

小動物敗血症モデルにおける主要臓器での炎症性サイトカイン発現の評価 -リアルタイム PCR による検討-

植山奈美子¹⁾、埴晴雄²⁾、中社惇美¹⁾、清野龍之介¹⁾、

畠山瑛未¹⁾、星幸奈¹⁾、吉澤みなみ¹⁾、藤井豊¹⁾

1) 新潟医療福祉大学 医療技術学部 臨床技術学科

2) 新潟医療福祉大学 健康科学部 健康スポーツ学科

【背景・目的】 敗血症患者は世界で年間約 2700 万人に上り、敗血症ショックを起こすと死亡率は約 30%にもなる重篤な疾患である。敗血症は早期発見・初期治療が重要であり、治療の開始が遅れると、さらに救命率が低下する。しかし、現在では特効薬や効果的な治療方法は確立されておらず、治療成績や各種治療後の生存率などが不明瞭である。

そこで本研究では、敗血症発症時の臓器傷害を捉え、効果的な治療方法の検討につなげるため、敗血症モデルを作製し、リアルタイム PCR 法を用いて主要臓器の炎症性サイトカイン発現の評価を目的に研究を行った。

【方法】 SD ラット(オス・BW: 400~450g)を用い実験を行った。イソフルレンにより麻酔導入および麻酔維持を行い、自発呼吸を保った。尾静脈より翼状針を穿刺し、リポ多糖(LPS: Lipopolysaccharide, Escherichia coli O55 由来)5 mg/kg を投与し、敗血症群 (n=2) を作製した。また、コントロール群 (n=2) として生理食塩水を体重当たり同体積量投与し作製した。

LPS および生理食塩水投与 2 時間後、心臓・肺・肝臓・腎臓を摘出し各臓器 30 mm³ のサンプルを 3 つずつ採取した。リアルタイム PCR により炎症性サイトカインである Monocyte Chemotactic Protein-1 (MCP-1) と Interleukin-6 (IL-6) の発現を比較した。ハウスキーピング遺伝子として各臓器で gamma-actin を測定しその値で、得られた MCP-1 および IL-6 の値を除することで評価した。得られたデータは、平均値±標準誤差で示し、統計解析は、Mann-Whitney の U 検定対応のないを行い、P < 0.01 を有意差ありとした。

【結果】 コントロール群および敗血症群での主要臓器における MCP-1、IL-6 の発現を図 1、図 2 に示す。敗血症群において、MCP-1、IL-6 共にすべての臓器において明らかに発現が高かった。また、敗血症群に焦点をあてると、MCP-1 は心臓で、IL-6 は心臓と肺で各臓器に比べ発現が高い傾向があった。

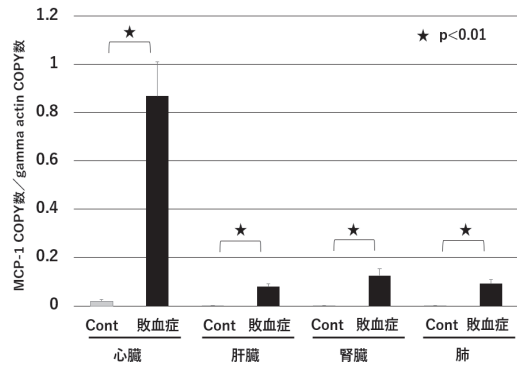


図 1 各群主要臓器における MCP-1 の発現

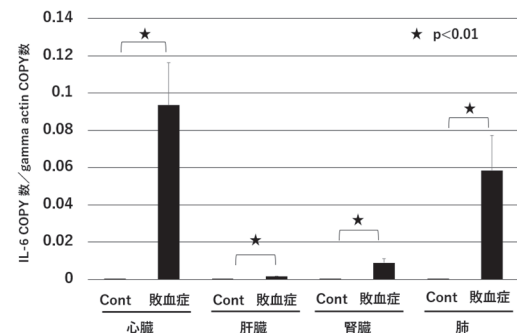


図 2 各群主要臓器における IL-6 の発現

【考察】 今回、LPS 投与により作製した敗血症群において、MCP-1、IL-6 共にすべての臓器において発現が高いことが観察できた。LPS 投与により全身の炎症反応が起こり、各臓器でサイトカインなどの発現が誘発されたと考えることができる。また、敗血症群で MCP-1 は心臓で、IL-6 は心臓と肺で各臓器に比べ発現が高い傾向にあり、発現に差があることが確認できた。これは、敗血症初期には心臓ならびに肺で重篤な障害が引き起こされている可能性を示唆するものであると考える。実際に、臨床上也、急性期に敗血症由来の心筋障害からのショックや、急性呼吸窮迫症候群が起こることが知られている。今後、敗血症モデルにおいて臓器の病理評価などを行い、総合的に病態を評価したい。さらに、本モデルを用い、敗血症に対する治療評価や、また重症度別に治療戦略などの検証に焦点をあて研究を継続していきたい。

【結論】 今回 LPS 投与により敗血症モデルを作製し、各臓器での炎症性サイトカインの発現を評価することができた。敗血症により主要臓器で炎症性サイトカインの発現が顕著であり、特に心臓および肺は傷害を受けやすい臓器である可能性が示唆された。