

食塩感受性高血圧における中枢性血圧調節機構

晝間 恵, 煙山健仁, 西田育弘 (防衛医科大学校生理学講座)

【はじめに】

血圧は血液循環の駆動力であり, 体内の臓器を機能的に統合している. 腎臓及び血管などの末梢臓器における局所的調節に加え, 中枢交感神経系は, 血圧調節及び高血圧発症に大きく関わっている. 今回は食塩感受性高血圧における長期血圧調節機構破綻について食塩感受性高血圧のモデル動物である Dahl 食塩感受性 (DSS) 高血圧ラットを用いて検討した.

DSS ラットに 8%NaCl 含有餌を負荷すると, 数日で血圧が上昇し始め, 4 週間の負荷が終わるまでには平均血圧が約 150mmHg に達する. 血圧を降下させ圧受容器反射を刺激すると交感神経活動が増加する (延髄の吻側延髄腹外側部ニューロン活動の抑制がなくなるため). この交感神経活動の亢進による昇圧反応は脳内神経性一酸化窒素合成酵素 (nNOS) を阻害するとさらにそれ以上に増加する. 逆に, nNOS アゴニストである L-arginine を側脳室投与するとこの効果は消失する. 以上から, 食塩感受性高血圧では脳内 nNOS 産生 NO が定常的に交感神経活動を抑制していることが示された. さらに, 高血圧ラットでは脳組織, 特に脳幹部 nNOS の酵素活性及びタンパク量が増加していること, nNOS 含有ニューロンはいくつかの神経核に局在しており, その数も増加していることが分かった. 以上のことより, 食塩感受性高血圧ラットでは nNOS を介した交感神経抑制系が促進していると推測された [1].

今回の研究の目的は, 食塩感受性高血圧ラットにおいて①何がこの脳幹部 nNOS 活性を増加しているのか? 血圧上昇, それとも高食塩? ② nNOS 活性増加は何のためなのか? ③交感神経抑制系が促進しているにもかかわらず, なぜ高血圧が維持されているのか? NO bioavailability (脳組織 nNOS 活性および活性酸素種産生量) の種特異性? を検討することである.

【方法】

① DSS ラットに高食塩負荷と同時に降圧剤 (nifedipine) を投与して血圧を正常化した時の nNOS 活性の変化を測定した.

② 14 日間の高食塩負荷により高血圧発症している Dahl ラットの側脳室に S-methyl-L-thiocitru-line (SMTC) を 12 日間投与して nNOS 活性を継続的に阻害した時の血圧変化をテレメトリーにて測定した.

③ 種特異性を検討する目的で, 脳組織 nNOS 活

性及び活性酸素種生成量を Dahl ラットの親株である Sprague-Dawley (SD) ラット (食塩非感受性) と比較する.

【結果】

Dahl 高血圧ラットでは,

① nifedipine 投与にて血圧を正常化すると, 高食塩負荷しても, 脳幹部 nNOS 活性は正常血圧 Dahl ラットのレベルに戻った (図 1).

② 高食塩負荷により発症した高血圧は, その後 12 日間の脳内 nNOS 活性阻害により, 悪化した (図 2).

③ 間脳部 nNOS 活性は, 高食塩負荷しても活性化されず, SD ラットに比し減少していた. より詳細に検討すると, 室傍核 (間脳部) の nNOS ニューロン数は減少し, 吻側延髄腹外側部 (脳幹部) のそれは増加していた. また, 間脳部活性酸素種産生は SD ラットに比し DSS ラットで増加しており, 高血圧発症するとさらに増加した (図 3).

【まとめ】

食塩感受性高血圧では, 高食塩ではなく, 高血圧それ自身が, 血圧上昇を緩和するために, 脳組織 nNOS を介する交感神経抑制系を活性化することが分かった. しかしながら, この代償作用は高血圧を治療するには不十分である. その原因の一つとして, 間脳部における NO bioavailability 低下 (nNOS 活性低下及び活性酸素種による NO 分解増加) が示唆された [2].

COI 開示. 利益相反はありません.

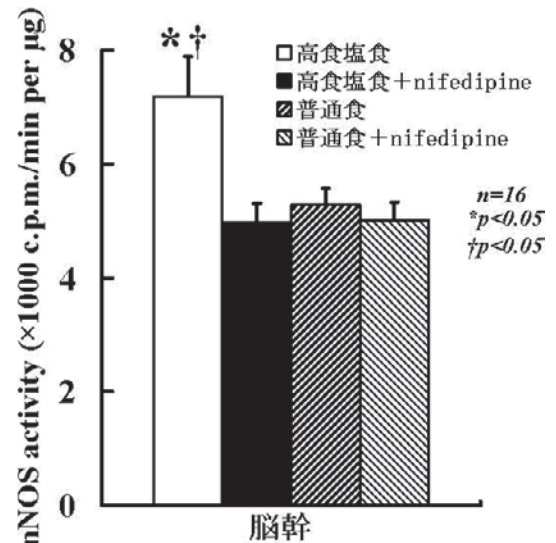


図 1. 血圧正常化の高血圧 DSS ラット脳幹 nNOS 活性への影響

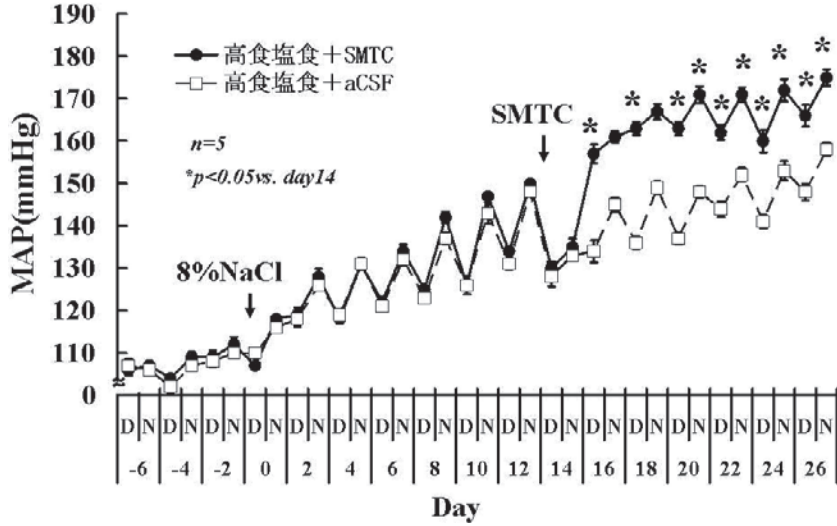
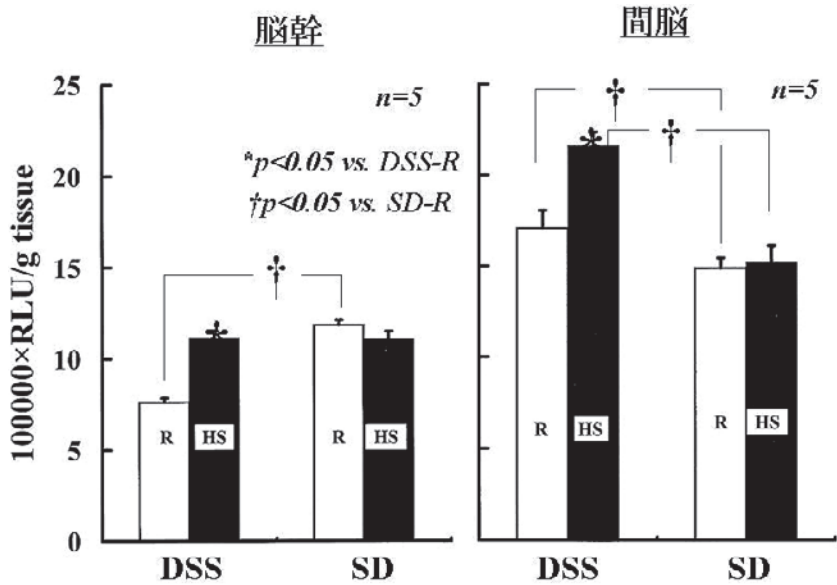


図2. SMTC 継続的脳室内投与による高血圧 DSS ラットの血圧変化



R: 普通食、HS: 高食塩食

図3. 脳幹及び間脳における活性酸素種生成量 (DSS vs. SD)

1. Tandai-Hiruma et al: Brain neuronal nitric oxide synthase neuron-mediated sympathoinhibition is enhanced in hypertensive Dahl rats. *J Hypertens* **23**: 825-834, 2005
2. Tandai-Hiruma et al: High blood pressure enhances brain stem neuronal nitric oxide synthase activity in Dahl salt-sensitive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **40**: 197-204, 2013

スフィンゴシン-1-リン酸2型受容体は内皮型一酸化窒素合成酵素を抑制し、アナフィラキシーショックを防御する

岡本安雄¹, 崔 弘¹, 吉岡和晃¹, 多久和典子^{1,2}, 趙 娟娟¹, 多久和陽¹ (¹金沢大学大学院医薬保健研究域医学系血管分子生理学, ²石川県立看護大健康科学)

【目的】

スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は S1P₁ を介して血管内皮細胞のバリア機能を強化することにより血管透過性を抑制することが知られている [1]. 我々は S1P₂ が血管内皮細胞に発現していることを S1P₂ 遺伝子座に β-ガラクトシダーゼ遺伝子を挿入したノックインマウスを用いて明らかにした [2]. しかしながら, 血管内皮細胞における S1P₂ の血管透過性制御機構における役割は不明である.

内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) により産生される一酸化窒素 (NO) は様々な血管透過性因子による血管透過性亢進に関与していること, またアナフィラキシーショックが Akt-eNOS 経路に依存していることが示されている [3]. 我々は最近, 血管内皮細胞において S1P が S1P₂ を介して

Akt を抑制することを見出した [2].

本研究では, S1P₂ ノックアウト (KO) マウスを用い, S1P₂ が内皮細胞において Akt-eNOS 経路を抑制することにより NO 産生を抑制し, その結果として血管透過性やアナフィラキシーに対して抑制的に働くとの仮説を検証した.

【方法】

本研究では, 血管内皮細胞に発現している S1P₂ に注目し, S1P₂-KO マウス, eNOS-KO マウス, S1P₂/eNOS-ダブル KO マウスと野生型 (WT) マウスを用いて牛血清アルブミン (BSA) 感作による能動性全身性アナフィラキシーモデルおよび血小板活性化因子 (PAF) 静注アナフィラキシーモデルを作成し, 肺血管透過性, 生存率, ヘマトクリット値, 血圧, 肺における Akt と eNOS のリン酸化レベルを解析した. また, S1P₂-KO マウスと WT マウスから肺微小血管内皮細胞 (EC) を単離・培養し, PAF 刺激による Akt と eNOS のリン酸化, NO 産生, 細胞間接着結合の崩壊および β-カテニンの S-ニトロシル化を解析し, 血管透過性やアナフィラキシーにおける S1P₂ の役割を検討した.

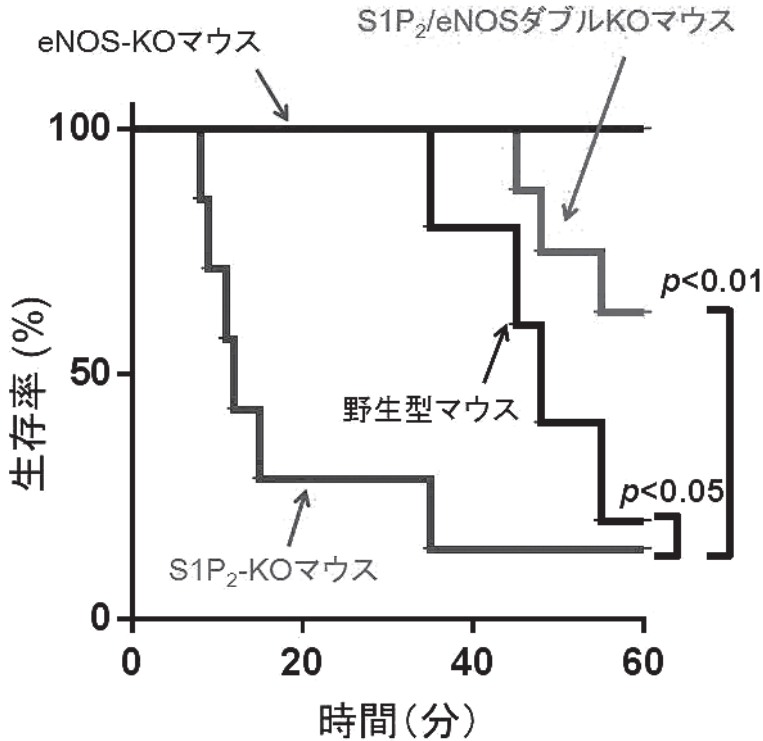


図1. BSA 感作による能動性全身性アナフィラキシーモデルにおける S1P₂-KO マウスの致死の悪化と eNOS 遺伝子 KO による致死の回復

【結果・考察】

BSA 感作による能動性全身性アナフィラキシーモデルにおいて、SIP₂-KO マウスでは、血管透過性亢進、血圧低下および致死率のいずれもかなり増悪した (図 1)。また、アナフィラキシーのメディエーターである PAF を静注するモデルにおいても、SIP₂-KO マウスでは血管透過性亢進および致死率が悪化した。以上の結果から、SIP はアナフィラキシーに対して防御的に作用することが明らかになった。

PAF 投与により肺における Akt と eNOS のリン酸化が増加したが、この応答は SIP₂-KO マウスで WT マウスと比較して増強していた。SIP₂-KO マウスにおいて、eNOS 遺伝子 KO は、抗原投与によるアナフィラキシーにおいて血管透過性亢進、血圧低下および致死率を改善した (図 1)。以上の結果から、SIP₂ は eNOS を阻害することによりアナフィラキシーに対して保護効果を示すことが明らかになった。

SIP₂-KO マウスから単離した肺微小血管内皮細胞 (KO-EC) では野生型内皮細胞 (WT-EC) と比較して、PAF 及び SIP による Akt と eNOS のリン酸化および NO 産生が亢進していた。PAF による細胞間接着結合の崩壊は KO-EC において増強し、NO 合成酵素阻害剤 L-NAME により回復した。NO は β-カテニンのニトロシル化を引き起こして内皮における細胞間接着結合を阻害する [4]。KO-EC では、PAF 及び SIP 刺激による β-カテニンの S-ニトロシル化は WT-EC に比較して亢進し、これは L-NAME 処理によって低下した。以上の結果から、SIP₂ は β-カテニンの S-ニトロシル化の阻害およびそれに続く細胞間接着結合の崩壊を抑制することにより、血管透過性亢進を抑制すると考えられた。

血管内皮細胞に発現する SIP₂ は Akt-eNOS 経路を抑制することによりアナフィラキシーによる血管透過性亢進に対して防御的に作用すると結論され、SIP₂ 選択的アゴニストはアナフィラキシーなどの血管透過性障害の治療の標的となる可能性が期待される [5]。

COI 開示、利益相反はありません。

1. Camerer E et al: Sphingosine-1-phosphate in the plasma compartment regulates basal and inflammation-induced vascular leak in mice. *J Clin Invest* **119**: 1871-1879, 2009
2. Du W et al: SIP(2), the G protein-coupled receptor for sphingosine-1-phosphate, negatively regulates tumor angiogenesis and tumor growth in vivo in mice. *Cancer Res* **70**:

772-781, 2010

3. Cauwels A et al: Anaphylactic shock depends on PI3K and eNOS-derived NO. *J Clin Invest* **116**: 2244-2251, 2006
4. Thibeault S et al: S-nitrosylation of beta-catenin by eNOS-derived NO promotes VEGF-induced endothelial cell permeability. *Mol Cell* **39**: 468-476, 2010
5. Cui H et al: sphingosine-1-phosphate receptor 2 protects against anaphylactic shock through suppression of endothelial nitric oxide synthase in mice. *J Allergy Clin Immunol* **132**: 1205-1214, 2013

重症敗血症/敗血症性ショックにおける Autophagy の役割

渡邊栄三¹, 幡野雅彦², 高橋和香¹, 木村友則¹, 織田成人¹, Richard Hotchkiss³, 平澤博之¹ (¹千葉大学大学院医学研究院救急集中治療医学, ²千葉大学バイオメディカル研究センター, ³Department of Anesthesiology, Washington University)

【はじめに】

Autophagy は、栄養飢餓に対する適応機能の一つであるが、II 型プログラム細胞死ともいわれ、神経変性疾患や悪性腫瘍など様々な病態への関与が報告されている [1]。一方、敗血症という高度侵襲において、重要臓器細胞がどのような機序で障害を受けているか、そしてどのような細胞がいかなる形態の細胞死を来たすかについて長く研究が続けられてきた。全身性炎症反応症候群をきたす病態のモデル動物においては、高血糖を回避して、むしろ栄養飢餓に近い状態を引き起こすことが、autophagy 促進を介して mitochondria 再生促進などに有利に働くともいわれている [2]。本稿では、autophagy 機構の重症敗血症病態における役割について概説する。

【マウス敗血症モデルの重要臓器における autophagy】

マウス敗血症モデル (CLP 手術) の肝臓を電子顕微鏡で観察したところ、autophagy 空胞は sham に比し有意に増加していた [3]。さらに、LC3 トランスジェニックマウスを用い、lysosome マーカーである LAMP1 を共染色し、GFP とともに二重染色 (co-localize) されるものを観察・定量したところ、それら autophagosome と lysosome との融合増加が免疫蛍光組織染色法で確認された [4]。したがって、敗血症病態急性期においては、autophagy process は亢進し、ある程度の完遂をしていることが判明した。一方で、時間経過に伴っ

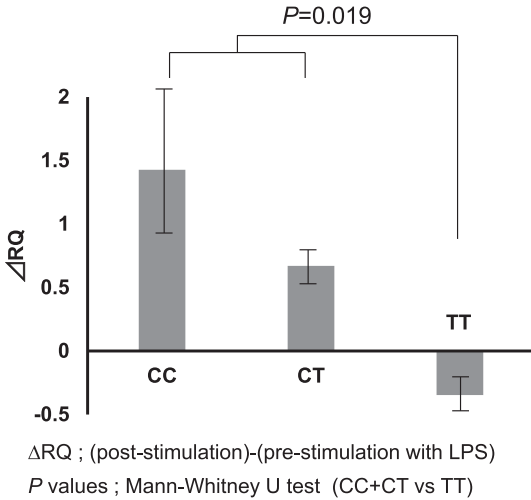


図 1

で見られる p62 の上昇, すなわち autophagosome の「蓄積」は, 亜急性期敗血症病態における相対的な autophagy flux の停滞を示唆している. さらに同モデルではクロロキンによる autophagy 阻害により, CLP マウスの生存率低下と肝細胞障害増悪が確認され, 腹膜炎敗血症において autophagy は生体保護的に働いていることが示唆された [4]. マウス CLP モデルにおける心, 肺, 腎など他の重要臓器での検討でも肝と同様に, autophagy は敗血症急性期では停滞しがちであるものの生体保護的であるとの報告が散見される. しかしながら, 脾臓などの免疫担当細胞や腸管など, 敗血症での I 型プログラム細胞死 (apoptosis) が注目されている重要臓器での autophagy 動態は, 筆者の知る限り未解明であり, さらに検討が待たれる. 【Autophagy 関連遺伝子多型と重症敗血症/敗血症性ショック】

2001 年 10 月より 2008 年 9 月までの千葉大学附属病院 ICU 入室患者 259 名を discovery cohort, 2008 年 10 月より 2012 年 9 月までに当施設を含む 5 施設の ICU 入室患者 793 名を validation cohort と設定した. 当施設以外の 4 施設は, 久留米大学病院, 兵庫医科大学病院, 東京医科大学八王子医療センター, 君津中央病院である. 各 ICU 入室時に採血しサンプルを当院へ収集し DNA を抽出した. そして連結可能匿名化した対象患者の各種臨床データを記録した. さらに, 重症敗血症罹患率, ICU 死亡率を human immunity-related GTPase 遺伝子多型 (IRGM (+313); rs10065172) の

genotype ごとに検討した. Genotyping は TaqMan[®] assay にて施行した. 上記 2 つの cohort の genotype 別死亡率を重症敗血症/敗血症性ショック患者群で比較したところ, discovery cohort においては, 重症敗血症/敗血症性ショック患者では, TT homozygotes の方が他の genotype (CC+CT) よりも有意に高い死亡率を示した ($P=0.043$). それは multi-center validation cohort においても同様な結果となり ($P=0.037$), TT homozygotes の重症敗血症転帰不良が確認された [5].

【lipopolysaccharide (LPS) 刺激試験】

健常者 70 名を対象とし, 全血を LPS で刺激した時の IRGM mRNA 発現量を IRGM (+313) genotype 別に比較した. qRT-PCR を施行し, comparative CT 法にて相対的発現定量 (relative quantification ; $RQ=2^{-\Delta\Delta Ct}$) を算出し, mRNA 発現量変化を ΔRQ (=LPS による刺激後の RQ-刺激前の RQ) で比較した. その結果, mean ΔRQ は CC genotypes では 1.427 (SD=0.5809), CT genotypes では 0.6702 (SD=0.1702) であるのに対し, TT homozygote では -0.3465 (SD=0.1133) であり, (CC+CT) genotype に比べて TT homozygotes の方が有意に低い結果となった (図 1, $P=0.019$). 以上より, autophagy 関連遺伝子多型の一つである IRGM (+313) SNP の TT homozygotes においては重症敗血症患者の死亡率が有意に高く, LPS 刺激に対する, IRGM (+313) mRNA の発現は TT homozygotes において有意に抑制されていた [5].

【まとめ】

敗血症急性期では少なくとも一部の臓器において autophagy は生体保護的に働いていることがマウス敗血症モデルの実験から示唆された. また傷害を受けた mitochondria は IRGM の発現を介して膜電位の脱分極を起こし, それを契機に autophagy が誘導され処理されてゆく. しかし, 重症敗血症下における TT homozygotes の場合では, IRGM の発現量が低下し, autophagy の誘導も抑えられるため autophagy flux が停滞しやすいことが考えられる. その結果, 傷害された mitochondria が細胞内で蓄積し, 惹いては tissue dysoxia を介して臓器不全を惹起し, 重症敗血症患者の転帰悪化をもたらしていると考えられた. いずれの考察もさらなる検証を要するが, autophagy による mitochondria の品質管理は重要臓器保護の観点から critical であるといえるであろう.

COI 開示. 利益相反はありません.

1. Mizushima N et al: Nature **451**: 1069-1075,

2008

2. Gunst J et al: Crit Care Med **41**: 182-194, 2013
3. Watanabe E et al: Lab Invest **89**: 549-561, 2009
4. Takahashi W et al: Crit Care **17**: R160, 2013
5. Kimura T et al: PLoS One **9**: e91522, 2014

インターロイキン 15 は、インターフェロン γ の産生と STAT5 のリン酸化を促進することで、加齢に伴う T 細胞活性化障害を改善する

井上茂亮^{1,2}, 小森由香子², 猪口貞樹¹, 穂積勝人³, 佐藤健人³ (¹東海大学医学部外科学系救命救急医学, ²東海大学創造科学技術研究機構医学部門, ³東海大学医学部基礎医学系生体防御学)

【背景】高齢者敗血症は本邦が直面する重大な課題の一つであり、少子高齢化に伴い今後爆発的に増加すると予想される。我々は高齢者敗血症患者では加齢に伴う T 細胞の数や機能の低下があると報告した [1]。IL-15 は CD8+T 細胞の成熟や増殖に不可欠なサイトカインであり、そのアポトーシスを抑制し活性化する。我々は若年マウス敗血症モデルにおいて、IL-15 投与が敗血症により誘導されるリンパ球のアポトーシスを抑制し、その生命予後を改善することを報告したが [2]、高

齢者および高齢マウスにおけるその効果は明らかではない。

【目的】IL-15 が高齢者および高齢マウスの免疫応答細胞に及ぼす影響を解析し、高齢マウス敗血症への効果を検討する。

【方法】研究 1 高齢者敗血症患者由来末梢血単核球 (PBMC) に human recombinant IL-15 または PBS を添加し、抗 CD3/28 抗体刺激下にて培養し、CD8+T 細胞における活性化マーカー (CD25) の陽性率ならびにインターフェロン γ (IFN- γ) の陽性率、増殖率、細胞内シグナル伝達タンパクである pSTAT5 陽性率を FACS にて解析。研究 2 ①若年マウスおよび高齢マウス (1 歳 8 ヶ月) の脾細胞に mouse recombinant IL-15 または PBS を添加し CD8+T 細胞における CD25 陽性率ならびに IFN- γ 陽性率を FACS にて解析。②高齢マウス敗血症モデル (CLP: cecum ligation puncture) 作製後 IL-15 または PBS を皮下投与し、24 時間後に sacrifice。腹腔洗浄・血液採取を行い、IFN- γ 濃度およびコロニーアッセイにて生育細菌数を測定。③高齢マウスにて CLP3 時間後に IL-15 または PBS を皮下投与し、7 日後の生存率を比較検討。

【結果】研究 1 高齢者敗血症患者由来 PBMC の CD25 陽性率は、若年健常者における CD8+T

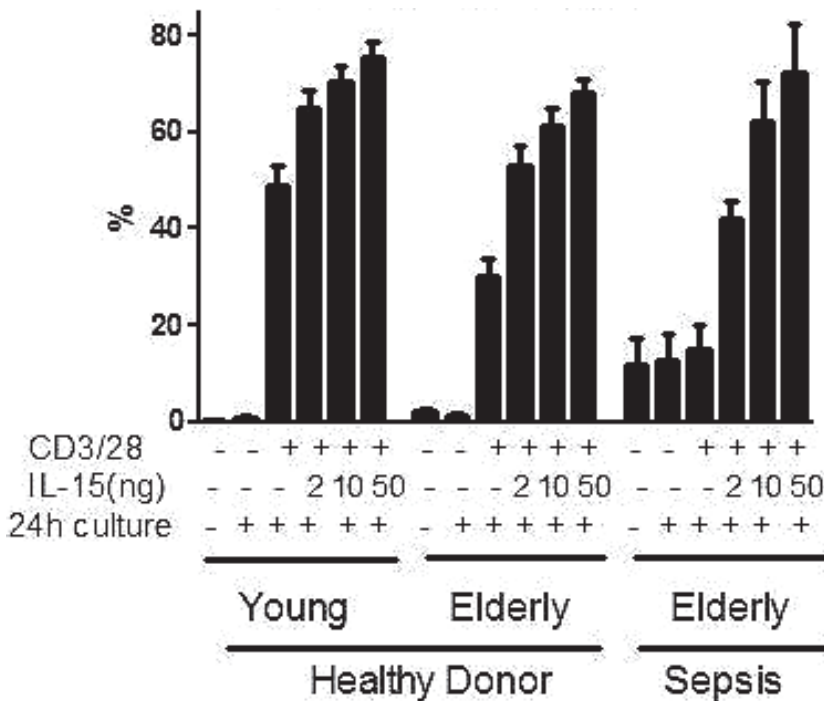


図 1. CD8+T 細胞における活性化マーカー CD25 の割合 (%)

細胞の約40%であったが、IL-15添加によりCD25およびIFN- γ 陽性率は濃度依存的に増加した(図1)。またIL-15添加によりCD8+T細胞の増殖とSTAT5のリン酸化は促進された。研究2 ①高齢マウスCD8+T細胞のCD25陽性率は、若年マウスと比して約40%であったが、IL-15添加によりCD25およびIFN- γ 陽性率は濃度依存的に増加した。②CLP+PBS群と比較して、CLP+IL-15群では血清中および腹腔洗浄液におけるIFN- γ 濃度は有意に増加し、細菌数は低下していた($p < 0.01$)。③高齢マウス敗血症モデルにおいて、CLP+IL-15群ではCLP+PBS群より有意に高い7日間生存率を認めた(67% vs. 0%, $p = 0.015$)。

【結語】IL-15は活性化しにくい高齢者ならびに高齢マウスのT細胞を再活性化させ、IFN- γ の産生を促進し、高齢マウス敗血症モデルの生命予後を改善した。

COI開示、利益相反はありません。

1. Inoue S et al: Reduction of Immunocompetent T Cells Followed by Prolonged Lymphopenia in Severe Sepsis in the Elderly. *Crit Care Med* **41**: 810-819, 2013
2. Inoue S et al: IL-15 prevents apoptosis, reverses innate and adaptive immune dysfunction, and improves survival in sepsis. *J Immunol* **184**: 1401-1409, 2010

重症病態におけるNETs (neutrophil extracellular traps) の生体内動態

濱口重人¹、廣瀬智也²、関 雅文¹、松本直也²、嶋津岳士²、朝野和典¹ (¹大阪大学医学部附属病院感染制御部、²大阪大学医学部附属病院高度救命救急センター)

Neutrophil Extracellular Traps (NETs) は、2004年に能動的に自らのDNAを放出する新たな好中球の自然免疫機能として報告された。NETsは、DNAとヒストン、好中球エラスターゼなどを含む網目状構造物で、物理的に細菌を捕獲し、抗菌蛋白によって微生物を殺菌できることが知られている。近年、様々な病態との関連が明らかになってきているNETsであるが、これまではin vitroでの研究が主であり生体内での動向は明らかになっていなかった。そこで我々は、生体内とくにヒトでのNETsの発現に注目し、重症病態やショックにおけるNETs発現を定量化することを目的に以下の研究を行い報告した。

まず、敗血症を含めたSIRS患者における血液を採取して免疫蛍光3重染色を行い、血液中のNETs発現を検討した[1]。対象はSIRSの診断

基準を満たす患者21人および健康成人ボランティア8人を対象とした。その結果、SIRS群では21人中10人(47.6%)に、血液スメアにおいて好中球から繊維状NETsの発現を認めた。血液中NETsが観察された症例の血液スメア蛍光染色の一例を示す(図1)。しかし、健康成人群では8例中1例もNETsの発現を認めなかった($p = 0.0265$)。このように集中治療を要したSIRS患者群では血液中にNETsを発現する好中球が存在することが明らかとなり、NETsはSIRS病態においても重要な役割を担っている可能性が示唆された。また、NETsの発現過程において必須であると報告されているヒストンH3のシトルリン化も、SIRS群では流血中の好中球核内に優位に多くみられることが確認できた。

次に、流血中に存在するDNAは現在までの報告でcirculating free DNA (cf-DNA)と呼ばれ、様々な疾患の予後との関連が示唆されている。cf-DNAとNETsの関与が報告されているが、実際にcf-DNAが血中NETs量を反映しているかどうかを確認するため、CLPマウスを用いた検討を行った。CLPマウスにおいて6時間後、24時間後のcf-DNAが増加しているのが確認された。さらにNETsの発現とcf-DNAの量との関与を確認するため、CLP実施の24時間前に抗Ly-6G抗体を用いて好中球をdepleteし、その上でCLPを実施したところ、好中球を枯渇させたマウスでもwild typeと同様にcf-DNAが増加した(図2)。この結果から、cf-DNAは血液中のNETs量を反映する指標として扱うことはできないことがわかった。

また、我々は重症病態の一つであるICUでの挿管管理中の患者から吸引痰を採取し、免疫蛍光3重染色を行い、急性呼吸器感染症におけるNETsの動的変化を解明し報告した[2]。Merge画像を見ると、グラム染色で細菌の貪食像が確認できるday0にはほぼ見られていなかった繊維状のNETsが、感染初期(day1)には吸引痰中に出現した。その後は感染の鎮静化とともに(day5, day7)、NETsは徐々に細くなり断片化してく様子が観察された(図3)。さらに、NETs産生段階の特徴の一つであるシトルリン化ヒストンH3の発現を確認したところ、day0から好中球核内に発現が見られており、逆にday5以降ではほとんど発現が見られなくなっていた。この結果から、シトルリン化ヒストンH3は感染初期に起こるNETs産生を早期に検出できる新たなバイオマーカーとなりえる可能性が示唆された。

吸引痰中NETsの定量を行うため、画像解析ソフトを用いて画像内のNETsの平均長を計測し、

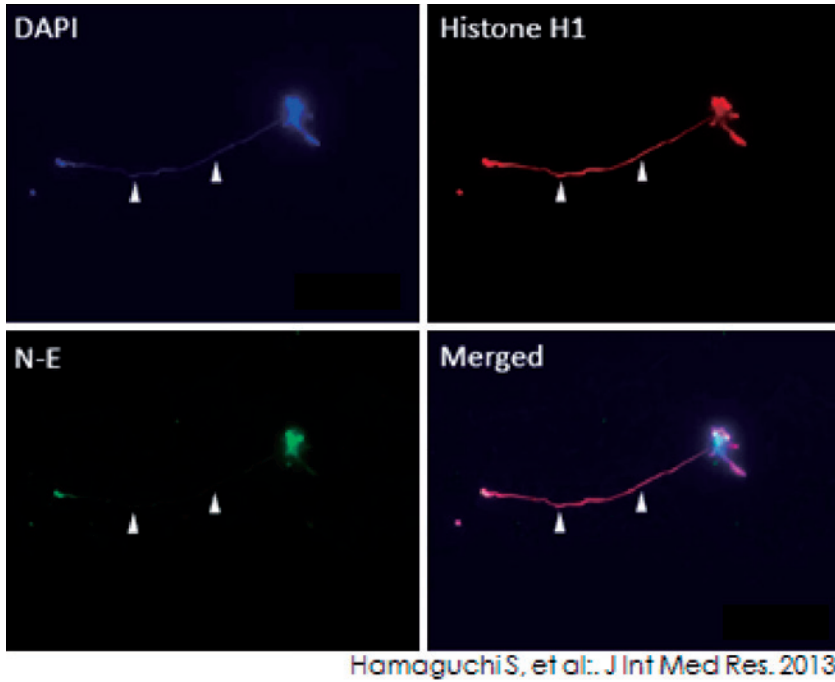


図1. SIRS 患者の血液スミアで観察された NETs

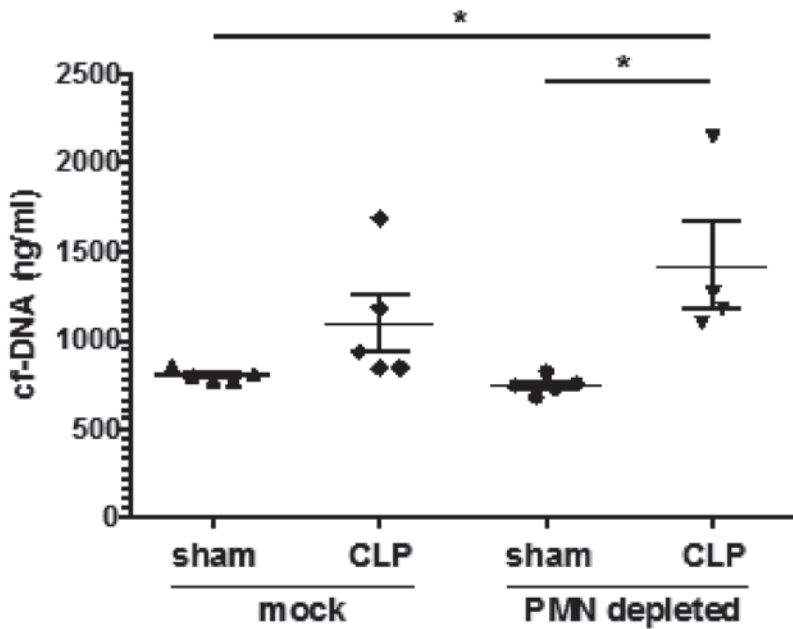


図2. CLP マウスの cf-DNA は好中球 depletion により減少しない

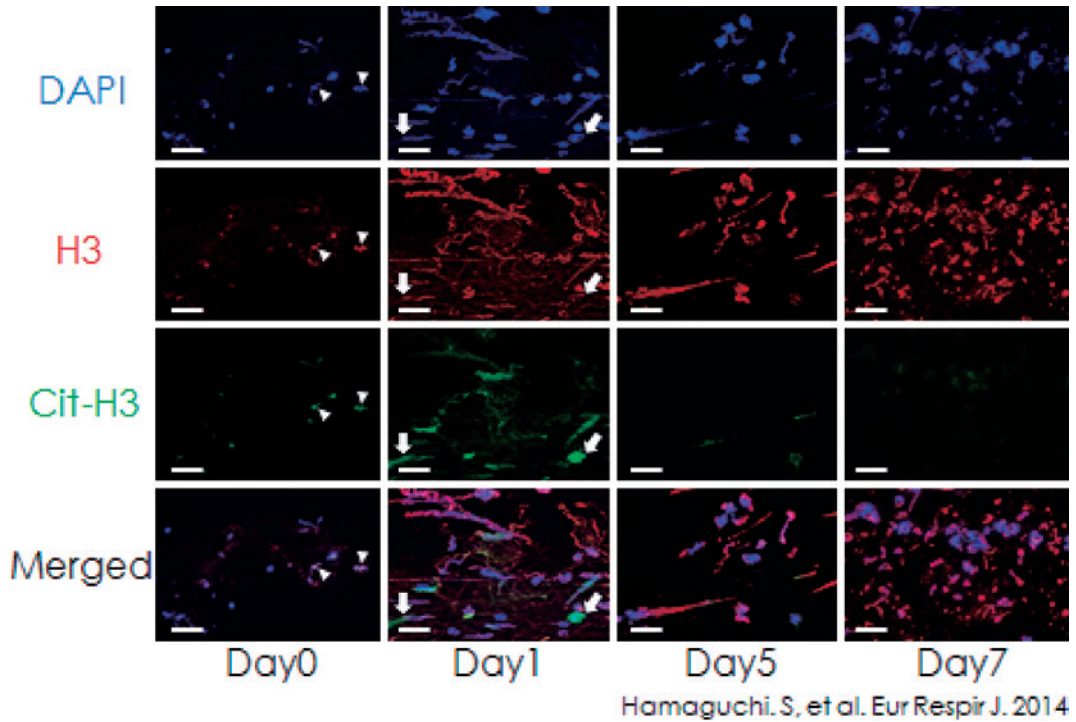


図3. 吸引痰中 NETs の経時的変化

経時的に比較したところ，平均 NETs 長は day0 から day1 にかけて有意に長くなり，その後 day5, day7 と経時的に有意に NETs 長が短縮していくことが定量評価からも示された。

我々の検討の他にも，最近の報告では NETs と血栓形成との関与の報告や，SLE や RA などの病因に NETs が関わっていると報告など，NETs をめぐる研究は現在非常に脚光を浴びている分野である。これまで主に研究室レベルで解析されてきた NETs の生体内での役割を明らかにしていくには，さらなる精力的な基礎研究，臨床研

究の遂行が期待される。

COI 開示. 利益相反はありません。

1. Hamaguchi S et al: Identification of neutrophil extracellular traps in the blood of patients with systemic inflammatory response syndrome. *J Int Med Res* **41** (1): 162–168, 2013
2. Hamaguchi S et al: Neutrophil extracellular traps in bronchial aspirates: a quantitative analysis. *Eur Respir J* 2014 Mar 6. [Epub ahead of print]