

令和 6 年 4 月 23 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03114

研究課題名（和文）痛みにインスパイアされた革新的敗血症治療法の開発

研究課題名（英文）Developing innovative sepsis treatments inspired by pain

研究代表者

丸山 健太（Maruyama, Kenta）

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：60724119

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究により、脳ミクログリアにおける ID01 の発現上昇に伴った QUIN の過剰産生が、敗血症の“真の”死因である可能性が浮上した。LPS で刺激された痛覚神経は、Reg3 を産生することで脳ミクログリアの ID01 の発現を抑制し、敗血症の死亡率を低減させている可能性がある。今後、敗血症を“脳の代謝異常病”として再定義し、感覚免疫学の視点から研究をすすめることで、敗血症の革新的な救命法を開発できる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

LPS を投与されたマウスの痛覚神経は脳に浸潤する性質をもつ Reg3g を産生し、Reg3g はミクログリアの ID01 の発現を抑制することで脳を保護していることが明らかとなった。痛覚神経による脳を標的とするこれまで全く知られていない新しい免疫寛容機構の一端が解明されたものと考えている。

研究成果の概要（英文）：This study raises the possibility that overproduction of QUIN, accompanied by increased expression of ID01 in brain microglia, is the bona-fide cause of death in sepsis. Future research on sepsis from the viewpoint of senso-immunology, redefining sepsis as a "metabolic disorder of the brain", may lead to the development of innovative and life-saving methods for sepsis.

研究分野：感覚免疫学

キーワード：痛覚 免疫 脳

1. 研究開始当初の背景

敗血症は、炎症を誘発するグラム陰性菌成分の LPS 等が原因で 3 割が絶命する重篤な疾患である。地球全体では 3 秒に 1 人が敗血症で死んでいるとされ、その直接死因は過剰な炎症にあるものと考えられているが、炎症性サイトカインを標的とした抗体医薬やステロイドの救命効果が限定的であることから、これまでにない病態仮説の提唱が求められている。我々は、無痛覚神経マウス (Nav1.8Cre Rosa26DTA) が、末梢組織の炎症状態が野生型マウスと同程度であるにもかかわらず、LPS の投与に対してきわめて脆弱であることを見出した。当該マウスは LPS 投与後、痙攣を伴いながら死亡するため、中枢異常が直接死因となっている可能性を考えて脳の FDG-PET とメタボローム解析を実施したところ、脳全域にわたる FDG の集積障害と解糖系・TCA サイクルの減弱、ならびにキヌレニン経路代謝産物の増加が観察された。これらの結果は、LPS を投与されたマウスの痛覚神経がなんらかのメカニズムで脳の細胞呼吸低下とキヌレニン経路の過剰な活性化を抑制していることを示唆する。

2. 研究の目的

本研究では、上述の LPS に対する痛覚神経性トレランスの分子機序の解明を通じて、これまでにない病態仮説に立脚した新しい敗血症治療戦略の提案を目指した。

3. 研究の方法

<無痛覚神経マウス由来組織のオミックス解析>

LPS を投与された無痛覚神経マウス脳組織のトランスクリプトーム&メタボローム、ならびに後根神経節のトランスクリプトームデータを分析することで、痛覚神経が脳代謝に与える影響を検討した。

<痛覚神経由来脳代謝保護因子の探索>

LPS で刺激された痛覚神経より放出される液性因子の中で、全身炎症状態にある個体の脳代謝を正常化させるものを、遺伝子改変マウスを駆使することで探索した。

4. 研究成果

LPS を投与された無痛覚神経マウスの脳では FDG の取り込みが顕著に低下する。FDG はリン酸化された活性化型の HK1 によってリン酸化を受け、細胞内に集積することが知られている。LPS を投与した無痛覚神経マウスの脳神経をとりだして生化学的に解析したところ、HK1 のリン酸化が顕著に障害されていたことから、HK1 の活性化障害が脳における FDG の集積低下ならびに細胞呼吸障害の原因であると考えられた。その証拠に、グルコースの投与は無痛覚神経マウスの LPS 脆弱性を改善しなかった一方、ケトン体の投与あるいはプリンサルベージ経路を活性化することで脳の ATP 量を増加させるイノシン+フェブキソスタットの投与は、無痛覚神経マウスの LPS 脆弱性を改善した。LPS を投与された無痛覚神経マウスの脳ミクログリアでは、キヌレニン経路の律速酵素である IDO1 の発現が上昇すると同時に、キヌレニン経路の最終代謝産物である QUIN の産生が増加していた。また、QUIN は脳神経の HK1 のリン酸化を障害することで細胞呼吸を抑制し、抗 QUIN 抗体または IDO1 阻害剤の髄注は、無痛覚神経マウスの LPS 脆弱性を改善した。近年、IL-22 を欠損するマウスの腸では抗菌ペプチドの産生が減弱する一方、IDO1 の発現が上昇していることが報告された。また、痛覚神経の損傷に伴い、後根神経節において腸で発現する抗菌ペプチドの発現が上昇することも報告されている。LPS を投与した無痛覚神経マウスの後根神経節における炎症性サイトカイン・抗炎症性サイトカインの発現量は野生型マウスと変わらなかったことから、腸で発現する抗菌ペプチドの発現を網羅的に定量したところ、C-type lectin の一種である抗菌ペプチドの Reg3γ が、無痛覚神経マウスの後根神経節で消失していることを見出した。無痛覚神経マウスでは、LPS 投与後の血中 Reg3γ の濃度上昇がみられず、Reg3γ を全身で欠損するマウスに LPS と Reg3γ を同時に投与すると脳で Reg3γ が検出された。興味深いことに、Reg3γ の受容体である Extl3 の発現はマクロファージよりもミクログリアで 4 倍ほど高く、これを反映して Reg3γ は脳ミクログリアの IDO1 の発現を強力に抑制する一方、マクロファージの IDO1 の発現には殆ど影響しなかった。また、Reg3γ を痛覚神経特異的に欠損するマウス (Nav1.8Cre Reg3γflox/flox) を作製したところ、当該マウスは LPS 投与に対して脆弱で

あると同時に、LPS 投与後の血中 Reg3 γ の濃度上昇が消失していた。最後に、Reg3 γ をマウスに髄注したところ、無痛覚神経マウスと野生型マウスの LPS 投与後の生存率を顕著に改善することができた。以上より、LPS で刺激された痛覚神経は Reg3 γ を産生し、これがホルモンとして脳のミクログリアに作用することで IDO1 の発現が抑制され、痛覚神経トランスが成立しているものと考えられた。それでは、Reg3 γ どのようなメカニズムで、脳ミクログリアの IDO1 の発現を抑制しているのだろうか？Reg3 γ の受容体である Extl3 と結合する可能性のある遺伝子を STRING データベースで検索したところ、Ext1、Ext2、Extl1、Atxn1、XIAP の 5 つがヒットした。この中で実際に Extl3 と結合するものを免疫沈降によって検証したところ、XIAP が Extl3 の結合パートナーであることが判明した。Extl3 あるいは XIAP をミクログリアの細胞株でノックダウンすると、Reg3 γ による IDO1 の発現抑制効果が消失したことから、Reg3 γ による IDO1 発現抑制のためには Extl3-XIAP axis が必須であると考えられた。これまでの報告により、XIAP は Bcl10 と結合し、炎症シグナルを伝達することが報告されている。そこで LPS を投与した Bcl10 欠損マウス由来の脳における IDO1 の発現と QUIN 濃度を定量したところ、LPS を投与した野生型マウス由来の脳と比べてこれらの量が顕著に増加していた。IDO1 の発現は Bin1 によって抑制され、Bin1 の発現は転写因子 E2F1 によって誘導されることが知られている。また、E2F1 は Rac1 によって活性化され、炎症シグナル存在下において Bcl10 は Rac1 を活性化しうることが報告されている。詳細な生化学的解析の結果、Reg3 γ で刺激されたミクログリアでは Bcl10 依存性に Rac1 が活性化され、これに続いて E2F1 が Bin1 のプロモーターに結合することで Bin1 の発現が誘導された。また、Reg3 γ で誘導される Bin1 の発現上昇は、Rac1 阻害剤の処理によって消失し、Bin1 をノックダウンしたミクログリアの細胞株では、Reg3 γ による IDO1 の発現抑制が観察されなかった。以上より、Reg3 γ は Extl3-XIAP-Bcl10-Rac1 axis による E2F1 の活性化によって、IDO1 の発現を抑制する Bin1 を誘導していることが明らかとなった (Sugisawa et al, *Cell Rep* 2022)。本研究により、脳ミクログリアにおける IDO1 の発現上昇に伴った QUIN の過剰産生が、敗血症の“真の”死因である可能性が浮上した。LPS で刺激された痛覚神経は、Reg3 γ を産生することで脳ミクログリアの IDO1 の発現を抑制し、敗血症の死亡率を低減させている可能性がある。今後、敗血症を“脳の代謝異常病”として再定義し、感覚免疫学の視点から研究をすすめることで、敗血症の革新的な救命法を開発できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sugisawa Erika, Kondo Takeshi, Kumagai Yutaro, Kato Hiroki, Takayama Yasunori, Isohashi Kayako, Shimosegawa Eku, Takemura Naoki, Hayashi Yoshinori, Sasaki Takuya, Martino Mika?I M., Tominaga Makoto, Maruyama Kenta	4. 巻 38
2. 論文標題 Nociceptor-derived Reg3 prevents endotoxic death by targeting kynurenine pathway in microglia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 110462 ~ 110462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2022.110462	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 該当する

1. 著者名 Okumo Takayuki, Takayama Yasunori, Maruyama Kenta, Kato Mami, Sunagawa Masataka	4. 巻 12
2. 論文標題 Senso-Immunologic Prospects for Complex Regional Pain Syndrome Treatment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.786511	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 Maruyama Kenta	4. 巻 -
2. 論文標題 Senso immunology: crosstalk between nociceptive and immune systems	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.15846	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 丸山健太	4. 巻 39
2. 論文標題 骨髄移植ドナーはHotな食事を	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 1239-1240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 丸山健太	4. 巻 30
2. 論文標題 腸内リボ核酸による骨粗鬆症の病態修飾に関する研究	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Aging & Health	6. 最初と最後の頁 38-41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 丸山健太	4. 巻 -
2. 論文標題 感覚免疫学	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ブレインサイエンスレビュー2021	6. 最初と最後の頁 173-193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 丸山健太	4. 巻 79
2. 論文標題 腸内細菌RNAのセロトニン誘導による腸と骨の恒常性の制御	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 バイオサイエンスとインダストリ	6. 最初と最後の頁 34-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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18件 (うち招待講演 17件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 感覚免疫学
3. 学会等名 三融会・武田神経科学シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 感覚免疫学
3. 学会等名 自然科学研究機構若手研究者賞 記念講演会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kenta Maruyama
2. 発表標題 Senso-immunology
3. 学会等名 Bone Biology Forum (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 感覚免疫学
3. 学会等名 東北大学医学部 研究推進・研究倫理ゼミ (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 感覚免疫学
3. 学会等名 国際SHRシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 Senso-immunology: the emerging connection between pain and immunity
3. 学会等名 新潟大脳研・京大EHub 連携シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 感覚免疫学
3. 学会等名 和歌山県立医科大学 眼科セミナー（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kenta Maruyama
2. 発表標題 Senso-immunology
3. 学会等名 第46回日本神経科学大会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 感覚免疫学
3. 学会等名 豊秋奨学会交流同窓会 講演会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kenta Maruyama
2. 発表標題 Senso-immunology
3. 学会等名 21st Congress of the International Headache Society (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 感覚免疫学
3. 学会等名 日本味と匂学会第57回大会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 腸骨連関
3. 学会等名 第41回日本骨代謝学会学術集会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 Senso-immunology
3. 学会等名 International Symposium, Seoul National University School of Dentistry (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 感覚免疫学
3. 学会等名 慶應医学賞 ライジングスター賞 受賞講演 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 Crosstalk between Nociceptive system and Osteo-immune system ~From Senso-immunological point of view~
3. 学会等名 Joint symposium of KUCM-YUCM-YUCD-NIPS (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 感覚免疫学
3. 学会等名 第71回日本薬学会関西支部総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 微生物による骨破壊のメカニズム
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会合同シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 感覚免疫学
3. 学会等名 野口研究所 シンポジウム
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Molecular Gerontology https://www.moleculargerontology.com/ https://www.moleculargerontology.com/

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