

令和元年6月18日現在

機関番号：18001

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16741

研究課題名(和文) 肺胞細胞における遠隔虚血プレコンディショニングのメカニズム

研究課題名(英文) Mechanism of remote ischemic preconditioning in alveolar cells

研究代表者

和泉 俊輔 (Izumi, Shunsuke)

琉球大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90649401

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)：本研究の目的は肺胞細胞における遠隔虚血プレコンディショニングのメカニズムにブラジキニン(BK)が関与していることを分子生物学的に解明することを目的としている。
この研究は新たな肺保護の臨床応用を目指している。本研究の目的は肺胞細胞における遠隔虚血プレコンディショニングのメカニズムにブラジキニン(BK)が関与していることを分子生物学的に解明することを目的としている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではBKのB2受容体刺激によるEGFR Ser1047リン酸化を示した。EGFRの機能の調節は肺胞上皮細胞の侵襲防御に関わると考えられる。本研究は肺におけるBKとEGFRの病態生理学的機能を解明するための新たな研究である。また肺胞上皮細胞以外の多くの細胞においてBK受容体刺激後の細胞内情報伝達機構を解明する上でも有用な知見を提供するものである。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to elucidate the molecular biology of the role of bradykinin (BK) in the mechanism of distant ischemic preconditioning in alveolar cells. This study is aimed at the clinical application of new lung protection.

研究分野：麻酔科学

キーワード：プレコンディショニング ブラジキニン 肺胞細胞 臓器保護 シグナル伝達 EGFR

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

周術期の臓器保護は患者の予後を改善する点からも非常に意義がある。短時間の虚血により、その後の虚血による障害が軽減される虚血プレコンディショニング効果が心筋で報告された。虚血プレコンディショニング効果は心臓だけでなく、腎臓、肝臓などの臓器でも効果を認めている。また薬物投与による薬理的プレコンディショニング作用の研究も盛んである。

近年、四肢の短時間の虚血を数回行うという簡便な方法で、遠隔臓器の虚血侵襲に対する保護効果が得られるという遠隔虚血プレコンディショニングが報告された。心臓や腎臓での報告があるがその機序に関して不明な点が多い。ブラジキニンやアデノシンが心筋に対する虚血プレコンディショニング効果に関与していることは報告されている。現在まで肺に対する遠隔虚血プレコンディショニングの臓器保護効果の報告はほとんどないが、肺でのブラジキニン受容体の発現は心臓や腎臓より多いことが知られている。

近年 TNF などの炎症性サイトカインが EGFR のセリン残基をリン酸化することが報告された (*J. Biol. Chem.* 2007; 282: 12698-12706)。これはチロシンキナーゼ活性に依存しない新しい EGFR リン酸化経路である。興味深いことに申請者はブラジキニンによるこのセリン残基のリン酸化を肺胞上皮細胞株 (A549 細胞) でも見出した。

申請者の研究室では 型肺胞上皮細胞様の特徴を有する培養細胞である A549 細胞を用い、肺炎の重症化と関連のある細菌鞭毛のフラジェリンによる EGFR のセリン残基のリン酸化 (*Arch. Biochem. Biophys.* 2013; 529: 75-85) や H_2O_2 による EGFR のセリン残基のリン酸化 (*Eur J Pharmacol.* 2015; 748: 133-42) について研究してきた。

2. 研究の目的

本研究では、肺胞細胞における遠隔虚血プレコンディショニングのメカニズムにブラジキニンが関与していることを分子生物学的に解明することを目的とし、新たな肺保護の臨床応用を目指している。

3. 研究の方法

(1) ブラジキニン受容体が発現している A549 細胞を使用する。des-Arg⁹-[Leu⁸]-BK、HOE140 などのブラジキニン受容体阻害薬および作動薬を使用し、ブラジキニン B1 受容体、ブラジキニン B2 受容体の関与を検討する。

(2) ブラジキニン刺激による G タンパク質共役型受容体を介した EGFR のセリン残基のリン酸化による細胞内情報伝達系を DNA マイクロアレイを用いて網羅的に解析する。

(3) また EGFR のセリン残基のリン酸化によるエンドサイトーシス、脱感作についてフローサイトメトリーを用いて検討を行う。さらに細胞増殖試験や wound healing assay を行い EGFR のセリン残基リン酸化の意義を検討する。

(4) ブラジキニン処理後に H_2O_2 による刺激を行い、細胞内情報伝達系の変化と肺保護効果を検討する。

4. 研究成果

(1) BK処理により、MAPキナーゼの中のERKとp38MAPキナーゼが活性化された。ルシフェラーゼアッセイ法からはERKがより強く活性化されることが示唆された。BK処理により、Ser1047のリン酸化が3分で認められた。このリン酸化は、ERKの阻害薬により、強く抑制された。

(2) B2受容体刺激がSer1047のリン酸化に関与することが明らかになった。一方、過酸化水素処理とは異なりTyr1173はリン酸化されず、BK処理では、EGF受容体は活性化されないことが示唆された。

(3) DNAマイクロアレイでは、検討した41,628遺伝子中の1,152遺伝子の発現がBK処理により変化した。変化した遺伝子の中のDUSP5についてさらに検討し、mRNAがBK処理により4倍以上増加することが確認された。したがって、ERKの負のフィードバック機構が存在することが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

Izumi S, Higa-Nakamine S, Nishi H, Torihara H, Uehara A, Sugahara K, Kakinohana M, Yamamoto H. Phosphorylation of epidermal growth factor receptor at serine 1047 in cultured lung alveolar epithelial cells by bradykinin B2 receptor stimulation. *Pulm Pharmacol Ther.* 2018; 48: 53-61. 査読あり

Yoshitani K, Masui K, Kawaguchi M, Kawamata M, Kakinohana M, Kato S, Hasuwa K, Yamakage M, Yoshikawa Y, Nishiwaki K, Aoyama T, Inagaki Y, Yamasaki K, Matsumoto M, Ishida K, Yamashita A, Seo K, Kakumoto S, Hayashi H, Tanaka Y, Tanaka S, Ishida T, Uchino H, Kakinuma

T, Yamada Y, Mori Y, Izumi S, Nishimura K, Nakai M, Ohnishi Y. Clinical Utility of Intraoperative Motor-Evoked Potential Monitoring to Prevent Postoperative Spinal Cord Injury in Thoracic and Thoracoabdominal Aneurysm Repair: An Audit of the Japanese Association of Spinal Cord Protection in Aortic Surgery Database. Anesth Analg. 2018;126:763-768. 査読あり

西 啓亨、和泉 俊輔、垣花 学 経カテーテル大動脈弁留置術後、一時的に完全房室ブロックとなった症例. 麻酔 2018;67:162-64. 査読あり

IZUMI Shunsuke. Perioperative Spinal Cord Protection in Thoracic Endovascular Aortic Repair. THE JOURNAL OF JAPAN SOCIETY FOR CLINICAL ANESTHESIA. 2018;38:393-396. 査読あり

Hattori K, Yoshitani K, Kato S, Kawaguchi M, Kawamata M, Kakinohana M, Yamada Y, Yamakage M, Nishiwaki K, Izumi S, Yoshikawa Y, Mori Y, Hasegawa K, Onishi Y. Association Between Motor-Evoked Potentials and Spinal Cord Damage Diagnosed With Magnetic Resonance Imaging After Thoracoabdominal and Descending Aortic Aneurysm Repair. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2018[Epub ahead of print]. 査読あり

〔学会発表〕(計 9 件)

和泉俊輔：偶発的脊髄くも膜下麻酔による一過性の痙性麻痺. 日本区域麻酔第4回学術集会. 2017/4/15 名古屋市

和泉俊輔：経カテーテル大動脈弁留置術での Rapid ventricular pacing 後の INVOS と BIS の変化. 第28回日本臨床モニター学会総会. 2017/6/24 新宿区

Izumi S: Phosphorylation of epidermal growth factor receptor at serine 1047 by the stimulation of G-protein coupled receptors. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会. 2017/12/7 神戸市

和泉俊輔：BIS 値 0 が継続した TAVI の周術期経過. 第22回日本神経麻酔集中治療学会. 2018/6/23 高崎市

和泉俊輔：肺胞上皮細胞でのブラジキニンによる EGFR のリン酸化反応. 平成30年度日本生化学九州支部会. 2018/6/30 福岡市

桃原慎：重症大動脈弁狭窄症、虚血性心疾患に褐色細胞腫を合併した患者の麻酔経験. 九州麻酔科学会第56回大会. 2018/9/8 宜野湾市

平良隆之：虚血性心疾患を合併した肺癌患者に対して drug coated balloon による冠動脈拡張術後、肺葉切除術を行った症例. 日本心臓血管麻酔学会 第23回学術集会 2018/9/15 新宿区

和泉俊輔：大血管手術における運動誘発電位モニタリング. 日本臨床麻酔学会第38回大会. 2018/11/3 北九州市

赤嶺齊：TAVI 手術で留置弁の機能不全による循環虚脱のため、術後に遷延性意識障害となった1例. 第23回日本神経麻酔集中治療学会. 2019/3/16 奈良市

〔図書〕(計 1 件)

澄川耕二、原哲也、総合医学社、FAQ でわかりやすい！ 心臓麻酔 臨床実践ガイド 第2版、496

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ：<http://ryukyuanesth.com/>

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。