

性不整脈を発症した例はなく術後第1日目から3日目が心房性不整脈発生の好発時期であった。この点に着目し、周術期の中心静脈圧の変化、心房性利尿ペプチド及び、脳性利尿ペプチドの変化を経時的に計測すると。両利尿ペプチドの変化に関して、A群で有意差を伴い心房性不整脈発生前後での上昇傾向が認められた。この結果からは、心房性不整脈発生の前に何らかの心房負荷が生じていることが示唆される。しかし、今回の検討からは心房形態や、中心静脈圧の点からは明らかな違いは検出されなかった。今後、症例を増やすことに加え、他の術前因子や、組織学的側面からの不整脈発生の可能性に関する検討、また周術期の心負荷に関するより詳細な計測が必要であると考えられた。

エリスロポエチン産生線維芽細胞移植による急性脊髄損傷後の2次損傷抑制効果

木村 敦^{1,2}, 村上 孝², 袴田 陽二²
星野 雄一¹, 小林 英司²

1. 自治医科大学整形外科
2. 自治医科大学臓器置換研究部

脊髄損傷後には、受傷後9日程度まで続く二次損傷が進行することが知られており、二次損傷を抑制することは、脊髄損傷に対する治療戦略の一つとされる。最近エリスロポエチンが中枢神経の細胞死を抑制するとの報告があり、今回エリスロポエチンを大量に産生する線維芽細胞を損傷脊髄に移植することで治療効果が得られないか検討した。

まず、 1×10^6 個の細胞をマトリゲルに混入して損傷部に移植したが、ヘマトクリット値が有意に上昇したのみで、運動機能は回復しなかった。エリスロポエチン腹腔内投与の検討では、損傷直後の大量投与が治療効果獲得に重要とされており、今回の細胞移植ではエリスロポエチンの血中濃度上昇の立ち上がりが遅く、濃度も不十分であったことがその理由の一つと考えられた。また、線維芽細胞自身がSemaforin-3Aなどの中枢神経再生抑制因子を産生すること、および脊髄損傷モデルの定量性が低かったことも

理由として考えられた。

このため、まず移植細胞を線維芽細胞ではなく、それ自身が神経細胞に分化し、失われた細胞の補充治療となりうる胎生神経幹細胞とした。しかし、胎生神経幹細胞移植による治療効果については既に報告があるため、これをさらに発展させ、移植神経幹細胞の生存と遊走に関するメカニズムの解明を目的として、脊髄損傷部に発現するケモカインが移植神経幹細胞に与える影響について検討した。

(目的) 脊髄損傷に対する神経幹細胞移植治療の有効性が注目される一方で、移植神経幹細胞の挙動は十分に解析されていない。我々は損傷部に発現するケモカインの役割に注目し、移植神経幹細胞に与える効果について検討した。

(方法) 胎仔脳から神経幹細胞を培養し、ケモカイン受容体の発現をRT-PCRによって検討した。神経幹細胞の増殖はMTT法、分化は免疫染色、遊走能はBoydenチャンバー法により評価した。ラット脊髄圧挫損傷部でのSDF-1発現を経時的に測定した。また、GFPトランスジェニックラット由来の神経幹細胞を損傷部に移植し、CXCR4特異的阻害剤AMD3100による処理群と未処理群に分けて、1週後の生存細胞数と移植部位からの移動距離を計測した。

(結果) 神経幹細胞はCXCR4を強く発現し、そのリガンドであるSDF-1依存的な走化性が観察された。さらに、In vitroでSDF-1は神経幹細胞の増殖を促進し、TNF α による細胞死を抑制した。一方、脊髄でのSDF-1発現部位は主にastrocyteとneuronであり、損傷後に増強した。移植神経幹細胞は、AMD3100で処理した場合に生存が抑制された。

(考察) これらの結果は、SDF-1/CXCR4の相互作用が脊髄損傷を標的とした神経幹細胞移植療法において、移植細胞の集積に重要であることを示唆している。

肺の線維化におけるST2遺伝子の関与について

田島 俊児

1. 研究目的

特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis, 以下 IPF) は、肺が線維化を来して呼吸不全が慢性非可逆性に進行する極めて予後不良の疾患である。また慢性経過中に急性増悪を合併して急速に呼吸不全が進行し、死の転帰をとることが多い。IPF の病因は不明であるが、近年、tumor necrosis factor (TNF)- α や interleukin (IL)- 1β 等の proinflammatory cytokine と interleukin (IL)-4 や IL-5 等のヘルパー T 細胞 type2 (Th2) cytokine の関与が注目されている。TNF- α , IL- 1β , IL-4 は線維芽細胞の増殖と collagen 産生能を促進する一方、Th1 cytokine である interferon (IFN)- γ はこれらを抑制することから、proinflammatory cytokine の作用増強と Th2 にシフトした Th1/Th2 バランスが肺の線維化を促進するとも考えられている。

ST2 遺伝子はマウス線維芽細胞の増殖過程で誘導的に発現される遺伝子として cloning された。ST2 蛋白は IL-1 receptor family に属する可溶性の受容体であるが、ligand は同定されていない。ST2 遺伝子の発現はリンパ球では Th2 特異的であり、気管支喘息患者の発作時に血清中可溶性 ST2 蛋白 (s-ST2) が増加するとの報告がある。さらに、ST2 遺伝子は TNF- α や IL- 1β による刺激で発現が増強することから、ST2 遺伝子は Th2 と proinflammatory cytokine の両者と関係が深いと考えられる。近年、肺の線維化への Th2 系の関与が示唆されているが、線維化と ST2 の関連についての報告はなされていない。そこで今回我々は特発性肺線維症における ST2 遺伝子の関与について検討した。

2. 研究方法

1) IPF 症例における血清 s-ST2 値の検討

当科の IPF 49 例の入院時 (入院回数: 64 回) と健常者 200 例の血清中 s-ST2 を Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法にて測定し、IPF 症例を安定期 (S) と急性増悪期 (AE) に分けて健常対照群 (HC) と比較検討した。

2) Bleomycin (BLM) 肺線維化モデルにおける ST2 遺伝子発現の検討

BLM (5 mg/kg) を気管内投与した C57BL/6

マウスの肺組織中の ST2 mRNA 発現量の経時的変化を reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法で検討した (Control = 無処置の肺組織)。

3) Th2 cytokine と proinflammatory cytokine による ST2 発現増強効果の検討

IL-4 (100 ng/ml), TNF- α (100 ng/ml), IL- 1β (10 ng/ml) を添加した II 型肺胞上皮細胞 (A549) および肺線維芽細胞 (WI38) を無血清で 36 時間培養し、付着細胞の ST2 mRNA 発現を RT-PCR 法で、培養上清中の ST2 蛋白濃度を ELISA 法で検討した (Control = 無刺激の細胞)。

3. 研究成績

1) IPF 症例における血清 s-ST2 値の検討

血清 s-ST2 値は、S 群 (n=50) と HC 群 (n=200) では有意差を認めなかったが、AE 群 (n=14) では有意に高値を示した ($p < 0.01$: AE vs. S or HC. AE, 2.76 ± 0.56 ; S, 0.44 ± 0.07 ; HC, 0.42 ± 0.03 ng/ml)。さらに、血清 s-ST2 値は %VC ($r = -0.35$, $p = 0.03$), PaO₂ ($r = -0.36$, $p = 0.02$), PaO₂/FiO₂ ($r = -0.56$, $p < 0.01$) と有意な負の相関を認め、血清 LDH ($r = 0.34$, $p < 0.01$), CRP ($r = 0.50$, $p < 0.01$) と有意な正の相関を認めた。以上のことから血清 s-ST2 値が IPF における肺障害の重症度および呼吸不全の進行度を反映している可能性が示唆された。

2) BLM 肺線維化モデルにおける ST2 遺伝子発現の検討

BLM モデルでは肺の線維化開始期である Day 7 で control と比較し、IL-4, IL-5, TNF- α , IL- 1β , transforming growth factor (TGF)- β 1 mRNA の有意な発現増強と IFN- γ mRNA の発現減弱傾向を認めた。ST2 mRNA は Day 14 を最大に Day 7-21 で有意に発現が増強し、その発現量は IL-5 ($r = 0.53$, $p < 0.01$), TGF- β 1 ($r = 0.44$, $p = 0.01$) mRNA の発現量とハイドロキシプロリン量 ($r = 0.36$, $p = 0.04$) に相関した。以上の結果から Th2 cytokine と proinflammatory cytokine が優位な状況である肺の線維化亢進過程に ST2 が密接に関与している可能性が示唆された。

3) *Th2 cytokine* と *proinflammatory cytokine* による *ST2* 発現増強効果の検討

A549細胞では IL-1 β +IL-4と IL-1 β +TNF- α +IL-4添加により, WI38細胞では IL-4, IL-1 β +IL-4, TNF- α +IL-4, IL-1 β +TNF- α +IL-4添加の順で, controlと比較し *ST2*mRNA の発現が有意に増強していた。さらに IL-1 β +TNF- α +IL-4を添加した WI38細胞の培養上清で *ST2*蛋白の増加を認めた。以上より *proinflammatory cytokine* と *Th2 cytokine* は *ST2* 発現において相乗あるいは相加効果を持つ可能性が示唆された。

4. 結論

*ST2*遺伝子は肺の線維化亢進過程で発現が増強しており, その発現は *Th2 cytokine* と *proinflammatory cytokine* により誘導されている可能性が示唆された。肺の線維化における *ST2*の役割については, *ST2*のトランスジェニックマウスの BLM モデルなどでさらに検討する予定であり, これらの検討により肺の線維化のメカニズム解明および治療に進展が期待される。