

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15664

研究課題名(和文) 全身性炎症反応に対する新たな臓器障害戦略：新規若返り因子GDF11の有効性

研究課題名(英文) A novel strategy for organ dysfunctions following systemic inflammatory response syndrome: the effect of new rejuvenation factor GDF11

研究代表者

小倉 裕司 (OGURA, HIROSHI)

大阪大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：70301265

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：全身性炎症反応は、敗血症などの過大侵襲により引き起こされ、しばしば制御困難となる。GDF (growth differentiation factor) 11は、新規若返り因子としてミトコンドリア機能や再生能を保つ。本研究の目的は、全身性炎症反応に対する新たな制御法として、GDF11投与の有効性を評価することである。盲腸結紮穿孔によるマウス敗血症モデルに対して、GDF11 (1mg/kg) を腹腔内に単回投与、連日7日間投与、もしくは経静脈的に単回投与した。GDF11非投与群と投与群の生存率を比較した。その結果、GDF11投与による生存率の有意な改善は得られず、有効性を示すことはできなかった。

研究成果の概要(英文)：Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) following major insults such as sepsis often leads to multiple organ dysfunction syndrome. GDF (growth differentiation factor) 11, discovered as a new rejuvenation factor in 2014, has the effect to protect mitochondrial functions and regenerative ability. The objective of our study was to evaluate the effects of GDF11 to regulate SIRS following sepsis. In a mouse model of sepsis after cecal ligation and puncture (CLP), we administered GDF11 in three different methods: (1) single intraabdominal injection of GDF11 (1mg/kg), (2) daily intraabdominal injection of GDF11 for 7 days and (3) single intravenous injection of GDF11. The survival rate for 7 days following CLP was compared between each treatment group and control group. In the results, the 7-day survival rate in the GDF11 treatment group was not significantly higher than that in the control group. These results suggest that GDF11 may not be an effective therapeutic strategy for sepsis.

研究分野：救急医学、集中治療医学、外科学、外傷学、侵襲学

キーワード：全身性炎症反応 臓器障害 若返り因子 GDF11

1. 研究開始当初の背景

全身性炎症反応は、敗血症、熱傷、外傷など過大侵襲により起こり、しばしば制御困難となる。しかしながら、治療は対症療法に止まり、重症例に対する積極的なアプローチ法は皆無に等しい。したがって、全身性炎症反応を効果的に制御して臓器障害の進行を防ぐことが急務と考えられる。

2014年、老齢マウスの再生能力が若年マウスの血液により回復することが明らかとなった(Sinhaら, Science)。このことは、若いマウスの血液中に“若返り因子”が含まれることを示唆する。中でも、GDF (growth differentiation factor) 11は、初めて証明された新規若返り因子としてミトコンドリア機能や再生能を保ち、老齢マウスの身体機能や脳機能を有意に改善した。

近年、老化は“慢性炎症”(inflammaging)と考えられており、全身性炎症反応の進行過程では、ミトコンドリア機能障害、幹細胞機能不全、血管内皮細胞傷害、各種代謝異常など老化に特徴的な所見が急速に顕在化する。我々は、全身性炎症反応の進行過程を“急性老化”として捉え、その効果的な制御法として、新規若返り因子 GDF11 の補充療法に思い至った。特に、全身性炎症反応に伴うミトコンドリア機能障害、幹細胞機能不全を改善し、再生・修復応答を保つことで、多臓器障害を劇的に改善する可能性があると考え、本研究を計画した。

今日まで全身性炎症反応に対する新規若返り因子 GDF11 投与の効果の評価した報告は皆無であり、有効性が本研究で明らかとなれば、全身性炎症反応に対する画期的なアプローチ法として新たな臨床応用の道が開ける。全身性炎症反応に対する有効な若返り因子補充療法が開発できれば、将来的には重症患者、家族の病苦を劇的に軽減し、医療経済上も社会に大きく貢献する。

未だ有効なアプローチ法が存在しない全身性炎症反応に対する新たな治療戦略として、新規若返り因子 GDF11 補充療法の有効性を複数(投与回数、投与経路)の投与法により比較検討した国内外の報告はなく、本研究が初めてである。また、敗血症、熱傷、熱中症以外の重症救急病態においても、若返り因子 GDF11 補充療法が応用できる可能性が広がり、臨床的意義は大きい。

2. 研究の目的

本研究の目的は、全身性炎症反応に対する新たな制御法として、新規若返り因子 GDF11 (growth differentiation factor 11) 投与の有効性を評価することである。

全身性炎症反応に対する GDF11 投与の効果を明らかにするために、研究の焦点を以下の2点に絞り実施する。

(1) 全身性炎症反応における炎症・再生応答を明らかにするため、敗血症患者における血中 GDF11 値の推移と他の血中因子との関連性を評価する。

(2) 全身性炎症反応(敗血症)モデルにおいて、発症急性期に GDF11 の投与を行い、複数の投与方法による有効性を比較検討し、臓器障害・生存率の改善が得られるか評価する。

3. 研究の方法

(1) 全身性炎症反応に対する GDF11 投与の効果を明らかにするために、まず敗血症患者における血中 GDF11 値の推移と予後、他の炎症マーカーとの関連性を検討した。

対象患者は大阪大学医学部附属病院高度救命救急センターにおいて診療を行った18歳以上の敗血症の診断基準を満たした成人とした。敗血症診断日(1日目)と2、4、6、8、15日目に採血を行なった。敗血症患者に対する比較対照として健常人からも採血検査をおこなった。

敗血症の定義は、2016年に米国集中治療医学会・ヨーロッパ集中治療医学会合同で公表された sepsis-3 のクライテリアを用い、臓器障害を伴う感染症患者とした。

敗血症患者の血清検体を用いて次の項目を経日的に評価した。血中 GDF11 値を ELISA 法(Cusabio Biotech, USA)で測定した。DAMPs として、HMGB-1 とヒストン H3 値を ELISA 法(Shino-test, Kanagawa, Japan)にて評価した。炎症性サイトカインとして IFN- γ 、IFN- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-12/IL-23p40、IL-17A、MCP-1、TNF- α 値を、抗炎症性サイトカインとして IL-4、IL-10 値をフローサイトメトリー法にて評価した。重症度は APACHE II スコア(敗血症診断日)、SOFA スコア(採血日)で評価した。予後は28日生存期間にて評価した。

(2) 敗血症モデルにおける GDF11 投与の有効性を評価するため、発症急性期に GDF11 の投与を行い、異なる 3 種類の投与方法により臓器障害・生存率の改善が得られるかを比較検討した。

マウス敗血症モデルの作成は、14 週齢のマウスを使用し、盲腸結紮穿刺 (21 ゲージ針) により行った。敗血症マウスに対して新規若返因子 GDF11 投与を以下の 3 つの方法で施行した。

盲腸結紮穿刺モデルに対して盲腸結紮穿刺直後に GDF11 (1mg/kg) を腹腔内に単回投与した。

盲腸結紮穿刺モデルに対して GDF11 (1mg/kg) 投与を盲腸結紮穿刺直後から腹腔内に連日 7 日間投与した。

盲腸結紮穿刺モデルに対して盲腸結紮穿刺直後に GDF11 (1mg/kg) を尾静脈から経静脈的に単回投与した。

から のいずれの投与方法においても、GDF11 非投与群と投与群を比較検討し、両群の間に生存率の差があるかどうか生存曲線を用いて評価した。

4. 研究成果

(1) 研究対象は敗血症患者 15 名、年齢中央値は 71 歳であった。そのうち生存 10 名、死亡 5 名で、APACHE II、SOFA スコアの中央値は各 21 点と 9 点であった。敗血症患者の GDF11 値 (中央値 34.23pg/mL) は健常人 (中央値 94.84ng/mL) と比較して有意差を認めなかった。予後を目的変数とした Cox 比例ハザード回帰分析、ロジスティック回帰分析 (AUC 値 = 0.51) では、敗血症診断日の血中 GDF11 値はいずれも有意な説明因子とはならなかった。一方、敗血症患者の急性期 (1 日 ~ 4 日目) において、密接なサイトカインネットワーク (IL-6、IL-8、IL-10、MCP-1) を認め、このサイトカインネットワークは、重症度 (SOFA、DIC) と予後 (28 日死亡) に関連し、敗血症の病勢を司る可能性を示した。1、2 日目における血中 GDF11 値は、HMGB-1 値と有意な相関を認めた。血中 GDF11 値は、HMGB-1 値以外の DMAPs やサイトカインと、各日とも相関は認めなかった。

敗血症患者における血中 GDF11 値が 1 日目と 2 日目の HMGB-1 値と有意な関連が認めた

ことより、敗血症における損傷細胞から血中へ湧出した HMGB-1 と、血中 GDF11 蛋白産生シグナル系との関連が示唆された。しかしながら、血中 GDF11 値は敗血症患者と健常人において明らかな差異はなく、敗血症患者における血中 GDF11 値は HMGB-1 以外の炎症性メディエーター、重症度、予後との関連が認められなかった。本研究では、敗血症における全身性炎症反応に対する血中 GDF11 蛋白の関連を示すことはできなかった。

(2) 敗血症モデルにおける GDF11 投与の有効性を評価するため、発症急性期に GDF11 の投与を行い、非投与群と生存率を比較・評価した結果を示す。

最初に、盲腸結紮穿刺モデルに対して、盲腸結紮穿刺直後に GDF11 (1mg/kg) を腹腔内に単回投与の効果を確認した結果、GDF 投与群の死亡率は 4/12、非投与群の死亡率は 2/12 であり、生存率の有意な改善は得られなかった。

次に、GDF11 の複数回投与を考慮し、盲腸結紮穿刺モデルに対して GDF11 (1mg/kg) 投与を盲腸結紮穿刺直後から腹腔内に連日 7 日間投与した結果、GDF11 投与群の死亡率は 9/18、非投与群の死亡率は 5/18 であり、生存率の有意な改善は得られなかった。

さらに、GDF11 の静脈内投与を考慮し、盲腸結紮穿刺直後に GDF11 (1mg/kg) を尾静脈内に単回投与して非投与群と比較検討した結果、GDF11 投与群の死亡率は 3/6、非投与群の死亡率は 4/7 であり、生存率の有意な改善は得られなかった。

以上より、盲腸結紮穿刺モデルにおける生存率に対する GDF11 投与の有効性を示すことはできなかった。今後、より長期間にわたる GDF11 投与や盲腸結紮穿刺前の GDF11 投与の有効性などを評価する余地はあるが、臨床患者の実際の治療と乖離するため、実現性は乏しいと考えられる。

本研究において、当初予想された有効性が証明できなかった理由は明らかでないが、GDF11 を含む多数のメディエーターが全身性炎症には複雑にかかわっており、一因子の補充だけでは十分な効果が発揮されない可能性も考えられた。

(1)(2)の研究成果から、全身性炎症反応に対する新規若返り因子 GDF11 の抗炎症効果および転帰改善効果を明らかにすることはできなかった。

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)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

小倉 裕司(OGURA, Hiroshi)

大阪大学・医学系研究科・准教授

研究者番号: 70301265

(2)研究分担者

吉矢 和久(YOSHIYA, Kazuhisa)

大阪大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 40379201

嶋津 岳士(SHIMAZU, Takeshi)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号: 50196474

清水 健太郎(SHIMIZU, Kentaro)

大阪大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 60379203