

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17855

研究課題名(和文)敗血症DICにおける神経因性ペプチドを介した病態制御と治療応用

研究課題名(英文) Neurogenic peptide-mediated pathogenetic control and therapeutic application in septic DIC

研究代表者

末金 彰 (Suekane, Akira)

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・助教

研究者番号：40856382

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)：DIC (Disseminated Intravascular Coagulation)は敗血症に高率に合併し、予後を著明に悪化させる。本研究では敗血症DICにおけるCGRPの役割を明らかにし治療標的としての応用可能性を検討することを目標とした。敗血症DICマウスモデルの作成、CGRP阻害薬の投与、細胞株を用いたCGRP阻害薬の細胞内シグナルへの影響の検討を行った。その結果からCGRPの阻害薬であるtelcagepant (MK-0974) はERKのリン酸化を抑制しapoptosisを誘導することを発見し急性骨髄性白血病細胞への治療応用可能性に関する報告を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

敗血症は感染に対する免疫反応の制御不全と定義され、急性の多臓器不全を引き起こす。毎年数百万人が罹患し、死亡のリスクも高い。DIC (Disseminated Intravascular Coagulation)は敗血症に効率に合併し、予後を著明に悪化させる。このため敗血症に引続くDICの病態解明と新規治療法的の開発は重要な課題である。本研究においては敗血症DICにおけるCGRPの役割の評価の過程でCGRP阻害薬のERKシグナルへの阻害効果を発見し急性骨髄性白血病細胞に対する治療応用可能性に関する報告を行った。敗血症DICにおけるCGRPの病態への関与を引き続き検討する予定としている。

研究成果の概要(英文)：Disseminated intravascular coagulation (DIC) is a frequent complication of sepsis and significantly worsens prognosis. In this study, we aimed to clarify the role of CGRP in septic DIC and to examine its potential application as a therapeutic target. We generated a mouse model of septic DIC, administered CGRP inhibitors, and examined the effects of CGRP inhibitors on intracellular signaling using cell lines. We found that telcagepant (MK-0974), an inhibitor of CGRP, suppresses ERK phosphorylation and induces apoptosis, and reported on its potential therapeutic application to acute myeloid leukemia cells.

研究分野：敗血症

キーワード：敗血症 DIC

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

救急領域では様々な敗血症患者を診察するが中でも下部消化管穿孔の症例では患者はグラム陰性桿菌による敗血症、DICを呈し、容易にショック状態となり死に至る。敗血症は感染に対する免疫反応の制御異常で、全身性の炎症反応を伴い、急性の多臓器不全を引き起こす。原因微生物は多種多様で毎年数百万人が罹患し数秒に一人が命を落とすとされている。敗血症では自然免疫の過程として細菌やウイルスなどに対して血小板、好中球の活性化、凝固系の亢進が起こり血栓形成を介して感染を局所に封じ込めようとする immunothrombosis という反応起こるとされ、この反応が感染を制御できず全身に微小血栓が播種することで DIC が引き起こされるとされている。従って敗血症によって誘導される DIC は制御不能となった自然免疫機構の破綻によって引き起こされると考えられる。DIC の合併は局所の感染の封じ込めが破綻し、全身の微小血栓が臓器障害を引き起こした状態であり敗血症の予後を悪化させるため病態の解明、治療法の開発が必要とされている。

敗血症を引き起こす細菌感染は好中球、血小板等を介した自然免疫を活性化するが、同時に全身に分布する侵害受容体、感覚神経を活性化する。活性化した侵害受容体、感覚神経は様々なサイトカインやペプチドを介して免疫反応を制御するとされているがその機構は完全には解明されていない。神経系と免疫系のクロストークが近年研究が進んでいるが、中でも感覚神経に存在する侵害受容体である TRPV1 (Transient receptor potential vanilloid 1) の活性化によって分泌される CGRP (Calcitonin gene related peptide) シグナルは、致死的な MRSA (methicillin-resistant *S.aureus*) 肺炎に対して好中球や T 細胞を抑制し細菌に対する免疫反応を抑制し感染症の予後を悪化させるとの報告があり、また侵襲性溶連菌感染症においてもシグナルの阻害が治療標的としての可能性を報告されている。上述したように DIC は敗血症における免疫反応の過程であり、また敗血症において CGRP の血中濃度の上昇が報告されていることから、敗血症における DIC の病態においても TRPV1-CGRP シグナルの関与が示唆される。消化管穿孔に引き続く敗血症、DIC に関しては TRPV1-CGRP シグナルの予後や病態に関する報告はなく、以上のことから申請者は敗血症における LPS (Lipopolysaccharide) 誘導 DIC マウスモデル、盲腸結紮穿孔 (CLP) モデルを用いて TRPV1-CGRP シグナルの予後を含めた病態における役割を明らかにし、治療標的としての応用可能性を検討することとした。

### 2. 研究の目的

TRPV1 は神経線維の中でも温痛覚や炎症性の感覚を伝達する C 線維に局在する侵害受容体で温痛覚刺激に反応する。CGRP は 37 個のアミノ酸からなるペプチドで TRPV1 と同様に C 線維に発現し TRPV1 の活性化により神経末端より放出されるとされている。CRLR (Calcitonin receptor like receptor) と RAMP1 (Receptor activity modifying protein 1) は造血幹細胞をはじめとし Macrophage や好中球など自然免疫を司る血球系に広く分布し CGRP のレセプターとして働く。CGRP の結合により細胞内 cAMP の上昇、protein kinase A (PKA) の活性化に引き続き、extracellular signal related kinases (ERKs)、cAMP response element binding protein (CREB) が活性化され、様々な生理学的作用を引き起こす。CGRP のレセプターである RAMP1 を欠損したマウスでは TNF (tumor necrosis factor) の血中濃度が上昇しており CGRP が TNF の産生を抑制していることが示唆された。

CGRP は敗血症において血中濃度が上昇しているとの報告があり、盲腸結紮穿孔敗血症マウスモデルにおいては好塩基球から分泌される TNF が敗血症の予後を改善させるとの報告がある<sup>11)</sup>。また CGRP は血小板の活性化を抑制するとされており、CGRP は血小板の活性化を介した immunothrombosis、敗血症における DIC の発症に関わることが示唆されるがその検討や報告はない。

申請者はこれまでにストレス下での CGRP による造血幹細胞の恒常性の維持と破綻のメカニズムに関する研究を行っており、本研究では CLP マウスモデル、LPS 誘導 DIC モデルを用いて、下部消化管穿孔と敗血症に引続く DIC の病態における TRPV1-CGRP シグナルを介した神経制御による病態の解明と CGRP 拮抗薬の治療応用可能性を検討する。

敗血症、DIC に対する研究は日本において盛んであり組み換えトロンボモジュリンなどの臨床研究も盛んである。本研究により感染や炎症による浸潤受容体の活性化が敗血症の病態や DIC を増悪させていることが明らかになればインパクトは大きく、また CGRP の拮抗薬は偏頭痛治療薬として臨床応用されていることから CGRP 拮抗薬の臨床応用へのハードルは低く治療薬として応用できれば社会的インパクトが大きいと考えられる。

### 3. 研究の方法

これまでの研究で TRPV1 を介した CGRP シグナルが MRSA 肺炎、侵襲性溶連菌感染症において細菌に対する自然免疫を抑え、予後を悪化させることが報告されているが下部消化管穿孔による

グラム陰性桿菌による敗血症や DIC といった病態への TRPV1 を介したシグナルの寄与は明らかになっていない。したがって我々は LPS 誘導性 DIC モデル、盲腸結索穿刺敗血症マウスモデルを作成し CGRP 阻害薬を投与し予後を比較する。これにより TRPV1 の活性化による CGRP の分泌を介した感染や疼痛による敗血症の病態、DIC の進展への知見を得ることができる。また CGRP 阻害薬は偏頭痛に対して臨床応用されており CGRP 阻害薬の細胞内シグナルへの影響を評価する。以上の検討により敗血症の病態、DIC の病態における疼痛や、感染ストレスの浸潤受容体を介した制御を解明し、治療応用へとつなげる事を最終目標とする。

#### 4 . 研究成果

CGRP 阻害薬の細胞内シグナルへの影響と急性骨髄性白血病への治療応用可能性の提示。  
CGRP 阻害薬の細胞内シグナルへの影響を評価する過程で、CGRP の阻害薬である MK0974 が EVI1 高発現急性骨髄性白血病細胞株において ERK のリン酸化を抑制し apoptosis を誘導することを明らかにした。EVI1 高発現急性骨髄性白血病は予後が非常に悪く新規治療が求められている白血病であり、MK0974 は市販化されていないが CGRP 阻害薬は市販化されている事から、CGRP 阻害薬が急性骨髄性白血病の治療薬として応用できる可能性を報告した。

敗血症 DIC マウスモデルの作成と CGRP の病態への関与、生存期間への影響の評価。  
LPS 投与によるマウス敗血症 DIC モデルを作成した。CGRP 阻害薬を投与し、生存期間の比較、病態における CGRP 阻害薬の効果を検討した。今後報告を予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akira Suekane, Tomonaga Ichikawa, Yusuke Saito, Shingo Nakahata, Kazuhiro Morishita	4. 巻 42
2. 論文標題 The CGRP Receptor Antagonist MK0974 Induces EVI1high AML Cell Apoptosis by Disrupting ERK Signaling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4743-4752
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.15979	査読の有無 有
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 Suzuki Keisuke, Morishita Koji, Adachi Tomohiro, Suekane Akira, Nakatsutsumi Keita, Teeratakulpisarn Panu, Kojima Mitsuki, Coimbra Raul, Otomo Yasuhiro	4. 巻 10
2. 論文標題 PROSTAGLANDIN E-MAJOR URINARY METABOLITES AS A NEW BIOMARKER FOR ACUTE MESENTERIC ISCHEMIA	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Trauma and Acute Care Surgery	6. 最初と最後の頁 1097
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/TA.0000000000004267	査読の有無 有
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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------