

Pathophysiological roles of cytokines and chemokines in vital reactions : From Forensic pathology to Molecular pathology

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/31507

【研究紹介】

生体反応におけるサイトカイン・ケモカインの意義
—法医学から分子病理学まで—Pathophysiological roles of cytokines and chemokines in vital reactions
From Forensic pathology to Molecular pathology和歌山県立医科大学法医学講座
近 藤 稔 和

はじめに

法医学は、医と法の接点における社会的諸問題を医学的に解決する医科学であり、主として法医解剖を通じて社会正義を支える重要な役割を担う領域であることはいうまでもない。特に相撲部屋における力士の不審死など昨今の様々な社会問題から、法医学の更なる重要性が叫ばれるようになり、全国的に法医解剖数は増加しており、和歌山県においても例外ではない。そのような状況の中で、実務のみにとどまることなく、研究活動にも力を注いでいる。特に「侵襲と生体反応」をkey wordとして、法医実務での種々の問題点を解決すべく研究テーマは勿論のこと、法医学的研究を出発点として、他分野にも貢献するということをモットーに研究を展開している。

1. 皮膚創傷治癒

皮膚創傷治癒過程は炎症期、増殖期および成熟期と大きく3つの時期に分けられる。炎症期は、形態学的にはいわゆる好中球やマクロファージ等の炎症細胞の浸潤を主体とする時期であり、損傷部からの細菌に対する殺菌効果などをもたらしたり、マクロファージは壊死組織やアポトーシスに陥った好中球を貪食する。炎症期に続く増殖期は、炎症後期で浸潤してきたマクロファージから様々な成長因子が分泌されることにより線維芽細胞が活性化され筋線維芽細胞が増殖し、血管新生も開始され、新たな肉芽組織の構築が盛んとなる。最後に成熟期は、増殖期で構築された過剰な細胞外マトリックスと新生血管が整えるともいえる時期である。これら炎症期、増殖期、成熟期はそれぞれが互いに関連しながら極めて精密に制御された生体反応である。また、この過程には、血液細胞（赤血球、血小板、白血球）、上皮細胞、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、線維芽細胞などの様々な細胞が関わっており、これら細胞成分と細胞外マトリックスが生理活性物質などを通して相互に作用し合いながら治癒が完成される。法医解剖においては、様々な損傷が観察されるわけですが、特に治癒傾向にある損傷では、その損傷がどれくらい前から存在していたのか（損傷の受傷後経過時間）が、大きな問題となることがある。そこで、金沢大学時代からの研究テーマである皮膚創傷治癒過程

において発現する増殖因子やサイトカインの発現検索による皮膚損傷の受傷後経過時間判定法についての研究が重要になってくる。最近では、受傷後早期の損傷については、炎症性メディエーターであるCOX-2が、増殖期においては、血管新生因子であるVEGFや小胞体ストレス蛋白でありVEGFの分子シャペロンでもあるoxygen-regulated protein 150 (ORP150)が、皮膚損傷の受傷後経過時間判定のための有用な指標であることを明らかにした。さらに、骨髄由来の幹細胞・前駆細胞が皮膚損傷治癒に関与していることが報告されており、fibrocyteやendothelial progenitor cell (EPC)の発現も有用な指標となることを実証している。

さらに、遺伝子欠損マウスを用いて皮膚損傷治癒の分子メカニズムの解明を行っており、IFN- γ 欠損マウスでは、IFN- γ /Stat1シグナルが減弱することにより、TGF- β の負のシグナル伝達物質Smad7の発現が抑制され、その結果としてのTGF- β の正のシグナル伝達物質Smad2/3の活性化が亢進し、治癒が促進していた。一方、IL-1 receptor antagonist (IL-1ra)の欠損マウスでは、NF- κ Bが過剰に活性化されることにより、Smad7の発現が増強し、治癒が遅延した。このように、創傷治癒過程におけるTGF- β /Smadsシグナルと様々なサイトカインシグナルとのクロストークが、治癒を制御していることを明らかにした。さらに、骨髄には造血幹細胞以外に組織修復に関与する骨髄由来の幹細胞・前駆細胞が存在することが知られるようになり、創傷治癒における血管内皮前駆細胞 (endothelial progenitor cell, EPC) の関与が示唆されている。EPCはCD34およびFlk-1陽性細胞であるという特徴が知られており、健常時で末梢血中にはわずかに存在するのみであるが、組織が傷害を受けると骨髄から血流によって傷害部位へ動員され、組織修復に関与している。また、EPCは数種のケモカインレセプターを発現しており、これらが傷害組織への集積に重要であるといわれている。CCケモカインレセプター5 (CCR5)欠損マウスの皮膚創傷部では、野生型マウスに比べてEPC集積が少ないために血管新生が減弱し、その結果、皮膚損傷治癒が遅延することを筆者らは見出した。さらに、創傷部局所へのEPC集積には、CCL5-CCR5ケモカインシステムが重要であることを明らかにした。

2. 深部静脈血栓症

肺動脈血栓塞栓症は非常に致死率の高い疾患であり、塞栓子である血栓のほとんどは下肢深部静脈血栓に由来しており、法医解剖では、皮膚損傷と同様に血栓の陳旧度判定は重要であることから、マウス血栓モデルを樹立して免疫組織化学的に血栓陳旧度判定のための有用な指標を探索している。さらに、血栓形成・融解の分子メカニズムについて、IFN- γ 欠損マウスを用いて検討したところ、野生型マウスに比べて血栓が明らかに小さかった。野生型マウスとIFN- γ 欠損マウスの間で線溶系因子の発現に差は認められなかったが、蛋白分解酵素であるMMP-9遺伝子の発現がIFN- γ 欠損マウスでは明らかに増強していた。単離した腹腔内マクロファージにおいて、PMAで誘導されたMMP-9遺伝子発現はIFN- γ の添加により抑制された。このことからIFN- γ が静脈血栓の融解過程において抑制的に作用を有するサイトカインであることが判明した。

3. アセトアミノフェン肝障害

アセトアミノフェンは過剰量の服用により重篤な肝障害を引き起こすことが知られている。アセトアミノフェンの肝毒性の本体は反応性代謝物N-アセチルパラベンゾキノイミン (NAPQI) に由来する。その一方で、アセトアミノフェン肝障害時の肝組織内には著明な炎症細胞の浸潤が認められることから、これら炎症細胞が産生する様々な炎症性サイトカインやケモカインの関与が示唆されている。

IL-1 α は炎症の場においては通常IL-1とともに誘導され、IL-1のproinflammatoryな生物活性を制御している。筆者らは、IL-1 α 欠損マウスが、予想に反してアセトアミノフェン肝障害に対する抵抗性を示すことを認めた。IL-1 α 欠損マウスの肝臓では、恒常的にCYPが抑制されており、アセトアミノフェンからNAPQIへの代謝が制御されることにより、肝障害が軽減することを明らかにした。一方、CXCR2欠損マウスでは、アセトアミノフェン投与後の好中球およびマクロファージ浸潤が減少するのに伴って肝障害が軽減することを筆者らは見出した。CXCR2欠損マウスでは、好中球から産生される肝障害増悪因子iNOSとマクロファージから産生される肝細胞保護因子HO-1の減少が認められ、これらのバランスが最終的に肝障害の程度を決定しているものと考えられた。

4. 敗血症性腹膜炎

腹膜炎の原因としては外傷、感染、消化管穿孔などによる病原細菌の侵襲が挙げられる。多くは急激に症状が出て、急速に全身状態が悪化する急性腹膜炎である。胃・十二指腸潰瘍、急性虫垂炎、急性胆嚢炎、急性膵炎などの腹腔内臓器の炎症の腹膜への波及や、外傷や外科的手術後の腹腔内臓器の穿孔による炎症の波及による細菌感染によって生じる。筆者らが野生型マウスに敗血症性腹膜炎を惹起させたところ、7日後の生存率は67%で

あった。一方、CX3CR1欠損マウスに同様に腹膜炎を惹起させたところ、腹腔内へのマクロファージ浸潤は野生型マウスと同程度であったのにも関わらず、生存率は25%であった。in vitroの実験より、CX3CR1欠損マクロファージはコントロールに比べて殺菌能が低いことが判明した。また、腹腔内マクロファージのLPS刺激後の炎症性サイトカインおよび一酸化窒素産生能はCX3CR1欠損マクロファージで低下していた。したがって、CX3CL1-CX3CR1ケモカインシステムはマクロファージの炎症性サイトカインおよび一酸化窒素の産生能を亢進させることによって、細菌感染症に対する生体防御反応に寄与していることが示唆された。

5. 急性膵炎

急性膵炎も突然死の原因疾患として重要である。IFN- γ 欠損マウスにセルレインを投与したところ、野生型マウスに比べて膵臓における増悪因子COX-2遺伝子の発現がより増強しており、より重症の急性膵炎を発症していた。In vitroの実験においてLPSで処理した好中球にIFN- γ を添加したところ、Stat1のアセチル化亢進に伴いNF- κ Bの活性化が抑制され、結果的にLPSで誘導されたCOX-2遺伝子の発現が有意に減弱した。このことから、急性膵炎におけるIFN- γ の保護的役割を示した。

6. 急性ヒ素中毒

ヒ素は古くから毒物として知られる重金属の一種である。特に急性ヒ素中毒では著明な腎障害をきたすことが知られているが、その分子メカニズムは不明な点が多い。IFN- γ 欠損マウスおよびIL-6欠損マウスでは、いずれもヒ素による腎障害が増悪していたが、そのメカニズムは全く異なるものであった。ヒ素の排泄にはABCトランスポーターであるMRP1が密接に関与している。実際、IFN- γ 欠損マウスでは、MRP1の発現が減弱していた。ヒ素で処理した尿細管上皮細胞に添加したところ、MRP1の発現が増強したことから、IFN- γ がMRP1を介したヒ素の排泄に密接に関与していることが明らかとなった。一方、IL-6欠損マウスでは、尿細管上皮細胞のautophagic cell deathが著明に認められた。In vitroの実験においても、IL-6が尿細管上皮細胞のヒ素によるautophagic cell deathに抑制的に作用することが判明した。

おわりに

法医実務に直結する研究として、水チャンネルとして知られるアクアポリンの肺、脳、腎臓における発現動態が、淡水溺死と海水溺死で異なり、それらの鑑別診断に有用であることを明らかにした。また、時計遺伝子の発現検索が死後経過時間判定に有効な手段となる可能性を示唆している。さらに、肺線維症モデル、*Clostridium difficile* toxin A誘発腸炎モデルにおける病態形成を分子メカニズムについての研究も展開している。