

令和 5 年 4 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16914

研究課題名（和文）新規治療薬の開発～DNaseの好中球NETs、バイオフィーム制御効果～

研究課題名（英文）Developing new Drug -the effects of DNase suppressing NETs and biofilm formation-

研究代表者

山口 賢次（YAMAGUCHI, Kenji）

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：70897892

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：慢性創傷が慢性化する要因として、細菌のColonizationによるバイオフィームの形成が言われている。バイオフィームの形成には炎症を誘導する好中球および好中球が放出するNETsが関わっている可能性が示唆されている。本研究では、そのメカニズムおよびDNaseの有用性、さらなる新規治療へつながるかどうかが解析した。難治性潰瘍モデルとして真菌細胞壁である α -mannanを投与したマウスにDNaseを腹腔内投与することで創傷治癒を促進することが示された。急性創傷マウスでも同様の結果が得られたため、DNaseによるNETs阻害により、創傷治癒が促進することが示され、治療薬としての可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性創傷や難治性潰瘍に対する有効な治療選択肢が不足している現在、新たな治療薬を産出することは患者はもちろん、医療者や医療経済的負担の軽減にもつながる。本研究結果が、特に難治性潰瘍の創傷治癒を誘導する新たな治療薬の開発の一助となれば、外科手術やカテーテル治療、投薬治療に加えて新たな集学的治療の選択肢になると期待される。また、好中球NETsが創傷治癒を阻害することを支持する内容でもあり、創傷治癒に関する研究において、C型レクチン受容体を介した反応と、好中球NETsに関わる創傷治癒メカニズムの解明にもつながると考えている。

研究成果の概要（英文）：Biofilm formation due to bacterial colonization is said to be a factor in the chronicity of chronic wounds. It has been suggested that inflammation-inducing neutrophils and NETs released by neutrophils may be involved in biofilm formation. In this study, we analyzed the mechanism of biofilm formation, the usefulness of DNase, and whether DNase can lead to further novel therapies. Intraperitoneal administration of DNase to mice treated with α -mannan, a fungal cell wall, as a model of intractable ulcers was shown to promote wound healing. Similar results were obtained in mice with acute wounds, indicating that inhibition of NETs by DNase promotes wound healing and suggests its potential as a therapeutic agent.

研究分野：創傷治癒

キーワード：バイオフィーム 創傷治癒 好中球NETs DNase 慢性創傷

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性創傷が慢性化する要因として、細菌の Colonization によるバイオフィルムの形成が言われている。創に一度バイオフィルムが形成すると肉眼的なデブリードマンでは完全に除去することは難しく、難治性潰瘍へ移行する可能性が出てくる。バイオフィルムの形成には炎症を誘導する好中球および好中球が放出する NETs が関わっている可能性が示唆されている。バイオフィルムを抑制することは難治性潰瘍の創傷治癒に有利に働き、これまで保存的加療が難しかった糖尿病性足潰瘍や褥瘡などの治癒促進も期待される。

2. 研究の目的

NETs を阻害する DNase をマウス腹腔内に投与することが創傷治癒を促進するかどうか検証することである。さらに、そのメカニズムおよび DNase の有用性、さらなる新規治療へつながるかどうかの解析を行うことである。

3. 研究の方法

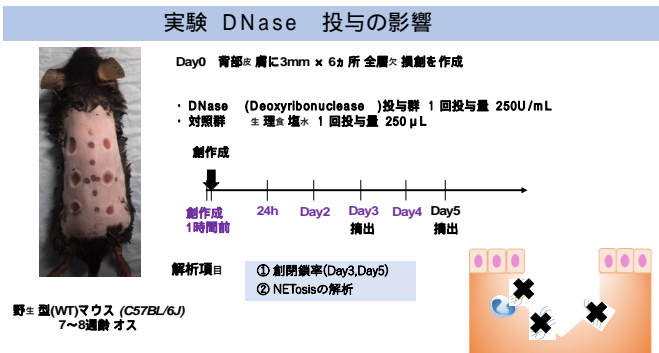
DNase を急性創傷モデルマウスに腹腔内投与し、創傷治癒が促進するかどうか解析する。さらに、難治性潰瘍における DNase の効果を解析するため、マウス腹腔内にストレプトゾトシンを投与し、糖尿病モデルマウスを作成する。作成した糖尿病モデルマウスに創傷を作成し、擬似的な糖尿病性潰瘍として用いる。さらに、高血糖状態の創傷では免疫能が低下し、バイオフィルムの形成が誘導されると考えられることから、作成したモデルの妥当性についてもバイオフィルム解析等を用いて評価する。

4. 研究成果

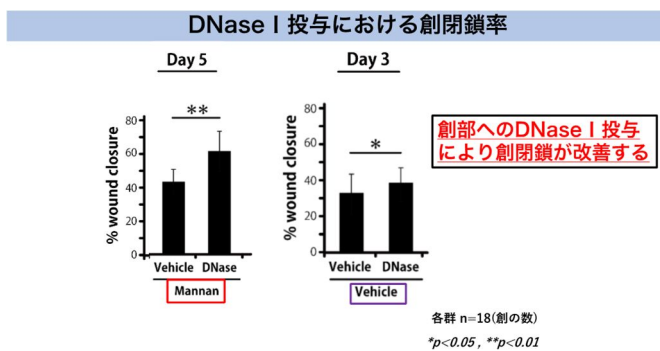
生理的 NETs 形成に関する実験として、当研究室ではウエスタンブロットによる解析を行ってきた。急性創傷モデルマウス (3mm 皮膚欠損創) において、Day3 で創部の NETs 誘導がピークになることを確認している (下図)。



本研究では、まずマウス腹腔内にストレプトゾトシンを投与し、血糖測定を行いモデルマウスの作成を行った。糖尿病モデルマウスの作成に至ったが、DNase を投与し、長期経過を見ている段階でマウスの死亡などが確認され、統計学的解析までは至らなかった。局所投与の影響の検証には至らなかったが、難治性潰瘍モデルとして真菌細胞壁である β -mannan を投与したマウスに DNase を腹腔内投与することで創傷治癒を促進することが示された。急性創傷マウスでも同様の結果が得られたため、DNase による NETs 阻害により、創傷治癒



が促進することが示され、治療薬としての可能性が示唆された。慢性創傷や難治性潰瘍に対する有効な治療選択肢が不足している現在、新たな治療薬を産出することは、患者はもちろん医療者や医療経済的負担の軽減にもつながる。本研究結果が、特に難治性潰瘍の創傷治癒を誘導する新たな治療薬の開発の一助となれば、外科手術やカテーテル治療、投薬治療に加えて新たな集学的治療の選択肢になると期待される。また、好中球 NETs が創傷治癒を阻害することを支持する内容でもあり、創傷治癒に関する研究において、C型レクチン受容体を介した反応と、好中球 NETs に関わる創傷治癒メカニズムの解明にもつながると考えている。



創部へのDNase I 投与により創閉鎖が改善する

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------