

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09544

研究課題名(和文)セロトニントランスポーター/セロトニン拮抗による急性肺障害の防御機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of protective mechanism of acute lung injury via serotonin transporter/serotonin blockade

研究代表者

田中 健之 (TANAKA, Takeshi)

長崎大学・病院(医学系)・講師

研究者番号：30432967

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：細胞実験にてセロトニンによる細胞透過性亢進を証明した。敗血症性ショック患者血漿のセロトニン代謝産物(5HIAA)を測定し、敗血症性ショック患者群で健康人に比較して有意に上昇し、敗血症性ショックの重症度スコアとの有意な相関を確認した。ARDSの臨床検体(ヒト血漿)でも同様の解析を行い、敗血症性ショックを合併しているARDS群が敗血症性ショック非合併のARDS群よりも有意に血漿中5HIAA値が高いことが証明された。セロトニンの代謝が敗血症性ショックの血管透過性亢進の病態に重要な役割を果たしていることが示唆され、その機序にRhoキナーゼも関与していることが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ARDSや敗血症性ショックの病態主因である血管透過性亢進を制御する治療法の開発が難しい中で、その機序へ直接作用し得るセロトニン拮抗とROCK活性へのアプローチで知見を解析した研究であり、将来の治療薬開発につながるアプローチと考えられる。

研究成果の概要(英文)：5-HIAA levels were significantly higher in septic shock patients than in patients without shock or healthy controls. These elevated levels were correlated with severity indexes (SOFA, APACHE-II, and PaO₂:FiO₂), and longitudinally associated with worse clinical outcomes (mechanical ventilation duration and ICU duration). In vitro experiment, serotonin increased the permeability of endothelial cells (ECs); its increase was inhibited by ROCK inhibitor. And also elevated levels of 5HIAA were seen in ARDS with septic shock patients (higher level than in ARDS without septic shock patients).

These suggest a novel mechanism that serotonin would disrupt endothelium barriers via RhoA/ROCK signal and cause the pathogenesis of ARDS and septic shock with a vascular leak. Serotonin could be a novel vascular permeability biomarker.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：セロトニン 血管透過性亢進 敗血症性ショック ARDS ROCK

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血管透過性亢進を病変の主座とする敗血症性ショックや急性呼吸窮迫症候群 (ARDS: acute respiratory distress syndrome) の治療予後は不良なケースが多く、基礎疾患の治療ターゲット以外に根本的な治療法は確立しておらず、集中治療を要し、医療経済的な負担も大きく、根本的な治療法開発は喫緊の課題である。筆者らは、セロトニン (5HT: 5-hydroxytryptamine) のマクロファージ貪食機能への影響をマクロファージ内の Rho kinase (ROCK: Rho-associated coiled-coil-containing protein kinase) と関連していることに着目して近年報告したが (Tanaka et al. JBC. 2014) 今回は 5HT が血管内皮細胞の血管透過性亢進に Rho kinase を介して作用することを *in vitro* で検証し、臨床検体での 5HT の動態解析を行った。

2. 研究の目的

セロトニンの血管内皮細胞における細胞透過性亢進の関与を解析し、その機序に ROCK 活性やセロトニントランスポーターが関与していることを証明する。敗血症性ショックや ARDS 患者の血漿中のセロトニン代謝産物 (5HIAA) を測定し、重症化との関連性を評価する。この仮説を証明することにより、セロトニン拮抗が急性肺障害、敗血症性ショックの病態のキー分子であることを証明し、治療薬開発につながる可能性を探索する。

3. 研究の方法

(1) ヒト肺微小血管内皮細胞株を用いて、インサートプレートで培養して、5HT 刺激下でのアルブミンの細胞膜透過の程度を検証した。RhoA-ROCK 依存性 (ROCK 阻害剤での共培養)、SERT 依存性 (セロトニントランスポーターでの共培養) の検討も行った。

(2) 2016 年 9 月から長崎大学病院感染症内科、集中治療部、救急救命センター病棟入院症例で同意取得可能な敗血症患者の病初期と健常人の血漿を採取して、セロトニンの代謝産物 (5HIAA: 5-hydroxyindole acetic acid) の測定を施行した。カルテ情報から重症度スコアを抽出し (SOFA スコア, APACHE-II, P/F 比、人工呼吸器使用日数、ICU 滞在日数など) 5HIAA 値との相関を検証した。ARDS の臨床検体 (診断時のヒト血漿) は、米国 NHLBI: National Heart, Lung and Blood Institute よりすでに米国で臨床研究が終了した研究の残検体 (ヒト血漿) 供与の承認が下りた為、現在 ARDS (敗血症性ショック合併なし) 50 検体、ARDS (敗血症性ショック合併) 50 検体を 5-HIAA 測定目的で長崎大学病院へ搬送し解析を行った。

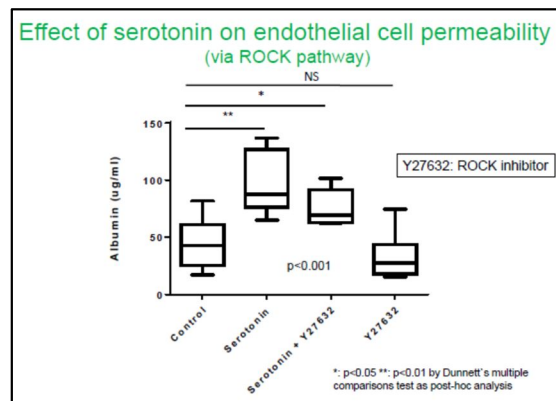
SOFA: Sequential Organ Failure Assessment

APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation

4. 研究成果

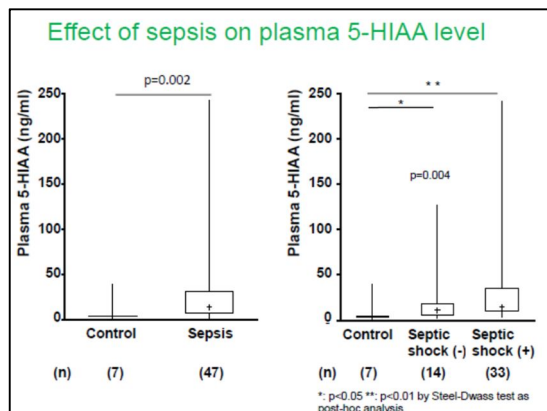
(1) 結果 (細胞実験):

5HT 刺激 (用量依存性) でアルブミンの内皮細胞間の移行の促進が確認でき、5HT により細胞膜破綻が生じ、細胞膜の透過性が亢進していることが確認できた。5HT と ROCK 阻害剤の共培養ではその細胞膜透過性亢進の効果が減弱された。

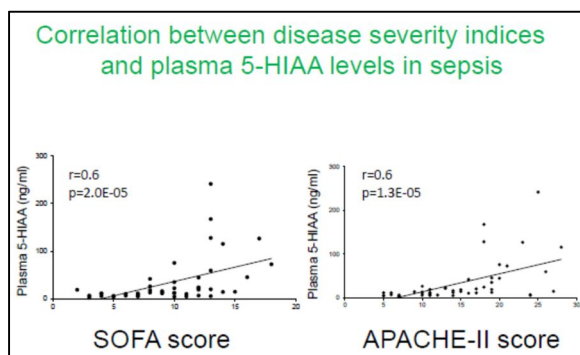


(2) 結果 (臨床検体解析):

健常人血漿中 5HIAA と敗血症患者血漿中 5HIAA の濃度を測定し比較したところ敗血症患者血漿中 5HIAA は健常人に比べて有意に高かった。敗血症でもショックを合併している敗血症性ショック群が敗血症 (ショック非合併) 群よりも血漿中 5HIAA 値は有意に高い結果であった。

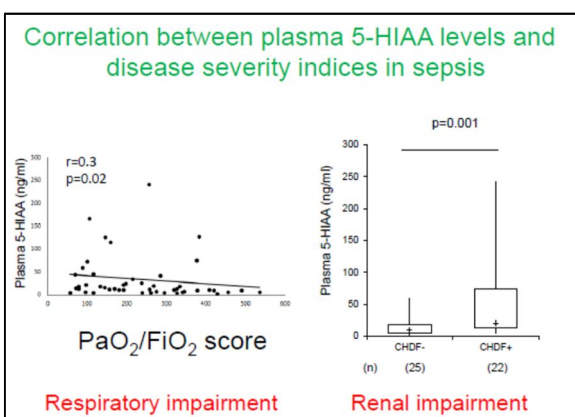


敗血症性ショックの重症度スコア(SOFAスコア、APACHE IIスコア)が敗血症患者血漿中5HIAA値との正の相関を示した。Spearman's correlation testを用いて解析を行った。

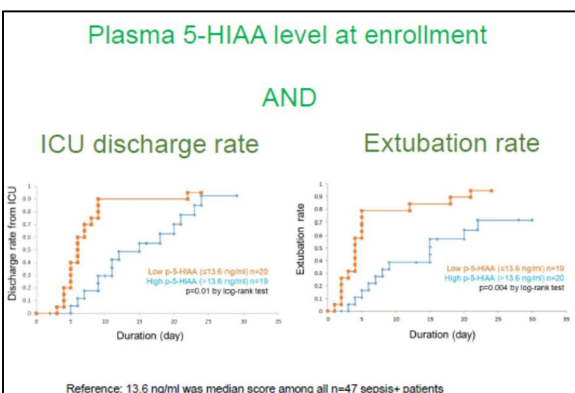


呼吸不全の指標スコア(PaO₂/FiO₂比)と敗血症患者血漿中5HIAA値との相関を示した。Spearman's correlation testを用いて解析を行った。

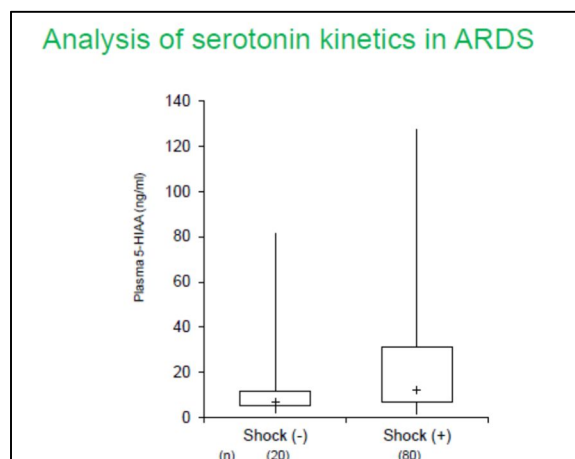
腎不全との関連で、CHDF(Continuous hemodiafiltration)の使用群においては未使用群に比べて敗血症患者血漿中5HIAA値が有意に高かった。Mann-Whitney U testを用いて解析を行った。



ICU入室期間、人工呼吸器装着期間ともに敗血症患者血漿中5HIAA値との有意な相関を示した。血漿5HIAA低値群の方がICU退室率が高かった。血漿5HIAA低値群の方が人工呼吸器離脱率が高かった。



ARDSヒト臨床検体においてもARDSに敗血症性ショック合併をしている群がARDS(ショック非合併例)より有意に血漿中5HIAA値が上昇していた。



(3) 考察 :

細胞実験にてセロトニンによる細胞膜透過性の亢進が確認された。ARDSおよび敗血症患者急性期の血漿5HIAAの上昇が示され、ショックを合併している状態でよりその値が高い傾向にあることで、炎症急性期におけるセロトニンの体内動態がその病態に寄与している可能性が示唆された。また、急性期の血漿5HIAAの上昇が敗血症性ショックの重症度スコアであるSOFAスコア、

APACHE-II スコアなどと相関していることから、ARDS、敗血症性ショックの重症度の予測因子および早期の病態改善の予後予測因子としてもセロトニンが重要であることが考えられた。また、細胞実験の結果も合わせると ARDS、敗血症性ショックの病態制御にセロトニンと ROCK 活性の制御が重要な治療ターゲットとなり得ることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 田中 健之
2. 発表標題 Serotonin and vascular permeability (Serotonin beyond the brain) --- Analysis of Serotonin in Sepsis and ARDS
3. 学会等名 23rd Congress of Asian Pacific Society of Respirology (APSR 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中 健之
2. 発表標題 セロトニンと血管透過性亢進 (Serotonin beyond the brain) 敗血症、ARDSでの解析 (中間解析)
3. 学会等名 第53回肺サーファクタント関連医学会
4. 発表年 2017年

〔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
研究分担者	森本 浩之輔 (MORIMOTO Konosuke) (50346970)	長崎大学・熱帯医学研究所・准教授 (17301)	
連携研究者	菰原 義弘 (KOMOHARA Yoshihiro) (40449921)	熊本大学・その他の研究科・准教授 (17401)	