

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K16727

研究課題名(和文) 交感神経系による免疫系制御を介した重症患者の新たな治療戦略

研究課題名(英文) New treatment strategies for critically ill patients through immune system control by the sympathetic nervous system

研究代表者

杉山 由紀 (SUGIYAMA, YUKI)

信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・講師

研究者番号：10468100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：交感神経・副交感神経のバランスは年齢や疾患により大きく異なることが知られているが、これらの影響がどのように免疫系に関与するかは知られていない。本研究では、手術や集中治療を要する重症疾患において、交感神経系がどのような影響を及ぼすか検討した。交感神経終末を破壊する6-hydroxydopamine(6-OHDA)を腹腔内投与して交感神経脱落マウスを作成した。non-lethal doseのLPSを腹腔内投与すると、野生型マウスと比較し、脾臓が腫大し脾細胞数が増加することが分かったが、高齢になるほどマウスの個体差が激しくなるため、一定の見解は得られず、さらなる研究が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

交感神経系・副交感神経系が免疫系に影響を及ぼすことは報告されていたが、交感神経系が強く抑制された状況における重症疾患での免疫系の動態については明らかにされておらず、本研究では臨床に即した状況を想定して研究を行った。様々な重症疾患では免疫抑制などの免疫不応状態が生じ2次感染などが引き起こされるが、本研究結果から、重症疾患において交感神経興奮を抑制することにより、重症疾患に続発する免疫抑制を改善できる可能性が示唆された。

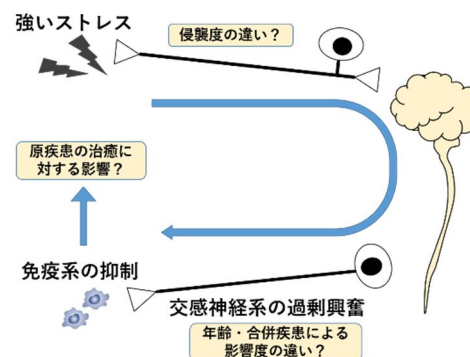
研究成果の概要(英文)：It has been known that the balance of sympathetic system and parasympathetic system varies greatly depending on age and disease, but how these different balances of autonomic nerves system are involved in the immune system is unclear. In this study, we investigated how the sympathetic nervous system affects severe diseases that require surgery and intensive care. Intraperitoneal administration of 6-hydroxydopamine (6-OHDA), which destroys sympathetic nerve endings, was used to create sympathetic nerve-deficient mice. Intraperitoneal administration of non-lethal dose LPS induced splenic swelling and increased the number of splenocytes compared to wild type mice. We examined the difference depending on the age using aged mice, but the individual difference of the mouse became more severe as the age increased, and clear significant results were not be obtained yet. Further studies are needed.

研究分野：麻酔科学

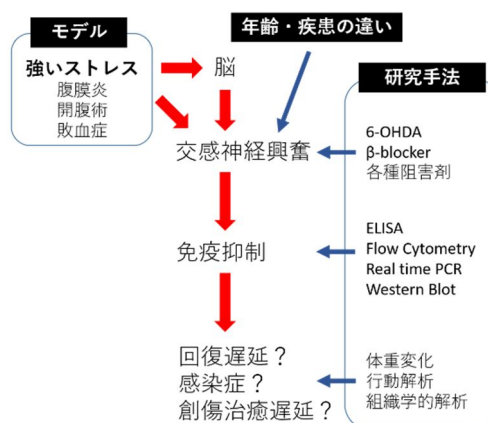
キーワード：炎症

## 1. 研究開始当初の背景

- 強いストレスが生じた場合、生体は Fight and Flight として知られる行動を起こして生体防御するため、交感神経系が興奮する。このとき免疫系は抑制されるが、そのメカニズムについては、視床下部-下垂体-副腎髄質系 (HPA Axis) を介すとされてきた。
- 近年、迷走神経系が直接免疫系を制御する Cholinergic anti-inflammatory pathway が動物実験から示されつつある。様々な臨床研究では、強いストレスにより免疫抑制状態が惹起されて易感染性となることが示されている。ブロックの投与により続発する感染症が抑制される可能性が脳梗塞・脳出血患者で示され、交感神経系・副交感神経系に介入して免疫系を制御するという、新たな感染制御の可能性が示された。



- このように、交感神経・副交感神経ともに、免疫系を直接制御することが示されつつあるが、侵襲度、年齢・性別、合併疾患の有無の違いなど、臨床で直面する様々な状況において、どの程度これら自律神経系による免疫制御が関わっているかについては、明らかになっていない。交感神経・副交感神経のバランスは年齢や疾患により大きく異なることが知られているが、これらの影響がどのように免疫系に関与するかは知られていない。



## 2. 研究の目的

- 手術や集中治療を要する重症疾患において、交感神経系がどのような影響を及ぼすか、成年オスマウスを用いて明らかにする。交感神経脱落による lipopolysaccharide (LPS) 刺激後の各組織中における免疫細胞の数・種類・性質の変化を解析し、年齢 (週数) が及ぼす交感神経脱落による変化への影響を解析する。

## 3. 研究の方法

- 交感神経に特異的に取り込まれ、交感神経終末を破壊する 6-hydroxydopamine (6-OHDA) を C57BL/6J マウスの腹腔内に投与して交感神経脱落 (SNSD) マウスを作成する。また、PBS を腹腔内投与した対照の野生型 (WT) マウスを作成する。
- これらのマウスに non-lethal dose (0.5ug/g) の LPS を腹腔内投与し、両群のマウスを経時的に解析する。解析組織は、末梢血、脾臓、骨髄などを用い、解析手法は図の通り

とする。フローサイトメトリーを中心とした解析をし、real-time PCR、ELISA などをもちいる。

- WT マウスと SNSD マウスを比較検討する。48 週齢以降の

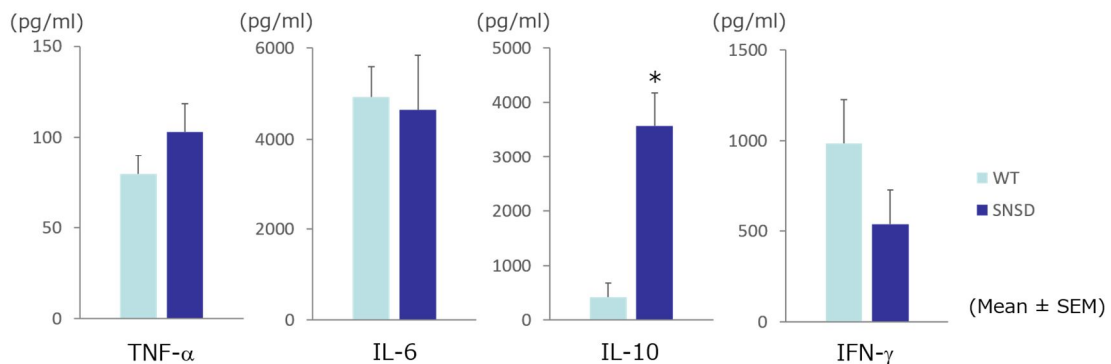
組織サンプル	解析法	解析項目
血清	ELISA	サイトカイン濃度
免疫細胞 (組織から単離)	Flowcytometry sorting	細胞分画解析 Real time PCR Western blot
組織切片	免疫組織化学染色	浸潤細胞数、局在

高年齢マウスを用いて、同様に SNSD マウスを作成し、同様の検討を行う。開腹術後モデル、盲腸結紮モデルについても検討する。

#### 4. 研究成果

- 0.01%アスコルビン酸ナトリウム溶液に 6-OHDA を溶解し、200mg/kg を 4 日前と 2 日前にマウスの腹腔内に投与することにより SNSD マウスを作成した。Non-lethal dose の LPS を腹腔内投与すると、SNSD マウスでは、WT マウスと比較し、投与 6 時間後の血清の炎症性サイトカイン (TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\gamma$ ) 濃度に差はなかったが、抗炎症性サイトカインである IL-10 は、SNSD マウスで有意に高かった (下図)。

ELISA (LPS 投与 6 時間後)

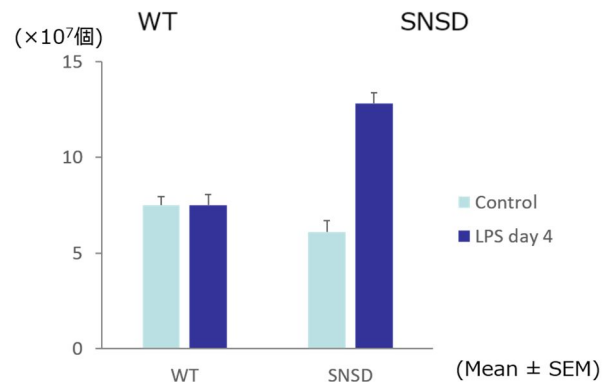


- 脾臓における解析では、WT マウスでは LPS 投与による脾細胞数の変化はなかったが、SNSD マウスでは脾臓が腫大し脾細胞数が増加することが分かった (右図)。

LPS投与4日後の脾臓



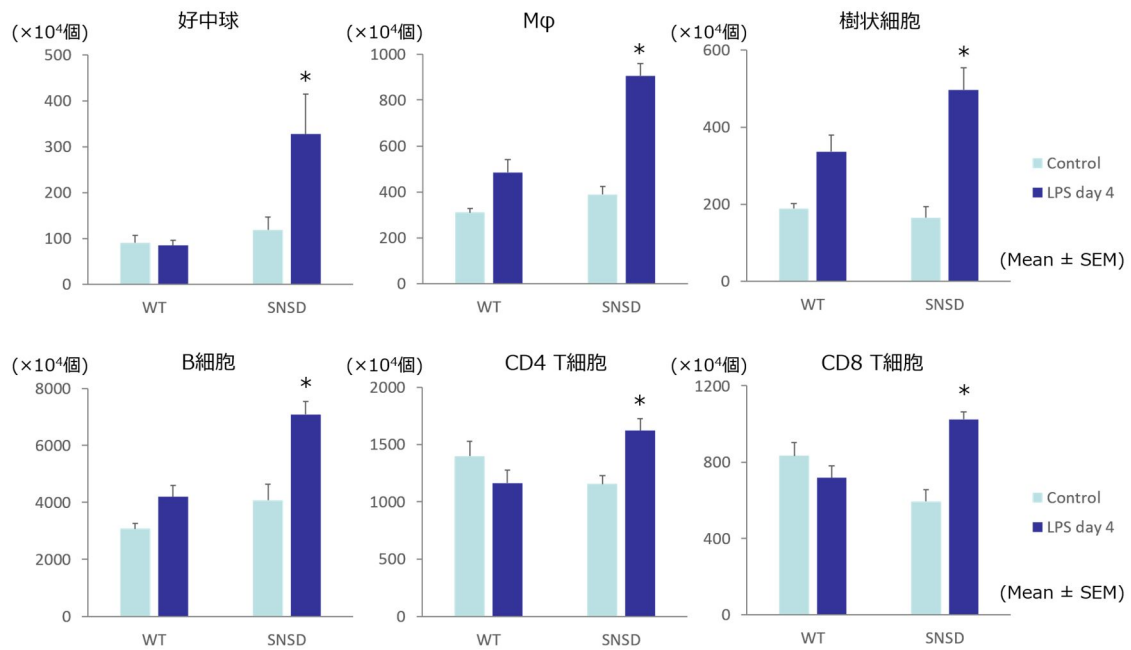
- 脾臓細胞サブセットを解析すると、LPS 投与 4 日後に SNSD マウスでマクロファージ・好中球などの骨髄系細胞の増加が顕著であったが、B 細胞、CD4・CD8 T 細胞とも有意に増加した (次ページ)。



- 高年齢になるほどマウスの個体差が激しくなるため、一定の見解は得られなかった。さらなる研究が必要であると

考えられた。別モデルについては、時間の制約上検討することができなかった。

- 交感神経系・副交感神経系が免疫系に影響を及ぼすことは報告されていたが、交感神経



系が強く抑制された状況における重症疾患での免疫系の動態については明らかにされておらず、本研究では臨床に即した状況を想定して研究を行った。血清サイトカインの解析では交感神経系が抑制されることにより IL-10 が上昇したことから、全身性には炎症抑制状態に傾いていると考えられたが、脾臓においては細胞数の増加がみられた。これは、LPS による炎症を終息させつつ、次の感染に備えるための反応が生じているとも考えられる。様々な重症疾患では免疫抑制などの免疫不応状態が生じ 2 次感染などが引き起こされるが、本研究結果から、重症疾患において交感神経興奮を抑制することにより、重症疾患に続発する免疫抑制を改善できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杉山由紀、吉山勇樹、若林諒、川真田樹人
2. 発表標題 LPS腹膜炎時の免疫反応は、交感神経系を介して制御される
3. 学会等名 日本麻酔科学会 第65回学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------