

令和 5 年 4 月 25 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09288

研究課題名(和文)慢性腎臓病を合併した敗血症に対する中枢性交感神経系を介した治療介入の検討

研究課題名(英文)The role of augmented sympathetic nerve activity mediated by central nervous system on organ dysfunction in sepsis complicated by chronic kidney disease

研究代表者

西原 正章(Nishihara, Masaaki)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：70641017

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病(chronic kidney disease; CKD)を併存する敗血症は予後不良であり、その病態に交感神経活性化が関与している可能性がある。今回SDラットのCKD併存敗血症モデルを用いて交感神経活動が臓器障害へ及ぼす影響を検証した。CKD併存敗血症はCKD非併存敗血症と比較し、交感神経活動は亢進し、臓器障害の程度も大きかった。CKD併存敗血症の脳内ミクログリアは活性化しており、その抑制薬ミノサイクリンの脳室内微量投与により交感神経活動と臓器障害は抑制された。以上より、CKD併存敗血症の病態形成に脳内ミクログリアを介した交感神経活動活性化が重要な役割を果たしていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病を併存する敗血症の予後は不良である。近年、敗血症診療における交感神経系抑制薬である遮断薬の有用性が報告されている。敗血症の病態形成における交感神経活動の亢進が報告されているが、それを抑制することによる影響や基礎的な背景など十分に明らかにされていない。今回の研究結果より、慢性腎臓病を併存する敗血症は中枢神経系に由来する交感神経活動の亢進を認め、これを抑制すると臓器障害が軽減されることが示された。これらの成果は、今後も増加の一途をたどることが予想される慢性腎臓病を併存する敗血症患者における過剰な交感神経活動の活性化への治療介入が、新たな治療戦略の基礎的背景になり得る可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：The prognosis of sepsis associated with chronic kidney disease (CKD) is poor, and sympathetic activation may play a crucial role in its pathogenesis. In the present study, we examined the effects of sympathetic activation on organ damage in an SD rat model of CKD comorbid sepsis, which showed increased sympathetic activity and greater organ damage compared with non-CKD sepsis model. Microglia in the brain in sepsis with CKD were activated, and intracerebroventricular administration of the inhibitor minocycline suppressed both sympathetic nerve activity and organ damage. These results suggest that sympathetic activation via microglia in the brain plays an important role in the pathogenesis of sepsis associated with CKD.

研究分野：救急・集中治療領域

キーワード：敗血症 慢性腎臓病 交感神経活動 中枢性交感神経系 臓器障害 ミクログリア

1. 研究開始当初の背景

交感神経活性化による敗血症の病態形成

敗血症は『感染症に対する制御不能な宿主反応に起因した生命を脅かす臓器障害』と定義され、その病態における臓器障害への影響の重要性が強調されている。敗血症の病態形成の過程において交感神経系の活性化が深く関与していることが示されている。

敗血症における新たな治療戦略としての交感神経活動抑制の効果

近年敗血症における交感神経抑制薬である β 遮断薬が敗血症性ショック患者の28日死亡率を減少させた臨床試験の結果が報告された (Morelli A, et al. *JAMA* 2013)。また、敗血症に罹患した患者群において、罹患前より β 遮断薬を内服していた群では内服していなかった群と比較し生存率が有意に高かったとの報告もある (Tan K, et al. *Critical Care* 2019)。これらの研究成果を踏まえ未だ死亡率の高い敗血症における強力で新たな治療戦略として交感神経活動活性化に対する介入が注目されている。

慢性腎臓病を合併した敗血症の予後は極めて不良

様々な背景疾患の存在は敗血症の予後に影響を及ぼすことが報告され、中でも慢性腎臓病 (chronic kidney disease; CKD) を基礎疾患として有すると敗血症の予後は不良となる。腎機能低下による体液管理困難や、抗生剤の治療制限などが一因と考えられているが、詳細な病態の解明や新規治療法の確立が期待されている。

慢性腎臓病における中枢性交感神経系の活性化の重要性

CKDの病態形成に交感神経系の活性化が重要な役割を果たしており、その機序として中枢神経系の視床下部や脳幹部のさまざまな調節異常に起因する交感神経活動の亢進が示唆されている。申請者はCKDを合併する高血圧モデルとして5/6腎摘出マウスを用いて、コントロール群と比較し中枢神経における視床下部室傍核 (paraventricular nucleus of the hypothalamus; PVN) での抑制性アミノ酸の働きが減弱し、結果として中枢性交感神経活性が増強していることを見出した (Nishihara M, et al. *Auton Neurosci* 2017)。また、CKDモデルにおける全身の交感神経活動活性化の機序としてPVNにおける酸化ストレスの亢進が関与している可能性を示した (Nishihara M et al. *Clin Exp Hypertens* 2019)。これらの成果はCKDにおいて中枢神経系における調節異常に伴う全身の交感神経活動の亢進がその病態形成に深く関与していることを示している。

慢性腎臓病を合併した敗血症に対する中枢性交感神経活性化への介入

CKD、及び敗血症の各々の成因に交感神経系の活性化が重要な役割を果たしており、CKDを合併した敗血症では更にその関与が大きいことが想定され中枢神経系への治療介入が有用である可能性がある。

2. 研究の目的

以上に示した背景より交感神経系をターゲットとした治療は敗血症に対する新たな治療となり得る可能性が考えられ、特にCKDを合併する敗血症への応用が期待され、今後その基礎的な背景の確立も重要である。そこで本研究では「慢性腎臓病を合併した敗血症に対する過剰な交感神経活性への治療的介入が中枢性交感神経調節、及びその予後へ与える影響」を主題として研究を行った。中枢性交感神経調節に関しては脳内の炎症を司り、交感神経活動へ影響を与えていることが示されているミクログリアに着目し、慢性腎臓病を合併した敗血症における役割を検証した。

3. 研究の方法

CKDを合併した敗血症モデルの作成

雄性 Sprague Dawley (SD) ラットの10週齢時に心電計テレメトリー植え込み術、12週齢時に5/6腎摘出 (Nx) または sham 手術、16週齢時に盲腸結紮穿孔 (Cecal ligation and puncture: CLP) または Sham 手術を行い各々4群に分類した (sham-sham, sham-CLP, Nx-sham, Nx-CLP)。

5/6腎摘出術後の病態評価目的に tail cuff 法による収縮期血圧測定、心電計テレメトリー記録より心拍数を評価した。血液検査として血清クレアチニンの測定を行った。

.CKD を合併した敗血症における交感神経活動の評価

各々の群において、交感神経活動の指標として心電計テレメトリー記録を用いて心拍周波数解析を行い、交感神経活動の指標とされる低周波成分(Low Frequency: LF)、および高周波成分(High Frequency: HF)の比(LF/HF 比)を算出した。また、尿中ノルエピネフリン排泄量の測定も行った。

.CKD を合併した敗血症の病態評価

CLP 実施後の病態評価目的に tail cuff 法による収縮期血圧測定、心電計テレメトリー記録より心拍数を評価した。また、交感神経活動の指標として上記心拍周波数解析、尿中ノルエピネフリン排泄量を測定した。臓器障害の指標として血中 BUN、クレアチニン、総ビリルビンの測定を行った。

.CKD を合併した敗血症における脳内ミクログリアの評価

CKD を合併する CLP 群における過剰な交感神経活動活性化の機序として、脳内の交感神経活動中枢である視床下部室傍核 (paraventricular nucleus of the hypothalamus: PVN) におけるミクログリア活性を免疫組織化学染色法にて評価した。

.CKD を合併した敗血症における脳内ミクログリアの抑制が与える影響

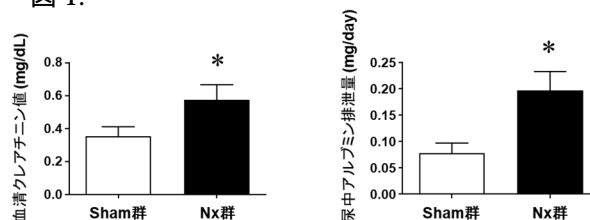
Nx-CLP 群において CLP 実施前にミクログリア活性化抑制薬のミノサイクリン(minocycline: Mino)(Nx-Mino-CLP)またはコントロールとして人工脳脊髄液(artificial cerebrospinal fluid: CSF)(Nx-CSF-CLP)を脳室内持続投与し、敗血症の病態形成へ与える影響を評価した。

4. 研究成果

.5/6 腎摘出術による CKD モデルの作成

雄性 SD ラットの 12 週齢時に Nx、または Sham 手術を実施、手術 4 週間後 Nx 群は Sham 群と比較し有意な血清クレアチニン値の上昇、尿中アルブミン排泄量の増加を認め、CKD の病態を呈していた(図 1)。

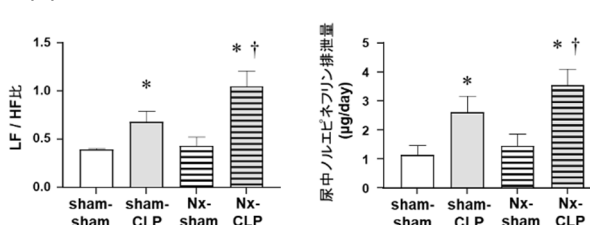
図 1.



.CKD を合併した敗血症モデルにおける交感神経活動の活性化

16 週齢時に CKD の病態形成後に CLP により敗血症の誘発を行った。結果、sham-CLP 群は sham-sham 群と比較し有意に LF/HF 比は高値を認め、尿中ノルエピネフリン排泄量も有意に増加していた。また、Nx-CLP 群は Nx-sham 群と比較し、有意に LF/HF 比は高値を認め、尿中ノルエピネフリン排泄量も有意に増加していた。Nx-CLP 群は sham-CLP 群と比較し、有意に LF/HF 比は高値を認め、尿中ノルエピネフリン排泄量も有意に増加していた。以上の結果より、CKD を合併した敗血症モデルは CKD を合併しない敗血症モデルと比較し、敗血症発症後に有意に交感神経活動が亢進していることが示された(図 2)。

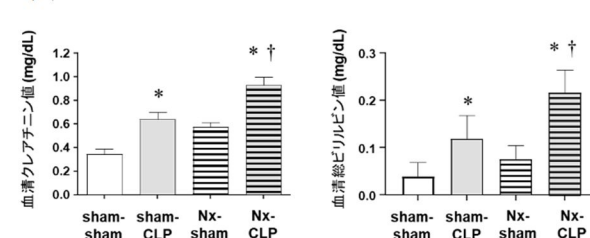
図 2.



.CKD を合併した敗血症モデルにおける臓器障害

CLP 実施後の臓器障害の指標として血液検査を行い、各群間において比較した。Sham-CLP 群および Nx-CLP 群は、各々 sham-sham 群および Nx-sham 群と比較し、血清クレアチニン値、尿中アルブミン排泄量、総ビリルビン値は有意に高く、血小板値は有意に低かった。また、Nx-CLP 群は sham-CLP 群と比較し、血清クレアチニン値、総ビリルビン値は有意に高く、血小板値は有意に低かった。これらの結果より、CKD を合併した敗血症モデルは CKD を合併しない敗血症モデルと比較し、臓器障害の程度が大きいことが示された(図 3)。

図 3.



、CKDを合併した敗血症の病態形成における脳内ミクログリア活性化を介した中枢性交感神経活動の亢進が果たす役割

免疫組織化学染色法の結果、Nx-CLP群はNx-sham群と比較しPVNにおけるミクログリアの活性化を認めた。

Nx-Mino-CLP群はNx-CSF-CLP群と比較し、PVNにおけるミクログリアの活性化は抑制され、LF/HF比および尿中ノルエピネフリン排泄量共に有意に低下していた(図4)。

また、血液検査における血清クレアチニン値、総ビリルビン値は有意に低く、血小板は有意に高かった(図5)。

これらの一連の結果は、CKDを合併した敗血症の臓器障害の形成に、脳内PVNにおけるミクログリアの活性化を介した中枢性交感神経活動の亢進が関与していることを示唆している(図6)。

図4.

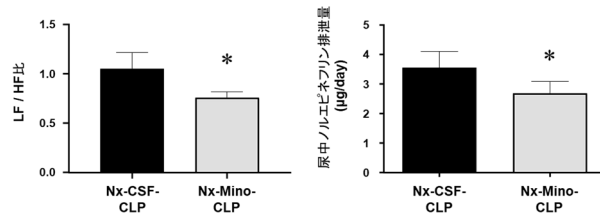


図5.

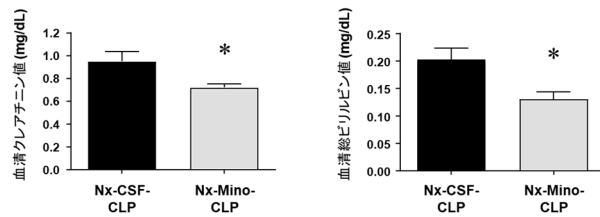
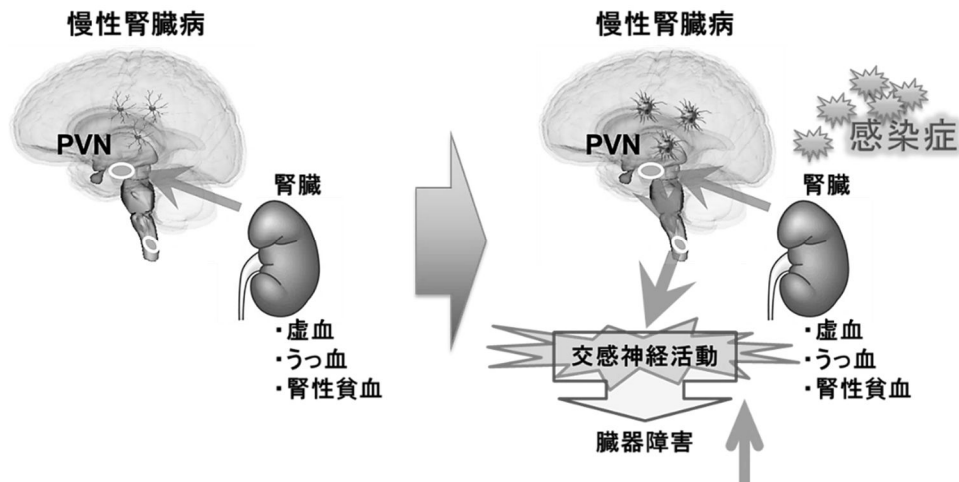


図6.



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 0件）

1. 発表者名 西原正章
2. 発表標題 慢性腎臓病を併存する敗血症における臓器障害と過剰な交感神経活動との関連性の検討
3. 学会等名 第49回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 西原正章
2. 発表標題 慢性腎臓病を併存する敗血症における脳内ミクログリア活性化による交感神経活動亢進と臓器障害との関連性の検討
3. 学会等名 第50回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年～2023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	篠原 啓介 (Shinohara Keisuke) (30784491)	九州大学・大学病院・医員 (17102)	

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