

令和 5 年 5 月 27 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03781

研究課題名（和文）集中治療後症候群（PICS）の病態解明と脳内炎症制御に注目した治療戦略

研究課題名（英文）A therapeutic strategy of post-intensive care syndrome focused on its mechanism and inflammation regulation in brain.

研究代表者

井上 茂亮（Inoue, Shigeaki）

神戸大学・医学研究科・特命教授

研究者番号：30582209

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：敗血症患者における3ヶ月のPICS発症率は69%で、非PICS群と比較して、PICS群ではday1-7の意識レベルが低下し、末梢血リンパ球数が有意に低下していた。Day7における意識レベル低下が敗血症3か月後におけるPICSの独立した予後予測因子であった。マウス敗血症モデルでは亜急性期において身体機能障害と精神障害を認めた。脳内に浸潤したTregおよびTh2細胞が敗血症の慢性期における神経炎症を解消し、精神障害を緩和する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、敗血症患者におけるPICSの発症率ならびにPICSの予測因子が明らかになった。また敗血症の慢性期における神経炎症の解消と精神障害の緩和に関与する免疫細胞の役割を明らかにした。このような知見は、PICSの予防的な介入や適切な治療戦略の選択が可能になり、患者の回復と生活の質の向上に寄与するとともに、医療政策の策定や医療リソースの最適化にも影響を与えることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The 3-month incidence of PICS in septic patients was 69%, with a significantly lower level of consciousness and peripheral blood lymphocyte counts on days 1-7 in the PICS group compared to the non-PICS group; lower level of consciousness on Day 7 was an independent prognostic factor for PICS at 3 months after sepsis. Mouse models of sepsis showed physical and mental dysfunction in the subacute phase. Treg and Th2 cells infiltrating the brain resolve neuroinflammation and alleviate mental impairment in the chronic phase of sepsis.

研究分野：救急・集中治療医学

キーワード：敗血症、敗血症性脳症 身体機能障害 精神障害 リンパ球

## 1. 研究開始当初の背景

敗血症患者の長期予後は不良である。敗血症とは、感染に対する制御不能な宿主反応に起因した生命を脅かす多臓器障害である。近年、診療ガイドラインの普及や集中治療の医療技術の発展により ICU での生存率は大幅に改善したものの、**退院後の5年後生存率は18%と極めて低い (Iwashyna, et al. 2010. JAMA)**。また、**敗血症生存者においては認知症や不安症、新規の運動機能障害の発症など、退院後の著しい QOL の低下が問題となっている (Iwashyna, et al. 2010. JAMA)**。

敗血症患者は集中治療後症候群 (PICS) を発症しやすい。ICU 退院後の生存者は集中治療後症候群 (PICS: Post-intensive care syndrome) と呼ばれる認知障害・精神障害・運動障害に長期間苛まれている (Needham, 2012 Crit Care Med) (図1)。とりわけ重症敗血症生存者においては、他の ICU 患者と比較して PICS の発症率が高い。このような状況の中、申請者は、急性期に抗菌療法や輸液蘇生・呼吸管理などの集中治療を行って生存した高齢マウス敗血症マウスでは、敗血症後も筋力・短期記憶・うつや不安症状が遷延していることを報告した(井上ら、日本救命医療学会 口頭発表、2016)。さらに、申請者らは PICS の動物モデルの作成を試み、その発症原因の解明に努めており国内外で一定の評価を得ている (Saito, Inoue, et al. 国際 Shock 学会 口頭発表、トラベルアワード受賞、2019) (図1)。

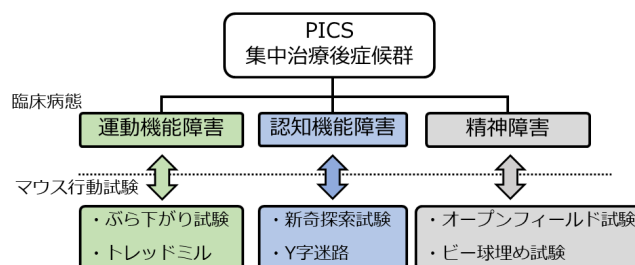


図1. 集中治療後症候群 (PICS) のマウスモデルへの応用

敗血症性脳症 (SAE) は予後不良因子であり、長期的な認知障害や精神疾患の発症と関連する可能性がある。申請者らは、敗血症患者に認められる敗血症性脳症 (Sepsis-associated encephalopathy: SAE) に注目している (井上ら、2016, 脳と看護、Saito, Inoue, et al. 国際 Shock 学会 口頭発表、2019)。SAE は、脳炎や髄膜炎など中枢疾患の明白な感染症を伴わない、感染に続発したびまん性の脳機能障害で、重症敗血症患者の 9-71% に発症し、不穏や不安症状・集中力の欠如・せん妄・深昏睡を引き起こす。SAE は敗血症の予後不良因子であり、早期の発見と新規治療方法の確立は臨床上の重要課題である。しかしな

がら、**SAE** の動物モデルは十分に確立されていないため、病態解明や治療ターゲットの同定には至っておらず、また、**PICS** 発症との関連も明確ではない。申請者らは、敗血症誘導から **10** 日目にマウスを犠死し、脳中の細胞分布を解析しところ、**敗血症モデルマウスの脳内**において、白血球の浸潤あるいは増殖が認められた（図 2）。このように敗血症後の脳内炎症が **SAE** の一因である可能性がある。

## 2. 研究の目的

1) 敗血症に対する免疫応答の観点から着目した **SAE** および **PICS** の発症機序の解明

2) 慢性炎症の制御に基づいた **SAE** および **PICS** の治療効果

を明らかにすること

## 3. 研究の方法

研究①:ICU 敗血症患者の免疫機能解析と **PICS** の評価

インフォームドコンセントを得られた神戸大学救命救急センター**ICU** に入院となった敗血症患者の末梢血より単離した **T** 細胞のサブタイプならびに炎症系サイトカインをフローサイトメーターにて解析。また **ICU** 入院中・**ICU** 退室時・退院後の身体機能・せん妄・認知機能・精神機能を評価し **PICS** の程度を評価する。

研究②:マウス **PICS** モデル作成と **PICS** 病態生理解明

実験 2-1. マウス **PICS** モデルの作成とその評価 **C57B6** マウス(6-8 週雄)に便懸濁 (**Cecal Slurry: CS**) を腹腔内に投与し作成した敗血症モデルマウスに対して輸液・人工呼吸管理・抗菌薬投与を実施し、ヒトの集中治療を模した治療を施行し、身体機能・認知機能・精神機能に関わる行動試験を行って各 **PICS** の主要な症状を診断し、モデルを構築する。

実験 2-2: マウス **PICS** モデルにおける脳内炎症細胞のサブタイプの経時的解析 敗血症誘導後、**1**、**5**、**10**、**20**、**40**、**80**、**150** 日目にマウスを犠死し、脳内におけるリンパ球、および、そのフェノタイプの変動を経日的に解析する。また、リンパ球を遊走するケモカイン (**CCL19** や **21**) および受容体である **CCR7** や **CCR4** などをターゲットとして発現解析を行う。

研究③: 脳内リンパ球の浸潤制御に注目した **PICS** 治療戦略

**SAE** の原因の **1** つに血液脳関門破綻に伴う炎症細胞の脳内浸潤が報告されているが (**Kuperberg et al. Frontiers in Immunology 2017**)、敗血症後の **BBB** 破綻のメカニズムとその期間は不明である。このため敗血症モデルマウスの血液脳関門の機能をエバンスブ

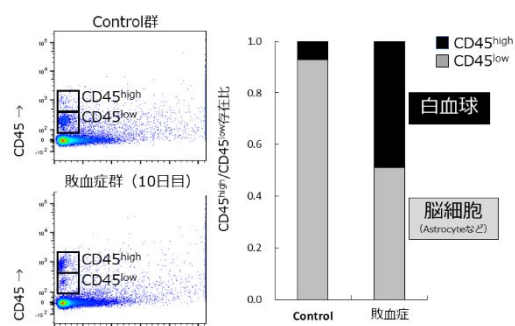


図2. 敗血症は大脳皮質中の白血球を増加させる。

ルー法により 90 日まで経日的に評価し、炎症の鎮静化と共に回復するのか検討する。またスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)は近年敗血症による血管内皮障害を修復することで新たな治療ターゲットとして注目されており、BBB の破綻改善作用も報告されている (Hemdan et al. Eur J Immunol 2016)。このため S1P シグナルの調節因子である FTY720 (フィンゴリモド) が BBB の破綻を抑制し脳内へのリンパ球の浸潤を阻害しうると考えている。敗血症誘導後、5 日目からマウスに FTY720 を投与することで脳へのリンパ球浸潤を阻害する。敗血症誘導から 14 日目以降、マウスの行動試験や脳内における炎症性サイトカインやケモカインの発現を解析する。

#### 4 . 研究成果

##### 結果①:ICU 敗血症患者の免疫機能解析と PICS の評価

対象 77 名の ICU 敗血症患者の平均年齢 73 歳、男性 64%SOFA スコア 8.0 であった。生存退院は 64 名であった。敗血症患者の 2 年後生存率は 48%であった。敗血症 3 か月後の PICS の割合は 69%で、身体機能障害 63%、認知障害 32%、精神障害 33%であった。非 PICS 群と比較して、PICS 群では day1-7 の意識レベルが有意に低下し、せん妄スコアが有意に上昇していた。また非 PICS 群と比較して、PICS 群では day1-7 の末梢血リンパ球数が有意に低下していた。Day7 における意識レベルが敗血症 3 か月後における PICS の独立した予後予測因子であった(Inoue, et al. JCM, 2022)。炎症系サイトカインならびに T 細胞のサブタイプにおいて、2 群で有意差は認められなかった。

##### 結果②:マウス PICS モデル作成と PICS 病態生理解明

結果 2-1 : 敗血症誘発後 1-2 週目に、生存マウスにおける行動解析を、(1) 身体的評価のための握力テスト (GST) とトレッドミルテスト、(2) 認知的評価のための新規物体認識テスト (NORT) (3) メンタル評価のためのオープンフィールドテスト (OFT) とマーブル埋没テスト (MBT) の行動テストで同時に評価した。生存したマウスは、非敗血症マウスと比較して、GST では握力が有意に低下し、トレッドミル試験での総走行距離が減少していた。また OFT では中心部にいる時間が有意に減少し、不安と活動低下が増加した。さらに MBT ではビー玉を埋める数が増加するなど、さまざまな障害を示した。以上より、敗血症マウスでは亜急性期において身体機能障害と精神障害を認めた。

結果 2-2 : 敗血症発症 20 日後、敗血症マウスはアストロサイトの数を回復させることができた。30 日目には、敗血症マウスの大脳皮質において、IL-1 $\beta$  と腫瘍壊死因子 (TNF) - $\alpha$  の発現レベルは正常レベルに戻った。

##### 結果③:脳内リンパ球の浸潤制御に注目した PICS 治療戦略

スフィンゴシン-1-リン酸(S1P)依存性のリンパ節からのリンパ球の脱出を阻害する FTY720 を投与した敗血症マウスでは、神経炎症の解消と抑うつ状態の緩和が遅れていた。敗血症マ

ウスの FTY720 投与有無による脳内 T 細胞の解析では、FTY720 未投与マウスでは脳内で制御性 T 細胞 (Treg) と Th2 細胞の増加が見られたが、FTY720 投与マウスでは 30 日目に脳内で Th17 の増加が見られた。さらに、FTY720 を投与した敗血症マウスでは、大脳皮質のアストロサイトの数も 30 日目に減少したままであった (Saito, Inoue et al. Brain Behav Immun. 2021)。これらの結果は、浸潤した Treg および Th2 細胞が、敗血症の慢性期における神経炎症を解消することにより、SAE を軽減し、SAE が誘発する精神障害を緩和することに寄与することを示唆している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Fujinami Yoshihisa, Inoue Shigeaki, Ono Yuko, Miyazaki Yusuke, Fujioka Kazumichi, Yamashita Kimihiro, Kotani Joji	4. 巻 10
2. 論文標題 Sepsis Induces Physical and Mental Impairments in a Mouse Model of Post-Intensive Care Syndrome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 1593 ~ 1593
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm10081593	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 -
1. 著者名 Saito Masafumi, Fujinami Yoshihisa, Ono Yuko, Ohyama Shohei, Fujioka Kazumichi, Yamashita Kimihiro, Inoue Shigeaki, Kotani Joji	4. 巻 92
2. 論文標題 Infiltrated regulatory T cells and Th2 cells in the brain contribute to attenuation of sepsis-associated encephalopathy and alleviation of mental impairments in mice with polymicrobial sepsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain, Behavior, and Immunity	6. 最初と最後の頁 25 ~ 38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbi.2020.11.010	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 -
1. 著者名 Fujinami Yoshihisa, Hifumi Toru, Ono Yuko, Saito Masafumi, Okazaki Tomoya, Shinohara Natsuyo, Akiyama Kyoko, Kunikata Misa, Inoue Shigeaki, Kotani Joji, Kuroda Yasuhiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Malocclusion of Molar Teeth Is Associated with Activities of Daily Living Loss and Delirium in Elderly Critically Ill Older Patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 2157 ~ 2157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm10102157	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 -
1. 著者名 Nakanishi Nobuto, Liu Keibun, Kawakami Daisuke, Kawai Yusuke, Morisawa Tomoyuki, Nishida Takeshi, Sumita Hidenori, Unoki Takeshi, Hifumi Toru, Iida Yuki, Katsukawa Hajime, Nakamura Kensuke, Ohshimo Shinichiro, Hatakeyama Junji, Inoue Shigeaki, Nishida Osamu	4. 巻 10
2. 論文標題 Post-Intensive Care Syndrome and Its New Challenges in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic: A Review of Recent Advances and Perspectives	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 3870 ~ 3870
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm10173870	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 -

1. 著者名 Nakanishi Nobuto, Ono Yuko, Miyazaki Yusuke, Moriyama Naoki, Fujioka Kazumichi, Yamashita Kimihiro, Inoue Shigeaki, Kotani Joji	4. 巻 13
2. 論文標題 Sepsis causes neutrophil infiltration in muscle leading to muscle atrophy and weakness in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 950646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2022.950646	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 -

1. 著者名 Inoue Shigeaki, Nakanishi Nobuto, Sugiyama Jun, Moriyama Naoki, Miyazaki Yusuke, Sugimoto Takashi, Fujinami Yoshihisa, Ono Yuko, Kotani Joji	4. 巻 11
2. 論文標題 Prevalence and Long-Term Prognosis of Post-Intensive Care Syndrome after Sepsis: A Single-Center Prospective Observational Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 5257 ~ 5257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm11185257	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inoue Shigeaki, Nakanishi Nobuto, Nakamura Kensuke	4. 巻 11
2. 論文標題 Post-Intensive Care Syndrome?10 Years after Its Proposal and Future Directions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 4381 ~ 4381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm11154381	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 井上 茂亮, 斎藤 雅史, 大野 雄康, 小谷 穰治
2. 発表標題 免疫弱者における敗血症管理 病態把握とその対策
3. 学会等名 第49回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 畠山 淳司, 中村 謙介, 山川 一馬, 劉 啓文, 西田 武史, 大下 慎一郎, 井上 茂亮, 橋本 悟, 西田 修
2. 発表標題 COVID-19PICISと早期リハ介入の効果 新型コロナウイルス感染症に伴う集中治療後症候群 多施設前向き観察研究
3. 学会等名 第49回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤浪 好寿, 斎藤 雅史, 中田 一弥, 佐藤 圭路, 切田 学, 井上 茂亮, 小谷 穰治.
2. 発表標題 集中治療における高齢者ケア フレイルという観点から
3. 学会等名 第49回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2022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
研究分担者	松本 理器  (Riki Matsumoto)  (00378754)	神戸大学・医学研究科・教授   (14501)	
研究分担者	西田 修  (Osamu Nishida)  (20208185)	藤田医科大学・医学部・教授   (33916)	
研究分担者	曽良 一郎  (Ichiro Sora)  (40322713)	神戸大学・医学研究科・教授   (14501)	



6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	黒田 泰弘 (Yasuhiro Kuroda)  (80234615)	香川大学・医学部・教授  (16201)	
研究分担者	小谷 穰治 (Joji Kotani)  (80360270)	神戸大学・医学部附属病院・教授  (14501)	
研究分担者	山下 公大 (Kimihiro Yamashita)  (80535427)	神戸大学・医学部附属病院・特命准教授  (14501)	
研究分担者	酒井 良忠 (Yoshitada Sakai)  (90397802)	神戸大学・医学研究科・特命教授  (14501)	

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