

令和元年6月21日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11394

研究課題名(和文) Exploration of mechanisms underlying organ protective role of blockade of protease activated receptor 2 in sepsis through the modulation of VEGF angiogenic system and associated microcirculation

研究課題名(英文) Exploration of mechanisms underlying organ protective role of blockade of protease activated receptor 2 in sepsis through the modulation of VEGF angiogenic system and associated microcirculation

研究代表者

Jesmin Subrina (Jesmin, Subrina)

筑波大学・体育系・研究員

研究者番号：60374261

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：我々の研究の結果では、たった3時間のPAR2拮抗剤による治療でVEGFシステムを介して急性敗血症モデルの多臓器不全の進行を抑制し、改善効果をもたらした。このPAR2は早期敗血症において血管新生系のVEGF、エンドセリン(ET)そして炎症系(TNF)のカスケードと近い関係性を持っており、多臓器不全の進行と発生に関わる。心筋細胞と肺のマクロファージを用いたin vitroの研究においても、PAR2拮抗薬とVEGF阻害薬を使用することでVEGFとPAR2の関係性を確認できた。これらの一連の研究から敗血症早期におけるPAR2の阻害はVEGFシグナルを通して心機能障害、肺障害の治療と予防に効果的がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究は敗血症の治療と予防のために行った研究である。敗血症及び重症敗血症(感染に起因する二次的な急性臓器不全)また敗血症ショック(輸液負荷によって回復しない低血圧を伴う重症敗血症)は、毎年世界中で2700万人が罹患し、その4人に1人以上が死亡すると報告されている。この研究の結果は、敗血症及び敗血症によって起こる臓器障害の改善につながると考えられ、死亡率の現象及び後遺症の改善、医療コストの削減に繋がるなど非常に社会的に意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In our experiment, it seems that three hours treatment of PAR2 blockade is effective in acute sepsis for the improvement and arrest of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) in sepsis through modulation of VEGF system. Indeed, in our research over last decade we found that PAR2 is a critical player and trigger for MODS in sepsis, in some cases equally important as of TNF-alpha. This PAR2 is closely associated with angiogenic system (VEGF), endothelin (ET) and inflammatory (TNF) cascade from the early hours of sepsis in connection to MODS development and progression. From in vitro studies, using cardiomyocytes and lung macrophages, we also confirmed the relation between VEGF and PAR2 in LPS administered cells using PAR2 blocker and using VEGF antagonist. From our series of experiments, now we can conclude that PAR2 inhibition from early hours of sepsis might be effective in the treatment and prevention of lung injury and myocardial dysfunction through amelioration of VEGF signaling.

研究分野：血管生物学、公衆衛生学

キーワード：Sepsis MODS PAR2 blockade VEGF mechanism

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

VEGF は病理学的に血管における血管新生、動脈形成、アテローム発生などの様々な要素をもつ主要なサイトカインの一つである。過去 10 年間で、我々のグループは臓器特異性の VEGF の発現異常と、この現象が敗血症の微小循環における多臓器不全の核となるメカニズムであることを明らかにした。VEGF の過小 (肺、心臓、脳) または過剰 (肝臓、腎臓) はシグナルカスケードの始点となり、標的臓器における構造的、機能的な変化をもたらす。よって、VEGF は臓器特異的な発現と敗血症における多臓器不全の病理学的な役割を持つ。しかしながら、VEGF が種々の合併症 (糖尿病、心疾患及び各臓器の合併症) においても因子でありながらも、発症メカニズムにおける一部となっていることは多く知られていない。そして発現と機能を正常化するための方法は未だ存在していない現状がある。そこで、我々のグループは早期敗血症の多臓器不全に対する、系統的に細胞、組織、臓器の正常化できる治療方策の確立を目指している。

2. 研究の目的

エンドトキシ血症及び敗血症に対する革新的な治療、及び診断は未だ確立していない。多くの血管新生物質を我々は研究し、近年の研究において、我々は VEGF とそのシグナルのカスケードが動物モデルと人間どちらにおいても敗血症における多臓器不全の進行に臓器特異的に重要な役割を担っていることを明らかにした。そして PAR2 の阻害が VEGF システムを介した敗血症の微小循環不全に伴う臓器障害を予防することを明らかにした。このプロジェクトにおいては実験 1: 敗血症において PAR2 阻害をすることによる VEGF と微小循環を正常化することによる臓器保護作用の要因、物質、メカニズムを探索すること、実験 2: 炎症凝固、血管新生における遺伝子の発現パターンの特性である遺伝子サインを確立することを目的として実験を行った。

3. 研究の方法

研究 1: 8 週齢の雄ウイスターラットに生理食塩水または敗血症の原因物質であるリポ多糖 (LPS) を異なる時間帯 (1,3,6,10 時間) で投与を行った。そして、我々は LPS を投与したラットに PAR2 阻害薬 (PAR2BP) を 3 時間持続投与し、敗血症により傷害された臓器内でのこの薬剤の VEGF 及び ET-1 システムへの影響を観察した。

研究 2: 8 週齢の雄ウイスターラットを 生食 (シャム: n=17), LPS (大腸菌 0111:B4; n=15) の 0.5mg/kg/h 持続投与群、 PAR2 阻害薬 (PAR2BP) +LPS (LPS at 0.5 mg/kg/h; PAR2BP at 20 µg/kg/h, 100µl PBS/hour); n = 16) の植込み型投与装置による 48 時間投与群の 3 群間に分けた。今回の投与量の LPS 投与は肺障害と 72h で 10% 以下の致死率を引き起こし、パイロットスタディーの結果より PAR2BP の薬剤選択を行った。

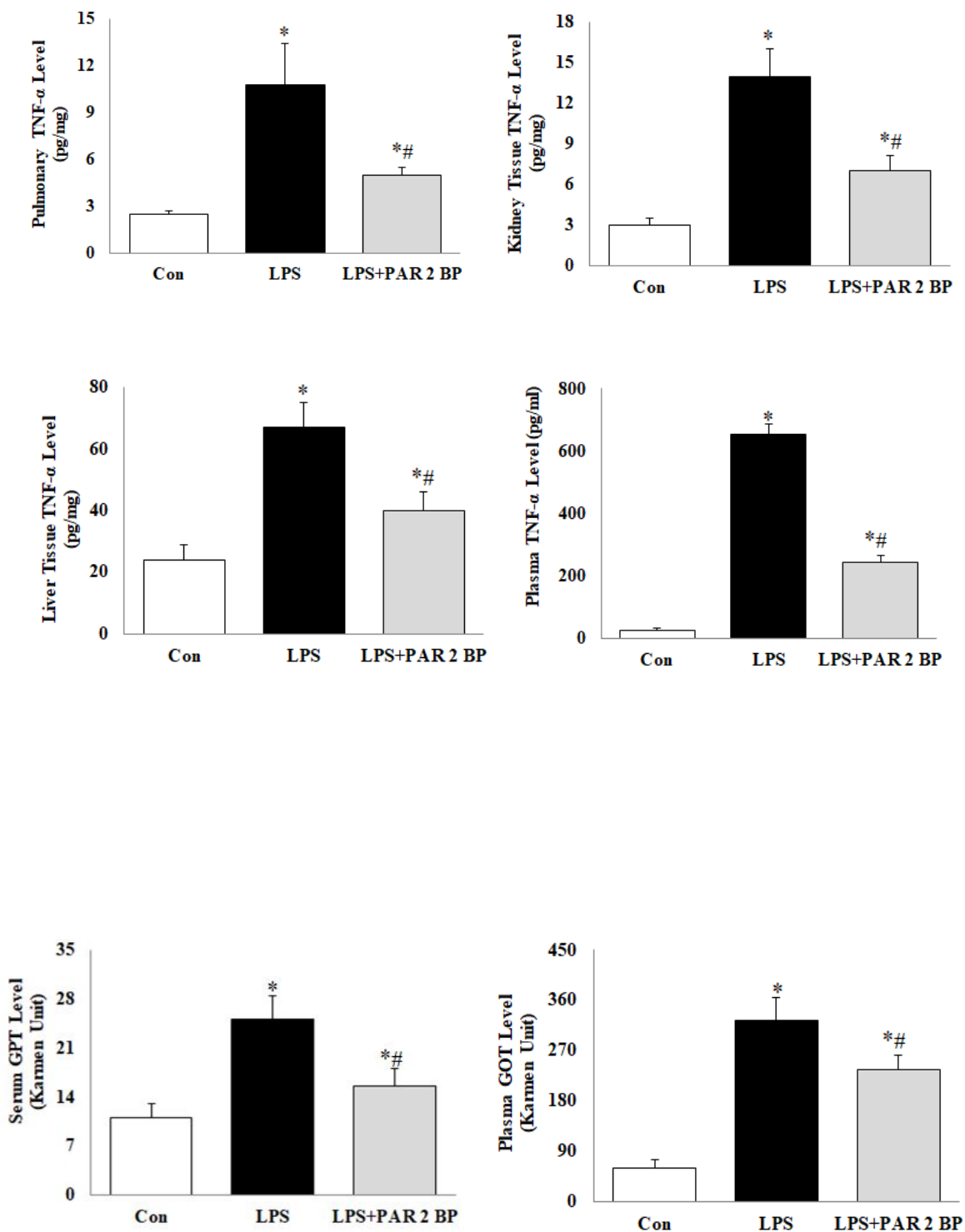
4. 研究の成果

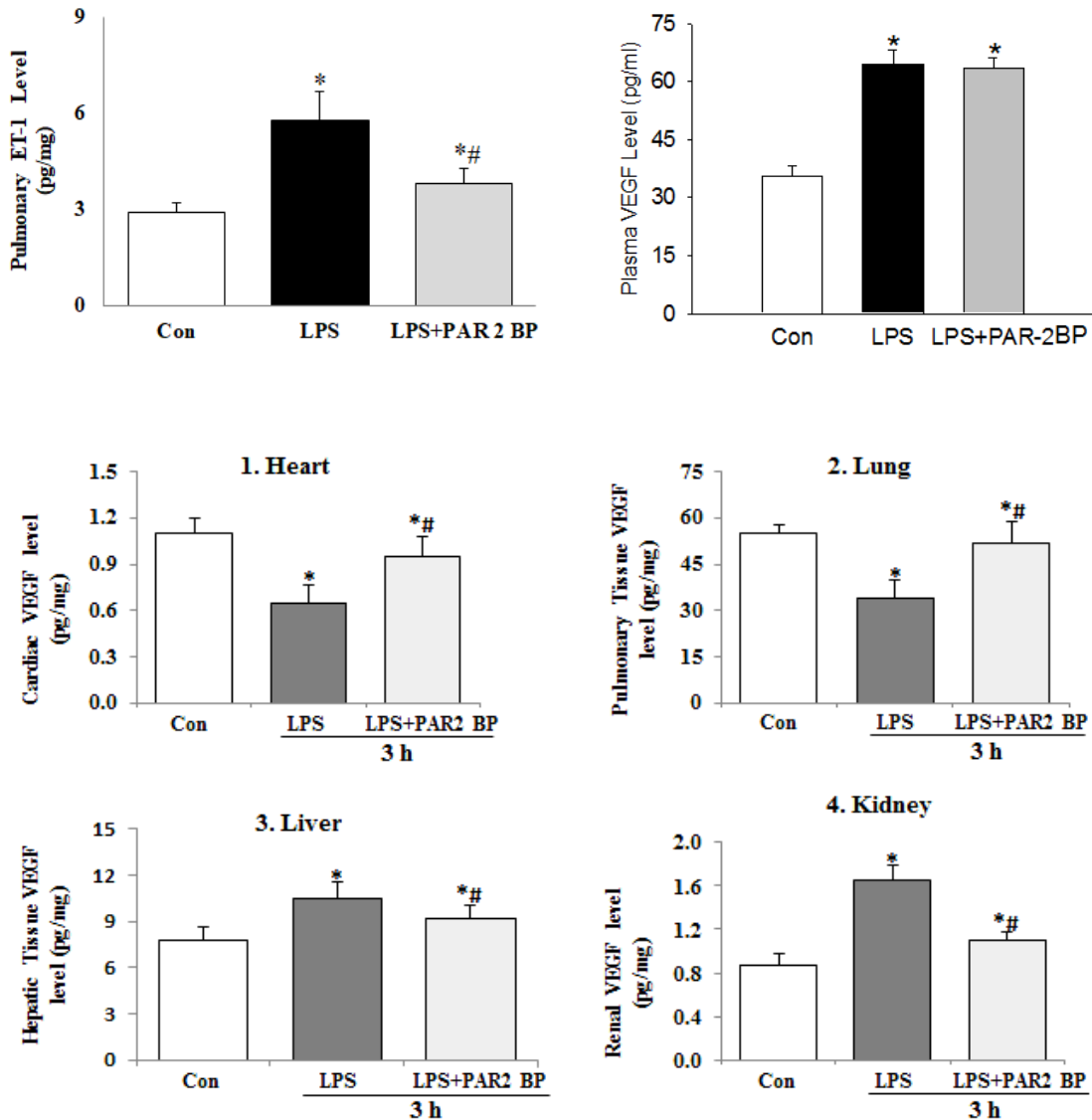
実験 1: 様々なタイムコースを解析し LPS 投与後 3 時間で PAR2 阻害薬は TNF- α や IL-6 といった重要な炎症サイトカイン群を有意に正常化した。PAR2 阻害薬は LPS によって引き起こされた 3 時間の早期敗血症に関連した臓器障害 (肝臓、肺、腎臓、心臓) を正常化させる効果があった。また、PAR2 阻害薬は血中のみでなく、LPS 導入後の臓器中の TNF- α に関

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

しても正常化する効果があった。実際、臓器における VEGF についても PAR2BP の 3 時間投与によって正常化していた。そして、我々は PAR2BP の LPS 導入敗血症ラットにおける VEGF と ET-1 に対する効果を検討し、PAR2 阻害薬は VEGF と ET-1 の敗血症時の重要臓器の VEGF と ET-1 を正常化することが明らかになった。

実験 2 : 肺障害スコアにおいて PAR 2 BP 投与群は敗血症群と比較して 48 時間において有意に障害を予防していた。LPS は持続投与されているため肺障害は敗血症モデルにおいて進行していくが、PAR 2 BP 投与群はこの炎症と、多形核進行、好中球浸潤、うっ血、肺胞浮腫を有意に抑制した。48 時間の PAR 2 BP 投与は肺組織内の炎症性サイトカイン TNF- α の上昇を有意に防いだと共に、VEGF の肺組織内での低下も有意に正常化した。そして肺組織内の ET-1 についても同様に正常化した。





Values are mean \pm SE. * $p < 0.05$ vs. Con, # $p < 0.05$ vs. LPS.

社会的影響：敗血症は多くの合併症と高い死亡率を引き起こし、毛細血管漏出や、血管内皮障害を引き起こす。しかしながら、これらのメカニズムは未だ明らかではない。VEGFは血管浸透性の増殖因子であり、これらの治療につながると考えられる。敗血症と敗血症性ショックは多くの死亡と後遺症を世界的に引き起こしており、多くの医療費と生活の質の低下を引き起こしている。2017年にWHA/WHOは敗血症に対するキャンペーンを行っており、臨床においても科学においても敗血症はとても注目されている領域である。WHA/WHOは敗血症はもはや公衆衛生的な問題であるというパラダイムシフトを行うべきだと提唱しており、公衆衛生的な目線と基礎医学からの視点の双方が求められている。公衆衛生的な側面からグローバルヘルスポリシーとして敗血症を取り入れ、感染制御の第一歩を踏み出したように、新たなパラダイムシフトに向かって基礎領域研究を行っていく必要がある。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5件)

1. **Jesmin, S.**; Rahman, A.; Habib, AKMA.: Sepsis complications and VEGF. *Journal of Shaheed Ziaur Rahman Medical College*, in press, 2019 査読有
2. Matsuishi, Y.; Hoshino, H.; Shimojo, N.; Enomoto, Y.; Kido, T.; **Jesmin, S.**; Sumitani, M.; Inoue, Y.: Development of the Japanese version of the Preschool Confusion Assessment Method for the ICU. *Acute Medicine Surgery*, vol.5(1), 102-105, 2018 査読有
3. Wada, T.; Gando, S.; Mizugaki, A.; Kodate, A.; Sadamoto, Y.; Murakami, H.; Maekawa, K.; Katabami, K.; Ono, Y.; Hayakawa, M.; Sawamura, A.; **Jesmin, S.**; Ieko, M.: Differences in coagulofibrinolytic changes between post-cardiac arrest syndrome of cardiac causes and hypoxic insults: a pilot study. *Acute Medicine Surgery*, vol.4(3), 371-372, 2017 査読有
4. **Jesmin, S.**; Gando, S.; Wada, T.; Hayakawa, M.; Sawamura A.: Activated protein C does not increase in the early phase of trauma with disseminated intravascular coagulation: comparison with acute coagulopathy of trauma-shock. *Journal Intensive Care*, vol.4, 1, 2016 査読有
5. Matsuishi, Y.; **Jesmin, S.**; Kawano, S.; Hideaki, S.; Shimojo, N.; Mowa, C.N.; Akhtar, S.; Zaedi, S.; Khatun, T.; Tsunoda, Y.; Kiwamoto, T.; Hizawa, N.; Inoue, Y.; Mizutani, T.: Landiolol hydrochloride ameliorates acute lung injury in a rat model of early sepsis through the suppression of elevated levels of pulmonary endothelin-1. *Life Science* vol.166: 27-33, 2016 査読有

[学会発表](計 5件)

1. **Jesmin, S.**; Rahman, A.: Angiogenic signaling in sepsis, *HDRCRP*, Dhaka, Bangladesh, March 10, 2019
2. **Jesmin, S.**; Rahman, A.: Sepsis and the associated molecular mechanism. *Shaheed Ziaur Rahman Medical College*, Bogura, Bangladesh, July 24, 2018
3. **Jesmin, S.**: Sepsis and inflammation, Video presentation, *Appalachian State University* (lab of Chishimba Nathan Mowa), NC, USA, December 10, 2017
4. **Jesmin, S.**; Rahman, A.: Basic epidemiology of trauma patients in Bangladesh, *Shuvo Diagnostic center*, Dhunut, Bangladesh, August 23, 2017
5. **Jesmin, S.**; Rahman, A.: Sepsis, a medical emergency from clinical to molecular perspective, *Shaheed Ziaur Rahman Medical College*, Bogura, Bangladesh, May 6, 2017

[図書](計 件)

[産業財産権]

出願状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:号:

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。