

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16766

研究課題名(和文)糖尿病患者における周術期臓器障害メカニズムの検討

研究課題名(英文) Study of perioperative organ damage mechanism in diabetic patients

研究代表者

北浦 淳寛 (KITAURA, Atsuhiro)

近畿大学・医学部・助教

研究者番号：20716485

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)：糖尿病患者において、周術期血糖管理では十分な術後予後改善効果が得られない。そこで、我々は慢性的な病因に対するアプローチが必要と考え、糖尿病合併症の原因として注目されているが、その作用機序が未だ十分に解明されていないadvanced glycation end-product (以下AGEs)に着目した。我々のこれまでの研究結果を踏まえ、「AGEsはマクロファージのM2 polarizationを阻害し、創傷治癒機転を遅延させて、術後臓器障害を誘導する」という仮説を立て、その検討を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究により、糖尿病の病態メカニズムの1つとしてAGEsがマクロファージに取り込まれることによりはじまる炎症反応の経路が明らかとなった。具体的には、AGEsをマクロファージが取り込む機序にCD204が関与していることが確認された。AGEsの取り込み機序が解明されたことにより、スカベンジャー受容体の1つであるCD204が糖尿病の病態を抑えるための新たな介入ポイントの候補となりうる可能性が認められた。また、この取り込み機序を抑制する物質として、海藻由来のフコイダンを発見した。これらの成果は、今後糖尿病のさらなる病態解明や新たな治療法の検討の一助となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In diabetic patients, perioperative blood glucose control does not provide a sufficient postoperative prognosis improving effect. Therefore, we think that an approach to chronic etiology is necessary, and it is attracting attention as a cause of diabetic complications, but we focus on advanced glycation end-product (AGEs) whose mechanism of action has not been fully elucidated. Based on the results of our previous studies, we hypothesized that AGEs inhibit M2 polarization of macrophages, prolong wound healing mechanism, and induce postoperative organ damage.

研究分野：麻酔科学

キーワード：糖化最終産物 マクロファージ スカベンジャー受容体 炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病の病態解明は未だ不十分で、臨床では血糖管理により対応するしかない。外科患者の約2割は糖尿病を合併しており、周術期血糖管理は麻酔科医および集中治療医にとって重要な問題である。厳格な周術期血糖管理は入院中死亡率や腎不全などの合併症を低下させるが、低血糖が生じると死亡率が増加する(Finfer S. et al., *NEJM*, 2009)。血糖管理は煩雑で人的コストと患者ストレスを伴うだけでなく、周術期血糖管理による入院や薬剤投与による医療経済への圧迫が問題になる。しかし、長期間の高血糖状態による血管障害などの病態を改善させられる治療法はない。

糖尿病患者では周術期血管障害は多くみられる。これは糖尿病の血管内皮修復機能障害が基礎にあることによる。この障害のメカニズムには体内で産生されるメディエーターが関与している。申請者は高血糖で体内に蓄積し、糖尿病の原因となる advanced glycation end-product (AGEs) で toxic なフェノタイプに注目した。AGEs は用量依存性に異なる受容体に結合し、マクロファージの分化にも関与する。マクロファージは分化によって血管障害と新生という、相反した作用をすることが判明してきているが、基礎疾患の関与は未解明である。

2. 研究の目的

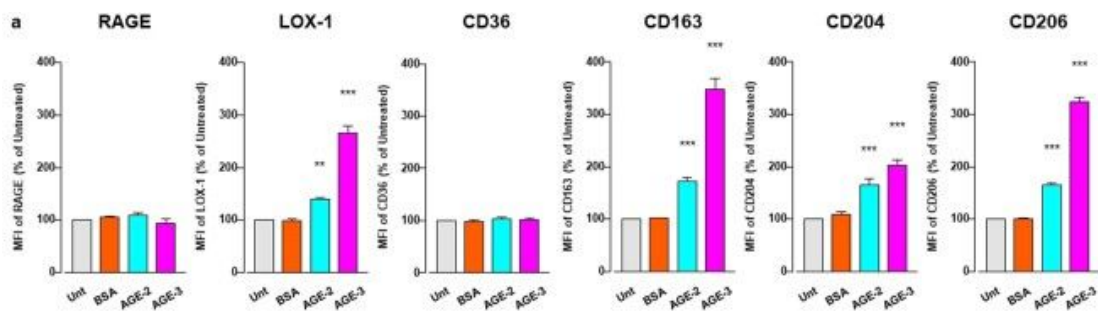
AGEs のマクロファージを介した血管障害のメカニズムを解明し、AGEs によるマクロファージ分化を制御することによる血管障害予防手段を探求する。

3. 研究の方法

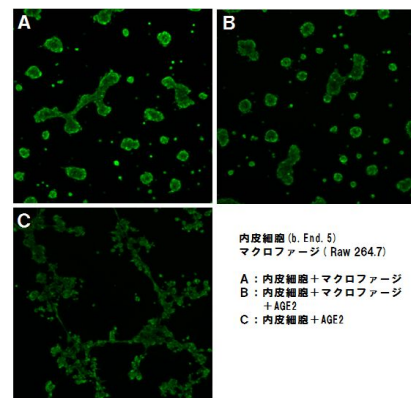
マウス末梢血由来単球細胞の Raw 264.7 細胞およびマウス脳内皮細胞 b.End.5 を用いた vitro 研究において、AGEs のマクロファージへの作用や、マクロファージを介した血管新生への作用を検討した。研究手法としては、フローサイトメトリーおよび共焦点顕微鏡や電子顕微鏡を用いた形態的検討を行った。

4. 研究成果

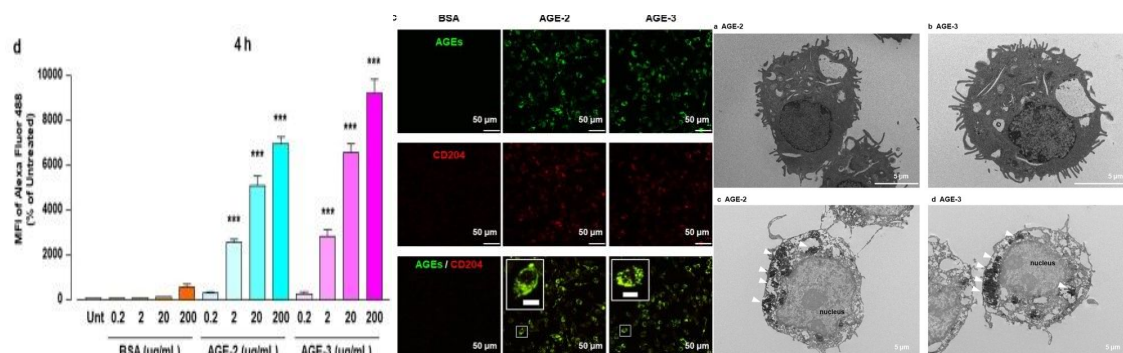
まず、AGEs のマクロファージへの影響を確認するために、AGEs でマウス末梢血由来単球細胞の Raw 264.7 細胞を刺激し、Th1/Th2、Toll-like family およびスカベンジャーレセプターに至るまで種々の表面抗原発現の変化を検討し、多くの抗原の発現が増強されることを確認した。



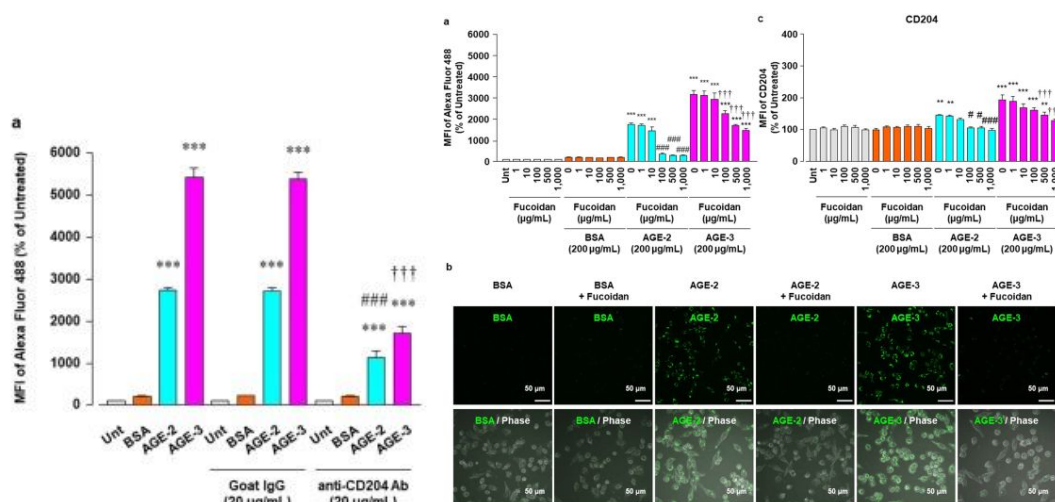
次に、AGEs で刺激した RAW264.7 細胞とマウス脳内皮細胞 b.End.5 を共培養し、内皮細胞の伸展により、血管新生の評価を行った。AGE 刺激マクロファージ存在下では内皮細胞の伸展が抑制傾向にあるが、マクロファージ非存在 AGEs 刺激下では内皮細胞の伸展は生じるが、細く枝分かれした不完全な形態になることを確認した。この研究により、AGEs はマクロファージを介する間接的な内皮細胞への作用だけではなく、直接的な作用も有していることが判明した。この血管新生については現在も継続して検討中である。



さらに、AGEs がマクロファージのどこで作用しているのかを検討するため、形態的に検討を蛍光標識した AGEs を用いて検討した。この研究により、AGEs は RAW264.7 に取り込まれることが判明した。AGEs のマクロファージによる取り込みは、表面抗原に結合し、シグナルを生じる経路とは異なり、そのメカニズムが未解明な部分が多いため、我々はこの現象についてより詳細に検討することとした。



また、中和抗体を用いた検討で、AGEs のマクロファージへの取り込みへの CD204 の関与を明らかにした。さらに、AGEs の影響を軽減させる物質として、スカベンジャー受容体への作用が報告されているフコイダンが有望であることが明らかにできた。



これらの成果をもとに、リポポリサッカライドや HMGB-1 といった他のリガンドに関しても、マクロファージの取り込みについて検討した。それらについては次年度以降も研究を継続していくことで、AGEs の敗血症などの各病態における影響についても検討していく予定である。

(参考文献)

Hamasaki S et al. Effects of scavenger receptors-1 class A stimulation on macrophage morphology and highly modified advanced glycation end product-protein phagocytosis. *Sci Rep.* 2018 Apr 12;8(1):5901. doi: 10.1038/s41598-018-24325-y.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shinichi Hamasaki, Takuro Kobori, Yui Yamazaki, Atsuhiko Kitaura, Atsuko Niwa, Takashi Nishinaka, Masahiro Nishibori, Shuji Mori, Shinichi Nakao & Hideo Takahashi	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of scavenger receptors-1 class A stimulation on macrophage morphology and highly modified advanced glycation end product-protein phagocytosis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5901
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-24325-y.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----