Exaggerated lymphangiogenesis and remodeled blood vessels in a mouse model and human patients of aspiration pneumonia
American thoracic society 2013年05月22日 フィラデルフィア 米国

③二瓶真由美、岡崎達馬、小林誠、菊地利明、海老原覚、一ノ瀬正和

誤嚥性肺炎の新規動物モデルの確立と革新的治療法の探索

日本呼吸器学会 2013年04月20日 東京

④ Tatsuma Okazaki, Basil Petrof.

Effects of Muscle-Specific Inhibition Of
The NF- κ B Pathway On Diaphragmatic
Function In Murine Sepsis,

American thoracic society 2012年05月22

日 サンフランシスコ 米国

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡崎 達馬 (TATSUMA OKAZAKI)

東北大学・病院・助教

研究者番号：40396479

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者