

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09245

研究課題名(和文) 静脈麻酔薬プロポフォールによるT細胞代謝変化が腫瘍免疫応答に与える影響

研究課題名(英文) Effects of intravenous anesthetic propofol on T-cell metabolic changes on tumor immune responses

研究代表者

萬家 俊博 (Yorozuya, Toshihiro)

愛媛大学・医学系研究科・教授

研究者番号：10230848

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：CD8T細胞はプロポフォールによって解糖系代謝を抑制され、細胞増殖やサイトカイン産生が低下する。それにより、細胞障害活性が低下する。また生体内において、プロポフォールは、感染によるCD8T細胞の増殖やサイトカイン産生を抑制する。一方で、プロポフォールは活性化したCD8T細胞の生存能を低下させる。これによって、メモリーCD8T細胞の数が減少し、二次免疫応答の強さを低下させる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全身麻酔は免疫を抑制することが知られており、近年、悪性腫瘍切除時に使用する麻酔薬の種類により、がんの転移・再発などの予後が左右されることが報告され始めている。これに伴って、麻酔方法と長期予後の関係を解明することが必要とされている。

本研究は臨床において広く使用されているプロポフォールが起こす免疫抑制作用の一部を明らかにした。さらなる研究によって、がん患者の長期予後を改善させる麻酔時の新たな戦略が提示できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Propofol suppresses glycolytic metabolism of CD8 T cells, resulting in decreased cell proliferation and cytokine production. Thereby the cytotoxic activity is reduced. In vivo, propofol suppresses CD8 T cell proliferation and cytokine production due to infection. On the other hand, propofol reduces the viability of activated CD8 T cells. This reduces the number of memory CD8 T cells and weakens secondary immune responses.

研究分野：麻酔科学

キーワード：麻酔 免疫 プロポフォール T細胞 CD8 代謝 腫瘍 感染

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年の技術・機器の進歩や麻酔薬の安全性向上により、麻酔のリスクは大幅に低下している。一方で、非心臓手術における術後1年以内の死亡のうち約半数が「がん」であること、悪性腫瘍切除術の周術期において吸入麻酔群は、静脈麻酔群に比べ予後が悪いことなどが報告されている。そのため、手術自体の死亡率が低下した現在、麻酔・周術期管理のがんを含む長期予後に対する影響を考慮する時代となってきている。当然のことながら、手術患者の長期予後は、免疫系の状態に左右される。特に、がん転移や再発の予防には、CD4 T (ヘルパーT)細胞やCD8 T (キラーT)細胞が重要な役割を担う。そのため、周術期において患者のT細胞状態を適切に管理することが、長期予後を改善する上で必須である。しかし、麻酔薬が免疫系に影響を与えることは古くから提唱されているものの、その詳細、特に長期予後に及ぼす影響については研究が進んでいない。

私たちはこれまでに、キラーT細胞の抗原認識時に、臨床で幅広く用いられるステロイド(プレドニゾロン)が存在することで、T細胞内代謝が低下し、エフェクター機能や免疫記憶形成が阻害され、抗腫瘍活性が低下することを見出している(Konishi et al. Biochem Biophys Res Commun. 2022)。この結果は、T細胞活性化時の薬剤の存在が免疫系に長期に渡って影響を及ぼすことを示唆している。さらに、全身麻酔薬として頻繁に使用されるプロポフォールが活性化T細胞の解糖能を著しく低下させることも見出している。そこで、周術期に用いられるプロポフォールが、T細胞機能に影響を与え、がんの再発・転移など、患者の長期予後に大きく影響を及ぼすのではないかと考えた。

2. 研究の目的

ナイーブT細胞は抗原認識後に活性化し、エフェクターT細胞へ分化する。また、一部のT細胞は、生体で長期生存可能な記憶型T細胞へ分化し、がんの再発や転移を防止する。活性化したキラーT細胞は、がん細胞を直接攻撃・殺傷する作用を持ち、腫瘍排除の中心的な役割を担う。近年、T細胞の活性化や分化は、細胞の代謝状態によって制御されることが分かってきた。そのため、プロポフォールがT細胞活性化、機能・分化に与える影響と腫瘍免疫応答に対する作用を明らかにすることを目的とする。これにより、麻酔時のT細胞代謝状態を考慮した、適切な管理を行うことで、腫瘍免疫応答の低下を防止し、患者の長期予後を改善させる新たな麻酔管理法の提示を目指す。

3. 研究の方法

*In vitro*の解析は、マウス由来のナイーブCD8T細胞を50 μ Mのプロポフォールの有無で、IL-2存在下に固相化抗TCR抗体と抗CD28抗体で2日間刺激後、IL-2で増殖させた細胞を用いて行った。抗原特異的な細胞障害活性は、T細胞受容体を卵白アルブミン(OVA)に反応するものだけに固定された遺伝子改変マウス(OT-1)からナイーブCD8T細胞を採取して行った。

*In vivo*では、OVAを疑似がん抗原として発現するマウス胸腺由来のE.G7細胞を皮下移植して作成した腫瘍モデルマウスに、培養したOT-1CD8T細胞を経静脈的に養子移入して、抗腫瘍活性を解析した。また、培養したOT-1CD8T細胞を養子移入した4週間後に、OVAを発現したリステリア菌(Lm-OVA)を感染させることでメモリー機能、二次免疫応答を解析した。さらに、naiveOT-1CD8T細胞を養子移入したマウスにLm-OVAを感染させ、その後マウスの腹腔内に1日1回プロポフォール100mg/kgまたは同容量の10%大豆油を投与する実験で、個体にプロポフォールが投与された際の影響を検討した。

4. 研究成果

プロポフォールによるCD8T細胞の抗腫瘍活性の低下

*In vitro*において、プロポフォールを添加した細胞ではIL-2、IFN γ 、TNF α 産生細胞の割合が減少していた。また、培地のサイトカイン濃度はIL-2とTNF α で低下がみられた。さらに、細胞増殖も低下していた。抗原特異的な細胞障害活性はプロポフォールを添加した細胞で低下がみられた。

腫瘍モデルマウスを用いた*in vivo*の解析では、プロポフォールを添加した細胞を移入されたマウスの腫瘍は対照となるマウスの腫瘍よりも有意に増大し、生存率も低下がみられた。腫瘍に浸潤したCD8T細胞の数はプロポフォールを添加した細胞を移入されたマウスの腫瘍で、有意に低下していた。

これらの結果は、プロポフォールがCD8T細胞の解糖系を阻害したことによってエフェクター機能の発現に障害があらわれたためと考えられる。

プロポフォールによるCD8T細胞のメモリー機能の低下

5日間培養した細胞を、IL-2を除き、IL-7またはIL-15の存在する培地に移したところ、プロポフォールを添加した細胞ではその後生存し続ける細胞の割合が有意に低下した。また、ミトコンドリアにおいては活性酸素種が増加しており、mRNAではアポトーシスに関連する遺伝子

の発現が増加していた。

5日間培養した細胞をマウスに養子移入し、4週間後に脾臓に残存する CD8 T 細胞の数はプロポフォールを添加した細胞を移入されたマウスで有意に低下していた。Lm-OVA 感染による二次免疫応答で増殖した CD8 T 細胞の数もプロポフォールを添加した細胞を移入されたマウスで有意に低下していた。

これらの結果から、活性化の初期にプロポフォールが存在することで CD8T 細胞の生存能が低下しそれによってメモリー機能が障害されることが考えられる。

プロポフォール腹腔内投与マウスにおける CD8 T 細胞機能の低下

1週間腹腔内投与を行ったところ、CD8T 細胞の Lm-OVA に対する増殖能はプロポフォールを投与されたマウスで有意に低下しており、脾臓における細胞数も有意に低下した。mRNA におけるサイトカインの発現量は IL-2 と TNF で有意に低下した。

1週間の腹腔内投与を行った3週間後に脾臓に残存した CD8 T 細胞数は、プロポフォールを投与されたマウスで有意に低下した。

これらの結果から、CD8 T 細胞にプロポフォールを直接作用させた時と同様の結果が、個体にプロポフォールを投与した場合でも見られることが示された。

以上の解析結果から、プロポフォールは CD8 T 細胞の機能を阻害することが示された。全身麻酔による免疫能低下の原因の一つにプロポフォールによる CD8 T 細胞機能の低下が関係していると考えられた。プロポフォールの作用機序を解明するため RNA シーケンスで網羅的な解析を行い、候補となる遺伝子について検討を行ったが、プロポフォールによる作用を説明するには至っていない。プロポフォールは mRNA ではなく、それより下流のたんぱく質レベルで作用していることも考えられた。今後は、プロポフォールの作用機序の詳細を明らかにし、T 細胞の代謝をコントロールする麻酔法の開発につなげたいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 山本和一
2. 発表標題 プロポフォールのCD8+ T細胞免疫記憶形成に対する影響
3. 学会等名 第69回日本麻酔科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本和一
2. 発表標題 プロポフォールのCD8+T細胞機能に対する影響
3. 学会等名 第70回日本麻酔科学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山本和一
2. 発表標題 プロポフォールがCD8陽性T細胞の活性化・機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第49回集中治療医学会
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	小西 周 (Konishi Amane) (30868823)	愛媛大学・医学部附属病院・医員 (16301)	

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	山本 和一 (Yamamoto Waichi) (40906418)	愛媛大学・医学部附属病院・医員 (16301)	

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