

課題番号 65

人工呼吸惹起性肺障害(VILI)下における Neutrophil Extracellular Traps (NETs)形成の加齢による影響

[1] 組織

代表者：Wolfgang Kuebler
(Charité - Universitätsmedizin Berlin
・ Institute of Physiology)
対応者：堀内 久徳
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：
田淵 新 (Charité - Universitätsmedizin
Berlin ・ Institute of Physiology)

研究費：物件費 380,460 円、旅費 67,540 円

[2] 研究経過

[研究目的・概要]

人工呼吸は急性肺障害治療に欠かせない一方で、好中球浸潤を伴う炎症反応を増悪させ、人工呼吸惹起性肺障害(Ventilator Induced Lung Injury: VILI)の原因となるが、急性肺障害による死亡率の高い高齢者では VILI も重症化しやすいと考えられている。近年、好中から放出される Neutrophil Extracellular Traps (NETs)が感染防御だけでなく、広範な炎症性疾患に関わっていることが示されつつある。申請者らもマウスの VILI モデルにおいて NETs 形成が誘導されることを確認したが(Yildiz *et al.*, *Anesthesiology*. 2015 Apr;122(4):864-75)、重症化しやすい高齢者の VILI において NETs 形成がどのような状態にあるのかは未だ知られていない。従って、NETs 形成を *in vivo* で評価できるマウスモデルを確立した 加齢医学研究所の堀内研究室 (Shishikura *et al.*, *Br J Pharmacol*. 201 Jan; 173(2):319-31)と協力し、VILI における NETs 形成の加齢による影響を明らかにするのが本研究の目的である。

[研究打ち合わせ]

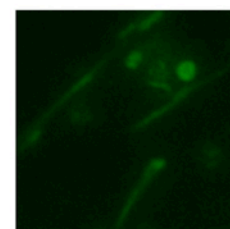
共同研究開始当時、カナダ、トロント市の Keenan Research Centre, St. Michael's Hospital に所属

していた代表者らは老年マウスを使った実験計画などにつき、ネット会議やメールで適宜、議論を行った。また分担者は7月27日から29日にかけて堀内研究室を訪れ、堀内研での研究手法、成果についてレクチャーを受ける一方、分担者は加齢研セミナーを行うことで、互いの研究室の特長と協力方法につき理解を深めた。10月に代表者及び分担者がドイツ・ベルリン市の Charité - Universitätsmedizin Berlin に異動したことに伴い、老年マウスの飼育が中断したため、その時点で得られた少数のマウスで基本実験をおこなった。今後も堀内研と話し合いながら、本研究を継続、展開してゆく。

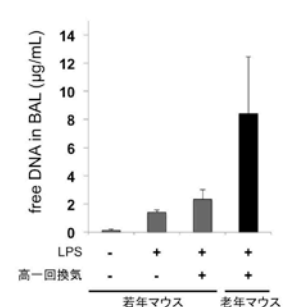
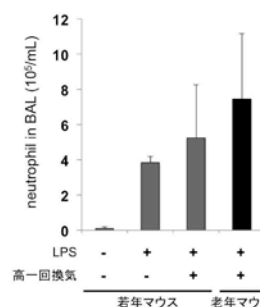
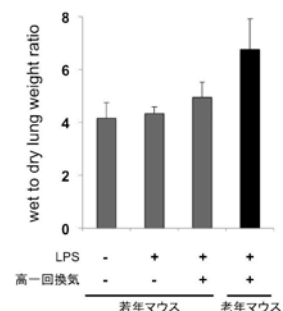
[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。
月齢 16 以上の老年マウスを得るため一般的に行われているように、St. Michael's Hospital (SMH) の動物実験施設で C57bl/6J 成年マウスの長期飼育を開始した。得られた老年マウスは、月齢2~3の対照若年マウスと共に Lipopolysaccharide (LPS) 吸入と高一回換気量(20ml/kg 体重)換気の double hit model を用いて VILI を評価した。



肺胞洗浄液中には好中球とsytox greenにて蛍光を発するNETs様構造が見られた



VILI を惹起したマウスの肺胞洗浄(BAL)液内には好中球と NETs 様構造が認められた。老年マウスでは肺コンプライアンスの低下、wet to dry lung weight ratio 及び肺胞洗浄液中の好中球数上昇において、より強い肺障害の傾向を認め、BAL 内 DNA 濃度は高かった(図像参照)。高齢者の VILI において NETs が増悪因子として働くという仮説を支持する所見と考えられた。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、臨床的に重要な問題である人工呼吸惹起性肺障害 (VILI) の重症化について、特に高齢者と NETs 形成の関係に光を当てるものである。研究経過で述べたような経緯で現在基本段階にある実験を重ねる他、Kuebler 研での生体顕微鏡を用いた肺内 NETs 評価、堀内研での高齢マウス白血球の NETs 形成能定量を進めてゆく。また本共同研究は VILI 重症化メカニズムの理解に寄与する他、VILI 治療ターゲットとしての NETs 研究の可能性を開くものである。例えば、PGE2 が NETs 形成を阻害することが最近堀内研によって明らかとされており、本共同研究でも VILI に対する効果を検討する。

[4] 成果資料

研究成果は現時点で未発表である