

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18322

研究課題名(和文) コリン作動性抗炎症経路による神経免疫系を介した全身炎症の制御機序の解明

研究課題名(英文) Regulatory mechanisms of systemic inflammation mediated by the neuroimmune system through cholinergic anti-inflammatory pathways

研究代表者

松原 庸博 (Matsubara, Tsunehiro)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：70747154

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：敗血症などの重度侵襲病態では過剰炎症、免疫異常により生命機能の恒常性が破綻する。今回、コリン作動性抗炎症経路に注目し、敗血症病態でのコリン作動性抗炎症経路の重要タンパクである7ACh受容体の評価を行った。敗血症患者のヒトPBMCを用いてqPCRを行い、敗血症患者の7ACh受容体を測定した。ヒト単球を用いた実験を行い、デクスメドミジンがコリン作動性抗炎症経路を介して抗炎症作用を持つことを示した。今後の重度侵襲病態におけるコリン作動性抗炎症経路、7ACh受容体の病態解明の一助となる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

敗血症は感染に対する宿主の反応の異常により引き起こされる生命を脅かす臓器障害と定義され、高い死亡率を有する疾患である。今までに敗血症による全身の炎症を抑制するための治療法が研究されてきたが、生存率を高める治療的介入は未だ存在せず、新たな治療戦略の創出が求められている。コリン作動性抗炎症経路は神経免疫系を介して抗炎症作用を持つ系であり、注目されている。本研究では、敗血症患者において、コリン作動性抗炎症経路の重要タンパクである7ACh受容体の評価を行い、デクスメドミジンがコリン作動性抗炎症経路を介して抗炎症作用を持つことを示した。これらの成果は敗血症における新規治療戦略創出の可能性につながる。

研究成果の概要(英文)：In severe invasive pathologies such as sepsis, homeostasis of vital functions is disrupted due to excessive inflammation and immune abnormalities. In this study, we focused on the cholinergic anti-inflammatory pathway and evaluated the 7ACh receptor, a key protein in the cholinergic anti-inflammatory pathway in sepsis. (1) qPCR was performed using human PBMCs from septic patients to measure 7ACh receptor in septic patients. (2) Experiments using human monocytes were performed and showed that dexmedetomidine has anti-inflammatory effects via the cholinergic anti-inflammatory pathway. This may help to elucidate the pathogenesis of the cholinergic anti-inflammatory pathway and 7ACh receptors in severe invasive pathologies in the future.

研究分野：全身炎症

キーワード：コリン作動性抗炎症経路 敗血症

1. 研究開始当初の背景

敗血症は感染に対する宿主の反応の異常により引き起こされる生命を脅かす臓器障害と定義され、高い死亡率を有する疾患である。敗血症病態では、過剰炎症・免疫異常により生体機能の恒常性が破綻するが病態進展の初期段階でいかに全身炎症を制御するかその機序の解明が求められている。本機序において、自立神経系が免疫炎症反応を制御するメカニズム：コリン作動性抗炎症経路 (cholinergic anti-inflammatory pathway) が注目されている。同経路は多くの動物実験で実証されてきたが、実臨床の重度侵襲病態を呈した患者におけるデータはほとんどない。デクスメドミジンは集中治療室で頻用される鎮静薬で脳内の 2 アドレナリン受容体に作用することで鎮痛・鎮静作用を持ち、抗炎症作用を持つ薬剤として注目されている。しかしながら、デクスメドミジンの抗炎症作用の機序はまだ完全には明らかになっていない。本研究では、敗血症において、コリン作動性抗炎症経路の重要タンパクである 7ACh 受容体の評価をヒト検体を用いて行い、また、ヒト単球細胞株 THP-1 を用いて、デクスメドミジンが抗炎症作用を持つという仮説を検証し、また、デクスメドミジンの抗炎症作用とコリン作動性抗炎症経路との関連性について検討した。

2. 研究の目的

敗血症患者のヒト検体を用いて、末梢血単核球中の 7ACh 受容体発現の評価を行い、同経路の病態解明を行い、同経路を介した抗炎症治療の検討を行う。

3. 研究の方法

臨床実験

当施設に入院した敗血症患者を対象とした。敗血症の定義は感染症に罹患し、臓器障害を伴うものと定義した。対象患者から末梢動脈血を採取し、ヘパリンチューブに回収した。PBMC は新鮮な全血試料から Ficoll 液を用いて、密度勾配遠心分離により単離された。単離した PBMC から QIAzol を用いて Total RNA を抽出した。RT-PCR は One Step SYBR Prime Script RT-PCR Kit II を用いて実施した。7nAChR の mRNA 発現量は、2-CT により算出し、GAPDH に対して正規化した。

細胞実験

ヒト単球 THP-1 細胞に対するデクスメドミジンの細胞毒性について検討を行い、細胞への前処理条件として 100 μ M デクスメドミジンを 16 時間と設定した。その後、リポ多糖 (lipopolysaccharide, LPS) による炎症刺激 (10 ng/ml, 3 時間) を行い、炎症性因子の発現を ELISA 法を用いて検討することによりデクスメドミジンの抗炎症作用を評価した。

4. 研究成果

対象患者は 11 名で、年齢の中央値は 73 才であり、入院時の重症度を示す APACHE score の中央値は 19(16-17)、死亡率は 27%(3/11)であった。健常コントロール群 6 名で、年齢の中央値は 70 才であった。敗血症患者の PBMC における 7ACh 受容体のタンパク質発現および mRNA 発現レベルは、健常人のそれよりも有意に低かった。敗血症患者を敗血症、敗血症性ショックに群分けし、検討を行ったところ、PBMC における 7ACh 受容体レベルは、敗血症性ショック群で低い傾向にあったが、有意差は認めなかった。

デクスメドミジンの添加により、LPS 刺激により誘導される腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor, TNF)、インターロイキン (Interleukin, IL) -1、IL-6 などの炎症性因子の発現量は有意に低下した。また、LPS 誘発性の核因子 kappa B (Nuclear Factor kappa B, NF- κ B) の核への移行を抑制した。しかしながら、デクスメドミジンの炎症反応に対する抑制作用は ACh 受容体阻害剤 (10 μ M atropine, 10 μ M mecamylamine) によって阻害されなかった。これらの結果はデクスメドミジンがコリン作動性抗炎症経路および NF- κ B 経路を介して抗炎症作用を有することを示している。

以上の研究から、敗血症病態において、7ACh 受容体は増加していることが示され、敗血症性ショックとなった場合は低下する可能性が示唆された。また、デクスメドミジンは、ヒト単球を用いた細胞実験により、コリン作動性抗炎症経路を介して、抗炎症作用を持つこ

とが示された。しかしながら敗血症病態における γ Ach 受容体の機能、質的評価はできておらず、このことは今後の課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tsunehiro Matsubara
2. 発表標題 Bone Marrow-Derived Mononuclear Cells Transplant Can Reduce Systemic Inflammation and Endothelial Damages in Sepsis Rats.
3. 学会等名 43th Annual Conference on Shock 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------