

## [課程-2]

### 審査の結果の要旨

氏名 比留間 孝広

本検討は腹膜炎後の肺炎をモデルとして、回盲部結紮穿刺 (cecal ligation and puncture; CLP) 後に緑膿菌肺炎 (*Pseudomonas aeruginosa* intratracheal instillation; PAIT) をおこす two hit model を作成し、その重症化のメカニズムを解析したものである。また two hit model に対して、インターフェロン  $\beta$  (interferon  $\beta$ ; IFN $\beta$ ) を用いて治療介入を施行し、その効果とそのメカニズム解析を施行し、下記の結果を得ている。

1. マウスに回盲部結紮穿刺 (CLP) で腹膜炎モデルを作成し、4 日後に緑膿菌を気管内投与する肺炎モデル (PAIT) を作成した two hit (2H) 群は、開腹手術のみの sham 手術後に PAIT 施行した sham 群と比較して、生存率は著明な低下をきたした。
2. 2H 群、sham 群で肺炎 18 時間後の BALF (bronchoalveolar lavage fluid fluid)、肺組織の解析では、Sham 群と比較し、2H 群では BALF 中の KC(keratinocyte-derived chemokine)は低下し、BALF 中の流入好中球数は有意に低下した。2H 群では BALF で炎症性サイトカイン (IL-6、TNF $\alpha$ ) は抑制され、抗炎症性サイトカイン (IL-10) は上昇した。また 2H 群で肺病理・肺障害スコアでより強い傷害を認め、肺乾湿重量比で肺の含水量が有意に高く、肺 MPO (Myeloperoxidase) 値は有意に高値を示した。
3. Sham 群、2H 群に対して CLP3 日後に IFN $\beta$  を投与した 2H,IFN 群、生理食塩水 (NS) を投与した 2H,NS 群で生存率を比較したところ、sham 群と比較して 2H,NS 群で低下した生存率は、IFN $\beta$  投与することで有意に改善した。
4. Sham 群、2H,NS 群、2H,IFN 群で肺炎 18 時間後の BALF、肺組織の解析では、2H,NS 群と比較して 2H,IFN 群では BALF 中の KC は有意に高値であり、好中球数が有意に上昇した。2H,IFN 群は 2H,NS 群と比較して、BALF 中の低下した TNF $\alpha$  が有意に上昇し、IL-6 も上昇する傾向がみられ、肺組織では肺傷害は改善を示した。

5. CLP3 日後に IFN $\beta$ (CLP,IFN 群)または NS(CLP,NS 群)を投与し、Sham 群とあわせて、CLP4 日後の肺炎前に腹腔洗浄液、BALF を回収した。肺胞・腹腔マクロファージを培養後に食能を評価したが、Sham 群と比較して NS 群で有意に低下し、IFN 群では有意に回復した。肺胞・腹腔マクロファージを LPS 刺激後の TNF $\alpha$  発現量は、NS 群と比較して IFN 群では有意に高値を示した。肺胞マクロファージの IFN $\gamma$  受容体 (IFN $\gamma$ R) は、CLP により増加し、IFN $\beta$  の投与で IFN $\gamma$ R はさらに有意に上昇した。

6. CLP3 日後に IFN $\beta$ (CLP,IFN 群)または NS(CLP,NS 群)を投与し、Sham 群とあわせて CLP4 日後の肺炎前に脾臓細胞を採取した。CLP で脾臓細胞の IFN $\gamma$ R は有意に増加したが、IFN $\beta$  による影響はなかった。また脾臓細胞を CD3・CD28 で刺激した際の IFN $\gamma$  分泌能は CLP で有意に低下したが、IFN $\beta$  による影響は認めなかった。

以上より本研究は、two hit model における生存率低下には、免疫機能低下による 2 次感染への脆弱化が寄与している可能性があること、また IFN $\beta$  は CLP により低下した生体防御能を復活させている可能性を示した。また Two-hit model では、肺内の生体防御能が低下しており、IFN $\beta$  はこれらを改善する傾向があることを明らかにした。これらは新規治療方法の開発に重要な役割を果たすと考えられるため、学位の授与に値するものと思われる。