

研究種目	<input type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input checked="" type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	ゲノム生物学を応用した体外循環に起因する全身性炎症反応に関する研究	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部 心臓血管外科 医学部講師 鷹羽 浄顕 共同研究者：医学部 ゲノム生物学 教授 西尾 和人 医学部 ゲノム生物学 講師 荒尾 徳三	

### 1. 研究目的・内容

心臓外科の発展において、体外循環は開心術を可能にするために、必要不可欠な補助手段である。しかし、生体に対するその侵襲性は依然として克服すべき重要な問題である。

体外循環の生体に対する侵襲性の主たる原因は、全身性炎症反応の惹起であると考えられている。体外循環中に、血液成分である補体及び顆粒球が異物および大気に接触する事により種々のサイトカインが放出され全身性炎症反応を引き起こし多臓器に悪影響を及ぼし、術後患者の予後に致命的な影響を与える。しかし、臨床的にその重症度は個人差がきわめて大きく、予測困難である。体外循環回路による異物反応を抑制し生体適合性を向上するという面で、多くの基礎的研究が行われ回路の血液接触面の医用工学的改良が進んできたが、新たな展望が開けていないのが現状である。<sup>1)</sup>

一方、基礎医学分野であるゲノム生物学 (Genomics) の発展により、Micro-array を用いて種々の病態に対するヒト遺伝子の発現状況を把握する事が可能となり、病態発生機序に対する理解および予後推測を可能にしている。<sup>2)</sup>

実際、心臓外科領域にても Genomics の臨床応用は既に始まっている。冠動脈バイパス術症例において、術後高次脳機能障害に関連する遺伝子発現状況、2 型糖尿病患者における人工心肺前後の特異的遺伝子発現状況などの臨床研究が行われており、体外循環による周術期合併症に関するゲノム生物学 (Genomics) を応用した研究発表が急速に増加している。さらに、9q21 染色体多型解析による周術期心筋梗塞の発生および死亡率の予測など年々その応用範囲も広がりつつある。このような状況から、本研究は、体外循環に起因する全身性炎症反応という臨床的問題に対し、ゲノム生物学 (Genomics) の応用という基礎医学的アプローチにて、その機序解明と克服のため本研究を立案した。

## 2. 研究経過及び成果

### <研究経過>

平成21年12月近畿大学医学部倫理委員会の承認ののち、以下の方法にて、平成22年1月より、同12月まで臨床研究を行った。

#### 【方法】

MECCを用いて心停止下単独CABGを行った10例(MECC群)、従来の人工心肺回路を用いた10例(CECC群)において、体外循環開始前及び体外循環離脱後6時間の時点で、血液サンプルを採取した。顆粒球mRNA成分を抽出し、マイクロアレイ(Affymetrix U133 plus2.0)を用いて発現遺伝子情報を網羅的に検出した。さらに、2群間の遺伝子発現の統計的差異を検出した、検出した遺伝子に関してpathwayを行った。さらに、マイクロアレイ解析にて有意な発現差異のあった遺伝子に関して、RT-PCRを施行し検証した。

### <研究成果>

#### 【結果】

MECC群およびCECC群においてバイパス本数及び男女比、年齢、大動脈遮断時間に有意差はなかった。輸血量において、MECC群(6.3±8.2単位)はCECC群(10.3±7.2単位)に比較して有意に少なかった(p<0.01)挿管時間において、MECC群(7.5±10.2時間)はCECC群(10.3±9.2時間)に比較して短かった。Microarrayにおいて、両群で、体外循環前後にて10倍以上発現亢進する遺伝子84(IL1R1, IL6R2, FAS, AREGなど)、発現低下する遺伝子53(CD160, CX3CR1, TLR7, XCL2など)を同定した。IL-1及びIL-6に関する遺伝子が発現亢進していた。

一方、発現抑制された遺伝子53は、細胞性免疫に関する遺伝子の発現が抑制されていた。

さらに、MECC群がCECC群に比較して有意に発現低下していた遺伝子18(IL1R1, IL6R2, IL8, ICAM2など)を同定した。また、有意2,3-DPGに関する遺伝子が発現亢進しており、MECC群において、組織灌流が改善され、赤血球の破壊が抑制されている事が示唆された。

さらに、炎症反応に拮抗するIL-10の遺伝子発現が亢進していた。

Pathway解析より、MECC群においてCaspaseを介するアポトーシス経路の発現が亢進しており、顆粒球のアポトーシスを促進する事により、全身性炎症反応を抑制している事が示唆された。

以上の網羅的遺伝子発現解析を用いた研究結果より、従来の人工心肺回路に比較してMECCは、遺伝子レベルより全身性炎症反応は抑制していることが、判明した。

さらに、MECCは全身性炎症反応の亢進経路(IL-1)を抑制するとともに抑制経路(IL-10、Apoptosis)も同時に亢進している事が判明した。

## 3. 本研究と関連した今後の研究計画

他の施設における研究から、高齢者における冠動脈バイパス手術において、MECCを使用することにより、術後の高次脳機能の低下(いわゆる痴呆あるいはせん妄)を予防する可能性が示唆されており、術前後にて認知症テストを施行し、cognitive functionとgene expressionの相関を検討する予定である。

さらに、本研究にてMECC群において有意に発現が抑制されていた炎症関連遺伝子において、さらに症例数を増やし遺伝子多型解析を行い、上記遺伝子にて発現されるタンパク質にて体外循環による臨床的炎症反応と相関するバイオマーカーを特定し、検証する予定である

#### 4. 成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
日本冠疾患学会	口頭	2010年12月11日
日本心臓血管外科学会	口頭	2011年2月25日