

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月31日現在

機関番号：17701
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2012～2012
 課題番号：24659797
 研究課題名（和文） 敗血症の新規メディエーター“細胞外ヒストン”のダイナミズムの解析
 研究課題名（英文） A role of extracellular histones as mediators of death in sepsis
 研究代表者
 伊藤 隆史（ITO TAKASHI）
 鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・特任講師
 研究者番号：20381171

研究成果の概要（和文）：(1) 血中ヒストン H3 濃度を測定する方法の開発に取り組み、10-1000 ng/mL のレンジで検出可能な ELISA 系を確立した。(2) この ELISA 系を用いて血中のヒストン H3 濃度を測定したところ、健康な人では測定した全例が 0 ng/mL だったのに対し、敗血症・DIC 患者では 0-1464 (中央値: 19.2) ng/mL と有意に高値を示した。また、生存例と比べ、死亡例では高値を示す傾向にあった。(3) マウスの尾静脈からヒストンを静注して病態解析を行ったところ、血栓塞栓症のほか、致死的不整脈を引き起こし、心停止に至ることが判明した。これらのことから、敗血症の際には、核内タンパク質ヒストンが細胞外に放出されて血中濃度が高まり、これによって血栓症や心筋傷害が誘発される可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：We developed a sandwich ELISA to quantify serum or plasma histone H3 levels. The working range of this ELISA was 10-1000 µg/L. Histone H3 was not detectable in plasma of healthy volunteers, but significant levels were observed in patients with sepsis and DIC. These levels were higher in non-survivors compared to survivors. Extracellular histones triggered platelet aggregation, leading to thrombotic occlusion of pulmonary capillaries and subsequent right-sided heart failure in mice. These mice displayed signs of DIC, including thrombocytopenia, prolonged prothrombin time, decreased fibrinogen, fibrin deposition in capillaries, and bleeding symptoms. These findings indicate that histones are released into the extracellular space during sepsis and act as a trigger for fatal thrombotic disorders.

交付決定額

(金額単位：円)

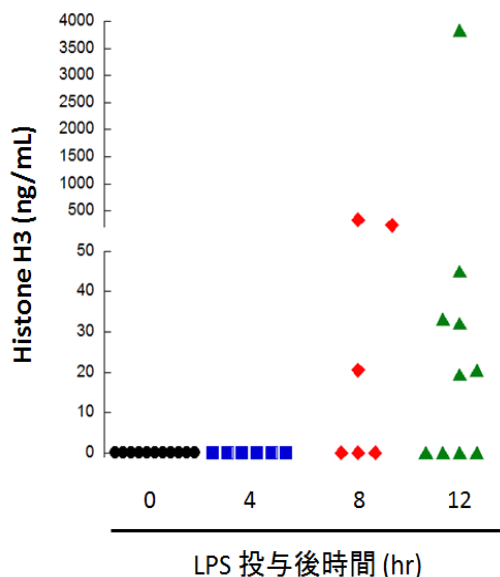
	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学・

キーワード：集中治療医学・敗血症・DIC・炎症・血栓・DAMPs

い結果であった。エンドトキシンを腹腔内に投与したマウスでは、投与4時間後までは血中ヒストン H3 濃度が全例で 0 ng/mL のままだったが、8 時間後には 0-336.1 (中央値: 10.3) ng/mL、12 時間後には 0-3834 (中央値: 20.0) ng/mL に上昇した (下図)。



盲腸結紮穿孔による腹膜炎マウスでも、12 時間後には 2.6-1000 (中央値: 18.8) ng/mL に上昇した。(3) 次に、血中ヒストン濃度の上昇によって引き起こされる病態を考察するために、マウスの尾静脈からヒストンを静注して病態解析を行ったところ、血小板を主体とした血栓が肺の毛細血管にび漫性に閉塞し、心室頻拍のショートラン、房室ブロックなどの致死的不整脈を引き起こし、心停止に至ることが判明した。これらのことから、敗血症・DIC の際には、核内タンパク質ヒストンが細胞外に放出されて血中濃度が高まり、これによって血栓症や心筋傷害が誘発される可能性が考えられた。

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 3 件)

(1) PAMPs/DAMPs による血栓形成と自然免疫
伊藤隆史 日本血栓止血学会誌 23 巻
 241-246 (2012) 査読無
 DOI: 10.2491/jjsth.23.241

(2) PAMPs/DAMPs

伊藤隆史 International Review of
 Thrombosis 8 巻 74-76 (2012) 査読無

(3) NETs (neutrophils extracellular traps)

伊藤隆史 Coagulation & Inflammation 6
 巻 15-16 (2012) 査読無

[学会発表] (計 4 件)

(1) 死細胞由来分子によって引き起こされる
 凝固異常とその制御

伊藤隆史

第 40 回日本集中治療医学会学術集会
 長野県 2013/2/28-3/2

(2) Extracellular histones are eliciting
 factors for DIC

Takashi Ito

58th Scientific and Standardization
 Committee Meeting of the ISTH 2012
 イギリス・リバプール 2012/6/27-30

(3) The Prothrombotic Roles of PAMPs and
 DAMPs

伊藤隆史

第 34 回日本血栓止血学会学術集会
 東京都 2012/6/7-9

(4) PAMPs/DAMPs から紐解く「敗血症の病態
 生理」と「トロンボモジュリンのポテン
 シヤル」

第 34 回日本血栓止血学会学術集会
 東京都 2012/6/7-9

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 隆史 (ITO TAKASHI)

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
 特任講師

研究者番号: 20381171

(2) 研究分担者

丸山 征郎 (MARUYAMA IKURO)

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
 特任教授

研究者番号: 20082282

(3) 連携研究者

川原 幸一 (KAWAHARA KO-ICHI)
大阪工業大学工学部生命工学科
特任教授
研究者番号 : 10381170

中原 真由美 (NAKAHARA MAYUMI)
鹿児島大学医学部・歯学部附属病院
助教
研究者番号 : 90707514

(4) 研究協力者

山田 晋吾 (YAMADA SHINGO)
株式会社シノテスト

永里 朋香 (NAGASATO TOMOKA)
藤森工業株式会社