

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592753

研究課題名(和文)骨軟部組織損傷後の臓器傷害発生メカニズムの検討

研究課題名(英文)A clarify of a mechanism of remote organ failure after tissue injury

研究代表者

塚本 剛志 (Tsukamoto, Takeshi)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：20626270

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：外傷後に発生する、臓器障害発生メカニズムを解明するため、我々は新しい骨軟部組織損傷モデルを開発し、その妥当性を検討した。

我々の開発した骨軟部組織損傷モデルは、マウスの四肢・胸郭をミンチし(以下TBX: tissue bone matrix)、随意量のTBXを同種マウスの背部皮下に移植するものである。今回の実験では、TBX移植後21時間で腸管運動麻痺を引き起こし、また全身性の炎症性変化を惹起することが分かった。

研究成果の概要(英文)：To clarify the mechanism of remote organ failure after traumatic injury, we developed a new tissue trauma model (TBX model) and investigated the validity of this model.

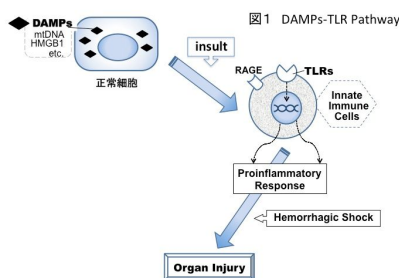
TBX induced a systematic inflammatory response and attenuated a intestinal motility at 21 hours after transplantation of TBX.

研究分野：生体侵襲学

キーワード：外傷 軟部組織損傷 遠隔臓器障害

1. 研究開始当初の背景

外傷による侵襲は、サイトカインをはじめとする炎症性メディエーターを活性化することにより全身性炎症を惹起し、その炎症進展を制御できない場合には多臓器不全 (MODS) を引き起こすと考えられる。その死亡率は集中治療の進歩した現在においても依然高いままであり、その発生機序は未だ明らかとなっていない¹⁾。MODS は外傷症例において出血性ショックを伴う重症外傷症例の集中治療経過中に見られることが多いため、これまでは主に出血性ショックによる虚血再灌流が臓器障害に与える影響に研究の視点が向けられてきた。しかし、このような重症外傷患者では多くの場合著しい軟部組織損傷を伴っており、この軟部組織損傷が臓器障害の発生に重要な役割を果たしているのではないかと発想に至った。実際、近年の研究により、重症外傷後に生じる全身性炎症反応の発症には組織損傷、および組織損傷より放出される内因性因子が重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。すなわち、損傷により自らの組織より放出されるミトコンドリア DNA (mtDNA) や high mobility group box 1 (HMGB1)、ヒアルロン酸などの内因性 danger signal は damage-associated molecular patterns (DAMPs) として toll-like receptors (TLRs) や receptor for advanced glycation end products (RAGE) 等のレセプターを介して炎症細胞を活性化し、局所ならびに全身の炎症発生に重要な役割を果たしていると考えられてきている。



動物実験において、出血性ショックに骨軟部組織損傷を組み合わせ、各臓器や全身への影響を観察するモデルはこれまでも多数報告されている。これらの実験モデルで使用された骨軟部組織損傷は開腹、骨折、筋挫滅等であるが、それらは必ずしも臨床的な外傷を反映しておらず、外傷に伴う疼痛や、鎮痛目的で投与される麻酔薬が外傷後に起こる炎症反応を修飾してしまうなどの欠点が見られた。さらに、これらのモデルでは骨軟部組織損傷の程度 (外傷の重症度) をコントロールすることができず、骨軟部組織損傷そのものが外傷後の炎症、臓器障害に与

える影響を検討する有用なモデルが存在しないのが現状である。そこで我々は新しい骨軟部組織損傷モデルを開発した。それは、マウスの四肢・胸郭をミンチし (以下 TBX: tissue bone matrix) 任意量の TBX を同種マウスの背部皮下に移植するものであり、骨軟部組織損傷そのものが外傷後の炎症、臓器障害に与える影響を評価することを可能にした画期的な実験系であると思われる。また、このモデルは、移植後に鎮痛薬を使用する必要も無く、外傷後の炎症、免疫反応を検討する上でも有益なモデルであると考えられた。今回我々はこの今までの骨軟部組織損傷モデルの欠点を補った新しいモデルを開発し、その妥当性を調べた。

2. 研究の目的

我々の開発した骨軟部組織損傷モデルの有効性を調べる。

3. 研究の方法

マウスの筋肉、骨をミンチし (tissue-bone matrix 以下 TBX)、同種マウスの背部皮下に TBX を移植する外傷モデル (図 1) を作製し、このモデルの腸管研究における妥当性を検討した。方法としてまず TBX 移植後の消化管輸送能を調べるため (*in vivo*)、腸管から吸収されない蛍光デキストランを移植後 2 1 時間で経口的に投与し、経口投与後 7 5 分で消化管を摘出し、摘出した腸管を 1 5 分割 (胃 (1)、十二指腸と小腸 (10)、盲腸 (1)、大腸 (3)) し、腸管の蛍光デキストランの分布を調べた (図 2)。

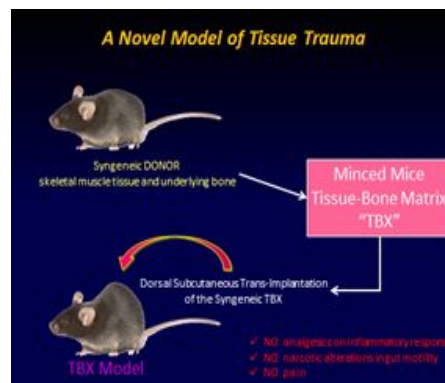


図 1

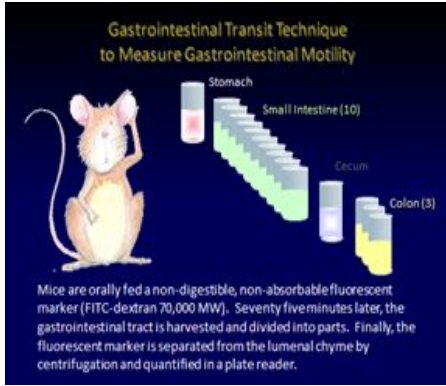


図 2

さらに我々は TBX 移植後の全身への影響を調べるため、17.5% TBX 移植後 2 1 時間の血漿中の炎症性メディエータを測定した。

4. 研究成果

T B X は容量依存性にマウス腸管運動を抑制することが分かった。また体重あたり 2 0 % 以上の移植は、致死的事であることも分かった。(図 4、図 5)

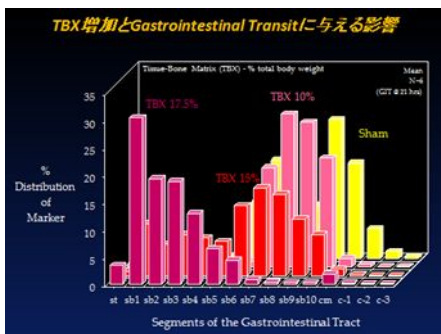


図 4

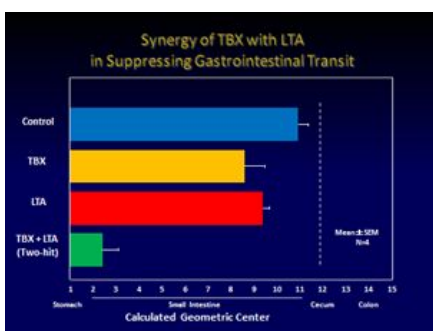


図 5

TBX 移植後の全身への影響を調べるため、17.5% TBX 移植後 2 1 時間の血漿中の炎症性メディエータを測定した。TBX 移植群は、IL-6、KC、IL-10 とともに Sham 群と比べ有意な上昇を認め、少なくとも TBX 移植後 2 1 時間の timepoint では全身性の炎症が引き起こされていることが分かった。

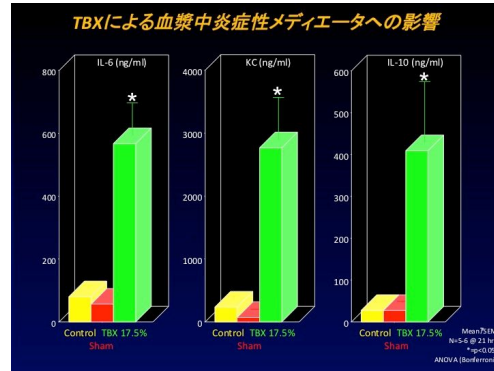


図 6

以上、今回の研究をまとめると、
 • TBX は量依存性に腸管輸送能の遅延（イレウス）を引き起こした。

• TBX 移植は全身性の炎症反応を惹起した。

• 同種の TBX を移植するこの新しいモデルは、骨・軟部組織損傷後の全身性炎症反応の研究、または出血性ショックやその他の侵襲を加えることで、two-hit モデルとして利用できる点でも有用であり、外傷後の MODS へ発展するメカニズムの解明につながる可能性のあるモデルであると考えられる。

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 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
 出願状況 (計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：

発明者：

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者
塚本 剛志 (Tsukamoto, Takeshi)
日本医科大学・医学部・助教
研究者番号：24592753

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：