

機関番号：14301

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791765

研究課題名 (和文) 敗血症病態における小胞体ストレスの役割の解明と治療法の開発

研究課題名 (英文) Elucidation of the role of endoplasmic reticulum stress in sepsis for therapeutic development

研究代表者

鈴木 崇生 (SUZUKI TAKAO)

京都大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：40328810

研究成果の概要 (和文)：ストレスにより細胞の恒常性が失われると、小胞体内腔に構造異常タンパク質が蓄積する。この状態を小胞体ストレスという。膵臓や副腎では、小胞体ストレスを処理するための関連蛋白質の発現が部位によって異なり、敗血症によって、発現の弱い部位で明らかな発現増加が認められた。生体では、敗血症が引き起こす小胞体ストレスに対し、関連蛋白質の発現が弱い部位で特に強く発現を促す事によって対応している可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：When stress disturbs cell homeostasis, unfolded proteins accumulated in endoplasmic reticulum. This state is called endoplasmic reticulum stress. It is observed that the expression of endoplasmic reticulum stress-related proteins, which are necessary to manage endoplasmic reticulum stress, is different in each part of pancreas or adrenal gland. Expression of those proteins increases in sepsis especially in the part where expression is normally weak. These results suggest that endoplasmic reticulum stress induced with sepsis is managed with induction of expression of endoplasmic reticulum stress-related proteins in weakly expressed part.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：集中治療医学、敗血症、小胞体ストレス

1. 研究開始当初の背景

近年、小胞体ストレスが代謝異常や炎症の発生に関わっていることが示唆されており、特に動脈硬化や代謝疾患などの慢性病態に対する研究が盛んに行われている。しかし、敗血症やSIRSといった急性炎症に対する小胞体ストレスの関与については、詳細は殆ど解明されていない。だが、小胞体ストレスが、

アポトーシスを引き起こしたり、NFκB や JNK を活性化させることによって炎症反応を惹起するといった報告もあり、敗血症の病態に深く関与している可能性は高いと考えられる。

2. 研究の目的

敗血症における小胞体ストレスとこれを回避するための防御システムである **unfolded protein response** の関与を明らかにし、新たな治療ターゲットを探求する

3. 研究の方法

(1) 敗血症ショックモデル (CLP : cecal ligation and puncture model) の作成

雄性 Balb-C マウス (8-12 週、体重 25-35g) を用いる。セボフルラン麻酔下で左臍下に約 2mm の切開を行い、盲腸を膨出した後、盲腸の先端に糞便を充満させ、先端約 5mm を結紮し、23G 針で 2 箇所穿孔を加える。

対照群、および敗血症 24 時間群を研究対象とする。

(2) 小胞体ストレスセンサーおよび小胞体内シャペロン発現の解析

敗血症 24 時間後に、膵臓および副腎をセボフルラン麻酔下で摘出し、これらの臓器における小胞体ストレスセンサー **PERK**、**IRE1 α** 、**ATF6** と **CHOP** さらには小胞体内シャペロン **BiP** を免疫組織染色で検出する。

蛍光抗体法による二重免疫組織染色を用いて、発現している細胞の性質を検討する。

これらの小胞体ストレス関連タンパク質は、ウエスタンブロット法により、タンパク発現レベルを合わせて評価する。

(3) 小胞体ストレスセンサー活性の解析

PERK の活性化の指標であるリン酸化を免疫組織染色およびウエスタンブロット法にて評価する。

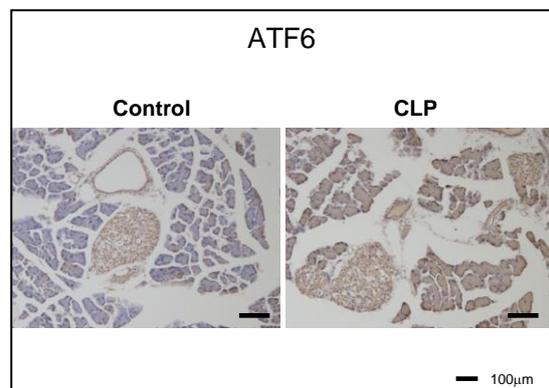
4. 研究成果

(1) 膵臓

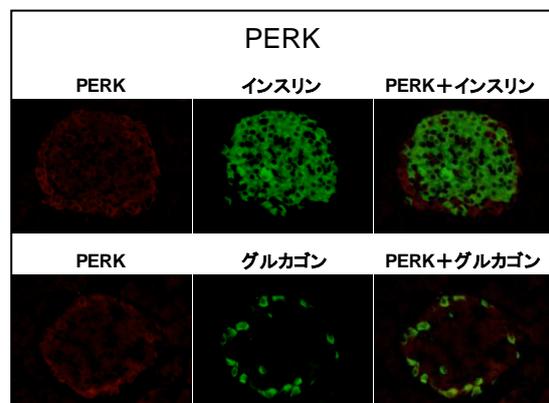
対照群において、**IRE1 α** 、**PERK**、**ATF6**、**BiP**、**CHOP** はいずれも膵外分泌部と比べ膵内分泌部に強く発現していた。

敗血症によって膵外分泌部における **ATF6**、**BiP**、**CHOP** の発現が著明に増加した。

形態的にも膵内分泌部と比べ膵外分泌部において、敗血症による著明な変化が認められた。



さらに二重染色にて **PERK** がグルカゴン分泌細胞に特に強く発現していることが観察された。



以上の結果より

膵内分泌部と比べ膵外分泌部において、敗血症による小胞体ストレス関連蛋白質の発現増加や形態変化が著しいことが明らかとなった。

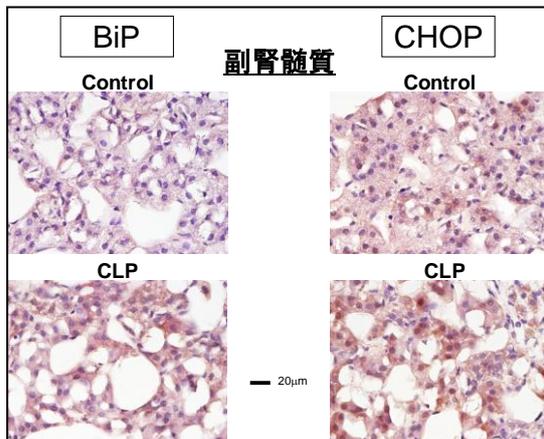
このため膵臓では、外分泌部が特に敗血症の影響を受けやすく、その病態に小胞体ストレスが関与している可能性が示唆された。

一方、生命維持に重要である膵内分泌部では、正常状態でも小胞体ストレスに対する処理能力が高く、敗血症に対する抵抗性が備わっている可能性がある。

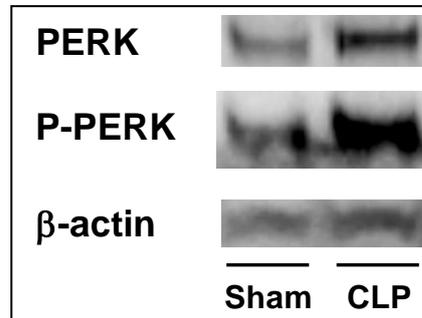
(2) 副腎

対照群において、IRE1a、PERK、ATF6、BiP、CHOP はいずれも副腎髄質よりも副腎皮質において強く発現していた。

副腎髄質では、敗血症によってこれらの小胞体ストレス関連蛋白質の発現が強く誘導された。



副腎全体での PERK のタンパク質発現や、その活性化を示すリン酸化は、いずれも敗血症によって増加した。



以上の結果より

副腎髄質において、小胞体ストレスが敗血症病態に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

一方、副腎皮質では小胞体ストレス関連蛋白質が恒常的に強く発現しており、副腎髄質と比べ正常時より高い小胞体ストレス処理能力を有していると考えられた。

敗血症における小胞体ストレスに対する反応は、センサー蛋白質の活性化が起こるだけでなく、センサータンパク質そのものの発現も増加することが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 5 件)

- ① 鈴木崇生 敗血症病態における膵臓の小胞体ストレスの基礎研究 第37回日本救急医学会総会 2009年10月29日 盛岡
- ② 鈴木崇生 Implication of endoplasmic reticulum stress in pancreas in the pathophysiology of sepsis. Society of Critical Care Medicine 39th Critical Care Congress 2010年1月11日 Miami Beach, Florida, USA
- ③ 鈴木崇生 敗血症病態における小胞体ストレス関連蛋白質の副腎での発現 第25回日本 Shock 学会総会 2010年5月29日 東京
- ④ 鈴木崇生 Expression of endoplasmic reticulum stress-related proteins increase in adrenal glands in sepsis. Shock Society 33rd Annual Conference on Shock 2010年6月15日 Portland, Oregon, USA
- ⑤ 鈴木崇生 敗血症における副腎小胞体ストレスの検討 第38回日本救急医学会総会 2009年10月9日 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 崇生 (SUZUKI TAKAO)
京都大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号：40328810