

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：32620
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2013～2015
課題番号：25462830
研究課題名(和文) ATP/adenosine balance からみたSIRS病態の解明

研究課題名(英文) ATP/adenosine balance in SIRS

研究代表者

角 由佳 (SUMI, YUKA)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：40403084

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：1. 様々なSIRS病態(敗血症・心肺停止蘇生後・熱傷)の血液で、炎症を惹起するATPと、炎症を抑制するadenosineのアンバランスが、明らかとなった。2. 待機手術という予定された侵襲に対する炎症反応におけるATP/adenosineの役割を明らかにした。術前の、ATP値、ATP/adenosineバランスが、術後の炎症所見と正の相関関係を認めたのは、非常に興味深く、画期的な発見である。ATP/adenosine profileから、侵襲に対し、各患者の炎症の起こしやすさ・起こしにくさがわかれば、各患者に応じたカスタメイドな治療を提供することができる。

研究成果の概要(英文)：First, our data showed ATP/adenosine unbalance in various SIRS condition, such as sepsis, post-cardiac arrest syndrome, and Burn. ATP is pro-inflammatory factor and adenosine is anti-inflammatory factor, that the purinergic signaling may define the inflammatory response. Second, we found that the ATP and ATP/adenosine before elective surgery may define the inflammatory response after surgery. This finding is intriguing that we can provide the custom made care for each patient depending on his ATP/adenosine profile before surgery. The mechanism of the difference in ATP/adenosine profile is unknown, and need to be clarified.

研究分野：侵襲

キーワード：SIRS ATP adenosine Sepsis

1. 研究開始当初の背景

敗血症を代表とする SIRS(全身性炎症反応症候群)は、いまだ客観的なバイオマーカーはなく、病態に対する治療法も不十分である。日本版敗血症ガイドラインで、敗血症の早期認知および早期介入の重要性や、その治療法が啓蒙されているが、いまだ死亡率も 30%以上と高い。特に高齢者は、敗血症急性期の治療期間が長くなるだけでなく、集中治療管理が終わった後も、ICU acquired weakness で、長期の入院期間を余儀なくされる。これまでに、SIRS 病態に重要な好中球の機能活性に ATP 放出とそのシグナル伝達が必須であること、細胞外で adenosine を作成しフィードバックをかけることを報告してきた。また、敗血症患者では、炎症を惹起する ATP が高値であるだけでなく、抗炎症作用をもつ adenosine が有意に低値であることを発見した。

2. 研究の目的

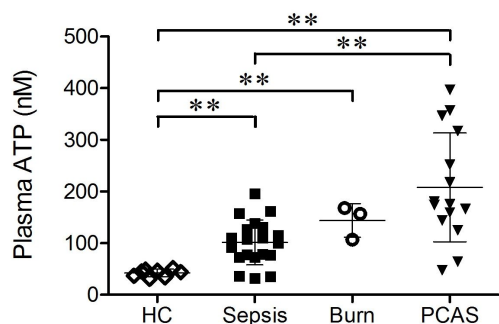
本研究は、SIRS における ATP/adenosine のバイオマーカーとしての意義を解明し、その臨床応用および個別化治療を確立することである。このバランスに基づいた SIRS 病態の解明は、purinergic signaling をターゲットとした斬新な治療戦略となると考えている。

3. 研究の方法

- ① SIRS 患者の血漿中 ATP/adenosine 濃度の測定、重症度・臨床経過・好中球機能との相関を明らかにする。
- ② 待機手術患者の術前・術後の血漿中 ATP/adenosine 濃度の推移と術後経過・好中球機能との相関を評価する。

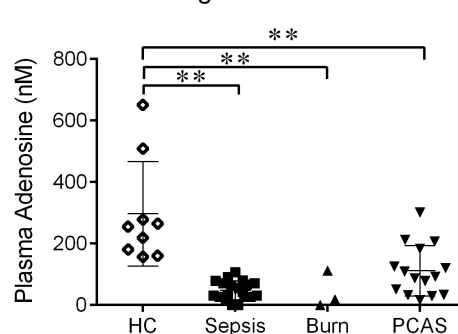
4. 研究成果

① ***SIRS 病態での血漿 ATP/adenosine の評価**：敗血症 (Sepsis, n=20)、熱傷 (Burn, n=3)、心肺停止蘇生後 (PCAS, n=15) 患者の、動脈血中の ATP/adenosine を評価した。上記 SIRS 病態において、明らかに健常人 (HC, n=8) に比し、血漿中 ATP が高値であることが明らかとなった。(** p<0.01, Mann-Whitney test, Fig.1) Fig.1



一方、血漿中アデノシンは、健常人に比し、明らかに低値であることがわかった。(** p<0.01, Mann-Whitney test, Fig.2)

Fig.2 Adenosine

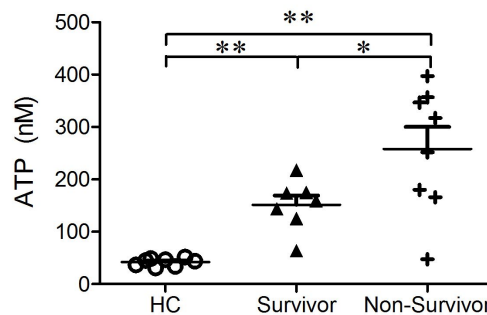


様々な SIRS 病態において、炎症惹起作用をもつ ATP が高値、抗炎症作用をもつ Adenosine が低値であることが明らかとなった。この ATP/adenosine unbalance が SIRS 病態の炎症の機序に関与していることが示唆された。

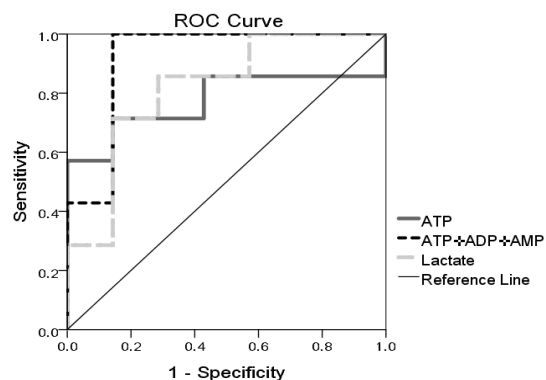
***重症度と ATP/adenosine**

PCAS 患者では、生存群 (Survivor, n=7) と、死亡群 (Non-survivor, n=8) で明らかに心拍再開後の ATP 値が異なることが明らかとなった。(** p<0.01, Mann-Whitney, Fig.3)

Fig.3. ATP in survivor and non-survivor



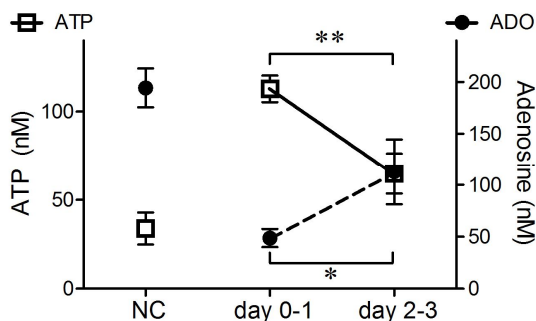
また、ATP および ATP の分解産物である ADP, AMP の総和 (ATP+ADP+AMP) \ 乳酸値 (Lac) を用いて、ROC curve を描くと、PCAS 患者において、ATP, ATP+ADP+AMP は、よい予後予測マーカーになることが示唆された。(Fig.4) Fig.4 ROC curve



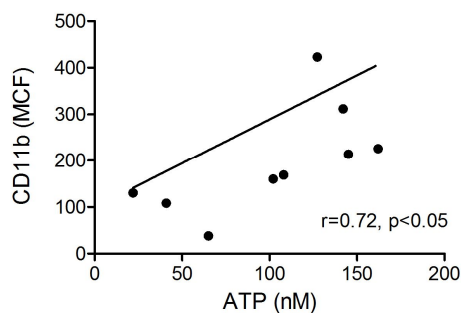
Variables	Area	Std. Error	Asymptotic Sig.	Asymptotic 95% Confidence interval
ATP	.776	.141	.085	.500~1.000
ATP+ADP+AMP	.918	.084	.009	.754~1.000
Lactate	.816	.119	.048	.584~1.000

一方、敗血症患者での臨床経過をみると、炎症所見の改善とともに、ATP は低下し、adenosine は、回復することが明らかとなった。(Fig.5, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

Fig.5 Clinical course



上記敗血症患者で、好中球機能の指標であるCD11b 発現と ATP との関係性を調べたところ正の相関関係を認めた。(Fig.6, Spearman 's correlation) Fig.6. ATP and CD11b



まとめ: 様々な SIRS 病態 (敗血症・心肺停止蘇生後・熱傷) の血液で、炎症を惹起する ATP と、炎症を抑制する adenosine のアンバランスが、明らかとなった。また、ATP 高値は、PCAS の予後予測因子になる可能性が示唆された、敗血症においては、ATP が血中に放出されるのは、その急性期であり、臨床経過とともに改善することがわかった。また、敗血症急性期の ATP は、白血球活性化につながることを示唆された。

救急外来での SIRS 患者は、来院時にすでに炎症の活性化がおきているため、発症前のデータは不明である。そこで、予定で侵襲をうける待機手術患者を対象に、手術前後での ATP/adenosine と、臨床経過を評価することとした。

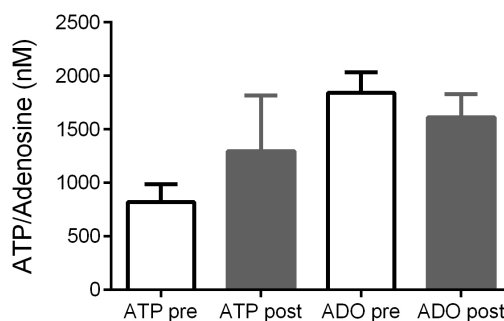
② * 待機手術患者の術前・術後の血漿中 ATP/adenosine 濃度の推移

対象患者: 10 名 (男性 7 名 女性 3 名, 70 ± 11 才) BMI 23 ± 4.1 大腸がん患者 7 名 (腹腔鏡下手術) 胃がん患者 3 名 (開腹手術) 全身麻酔 + 硬膜外麻酔導入後、動脈血を手術開始直後および手術終了後に採血した。

患者によって、術前・術後の血漿中 ATP/ADO 値は、個人差が大きく、患者全体での術前術後の変化には、明らかな統計学的な有意差は認めなかった。ATP は術後上昇傾向、ADO は、

低下傾向を認めた。(Fig.7)

Fig.7. ATP and ADO



術前の ATP は、Body mass index (BMI) と正の相関関係 (Fig.8, not significant), ADO は、年齢と負の相関関係を認めた (Fig.9, Spearman 's correlation). ATP と BMI の関係は、脂肪細胞から ATP が産生される機序との関与・ADO と年齢は、高齢者の免疫機能低下との関与が示唆される。

Fig.8. ATP (pre) and BMI

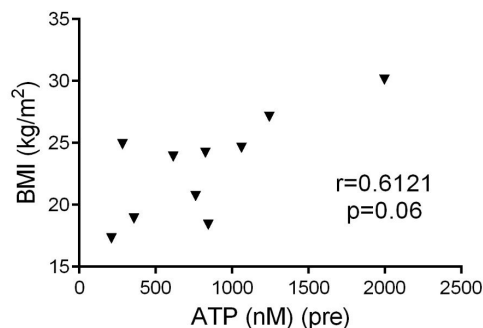
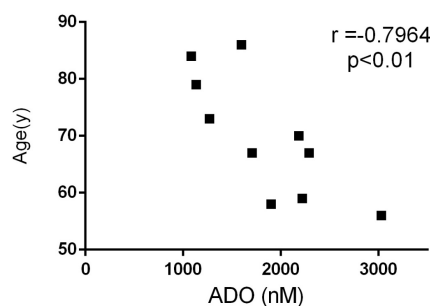
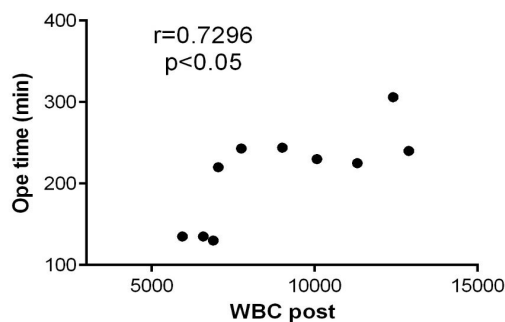


Fig.9. ADO (pre) and Age



* 待機手術患者の術後の炎症と ATP/ADO 術後の白血球数は、手術時間 (侵襲の程度) と正の相関関係を認めた。(Fig.10, Spearman 's correlation)

Fig.10. Operation time and WBC



術後の白血球数は、術前の ATP (Fig.11) として ATP/ADO 比(Fig.12)と正の相関関係を示した。

Fig.11. ATP (pre) and WBC (post)

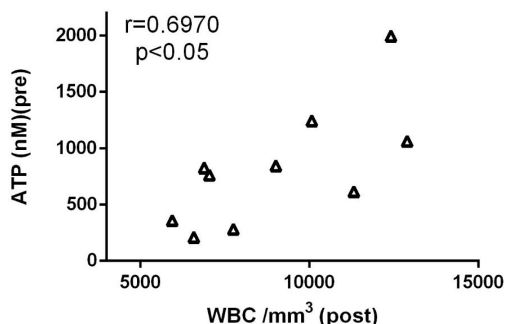
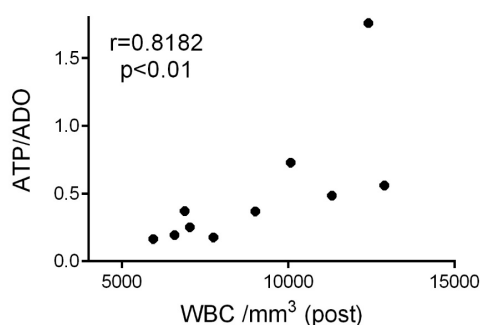
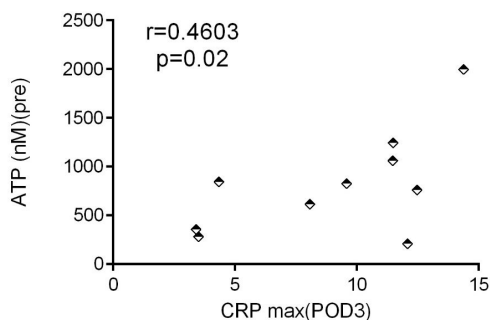


Fig.12. ATP/ADO (pre) and WBC (post)



手術患者では、術後 3 日目に、CRP が最高値となった。術後 CRP は、術前 ATP と正の相関傾向を認めたが (Fig.13, not significant), Adenosine とは、明らかな相関関係を認めなかった。

Fig.13. ATP (pre) and CRP (POD3)



まとめ：待機手術という予定された侵襲に対する炎症反応における ATP/adenosine の役割を明らかにした。患者によって、ATP/adenosine の絶対値は様々であるが、ATP と BMI の相関関係は、近年注目されている脂肪細胞の炎症における役割・ATP signaling との関係が、想起される。術前の、ATP 値、ATP/adenosine バランスが、術後の炎症所見と正の相関関係を認めたのは、非常に興味深く、画期的な発見である。つまり、侵襲に対する反応は、侵襲の大きさだけでなく、侵襲が起こる前から患者毎に決まっていることが示唆された。SIRS 病態において、炎症は患者にとって、必要な治癒過程である。過炎症になったり、必要な炎症が起

こせないことが、病態を悪化させる。ATP/adenosine profile から、各患者の炎症の起こしやすさ・起こしにくさがわかれば、各患者に応じたカスタマイズな治療を提供することができる。

また、これらのデータを蓄積することで、どのような患者が敗血症になりやすいかなど、前向き観察研究をすることができる。

課題と取り組み：まだ、Nが少なく、統計学的有意差から結論づけるには早い。今後、さらに予定手術患者のデータを増やしていく予定である。

ATP 値が高い症例が、術後の炎症反応が高いことが分かったが、なぜ ATP 値が高いかその機序はまだわかっていない。脂肪細胞と、ATP 値の相関関係をさらに深く研究するために、脂肪細胞から分泌されるタンパクの一つであるアジポネクチンを測定し、その機序を探索する。

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 5 件)

1. Chen Y, Bao Y, Zhang J, Woehrle T, Sumi Y, Ledderose S, Li X, Ledderose C, Junger WG. Inhibition of Neutrophils by Hypertonic Saline Involves Pannexin-1, CD39, CD73, and Other Ectonucleotidases. Shock. 査読有 2015;44(3):221-7.

2. Morikawa M, Inoue Y, Sumi Y, Kuroda Y, Tanaka H: Leukocyte deformability is a novel biomarker to reflect sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. Acute Medicine and Surg. 査読有 2: 13-20, 2015.

3. Sumi Y, Woehrle T, Chen Y, Bao Y, Li X, Yao Y, Inoue Y, Tanaka H, Junger WG. Plasma ATP is required for neutrophil activation in a mouse sepsis model. Shock. 査読有. 2014; 42: 142-147.

4. Yamakawa K, Ogura H, Fujimi S, Morikawa M, Ogawa Y, Mohri T, Nakamori Y, Inoue Y, Kuwagata Y, Tanaka H, Hamasaki T, Shimazu T. Recombinant human soluble thrombomodulin in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: a multicenter propensity score analysis. Intensive Care Med. 査読有 2013;39(4): 644-52

5. Matsuda A, Yang WL, Jacob A, Aziz M, Matsuo S, Matsutani T, Uchida E, Wang P. FK866, a visfatin inhibitor, protects

against acute lung injury after intestinal ischemia-reperfusion in mice via NF- B pathway. Ann Surg 259:1007-1017, 2014.

〔学会発表〕(計 15 件)

1. 角由佳. 敗血症患者の好中球活性化因子としての ATP. 第 30 回 日本ショック学会 2015.5.22. 東京都八王子市
2. 角由佳. ATP/アデノシンバランスからみた敗血症. 第 88 回 日本薬理学会 2015.3.19. 愛知県名古屋市
3. 末吉孝一郎、角由佳. Fluorescence imaging of ATP in human neutrophils with organelle-localizable fluorescent chemosensors in sepsis patients. 第 37 回 Annual Conference on Shock 2014.6.8. Charlotte, USA
4. 角由佳. ATP-Adenosine を標的とした炎症の制御. 第 42 回日本救急医学会 2014.10.28. 福岡県福岡市
5. 角由佳. Plasma ATP levels and outcome of sepsis 第 36 回 Annual Conference on Shock. 2013.6.1. San Diego, USA

6. 研究組織

(1)研究代表者

角 由佳 (SUMI, Yuka)
順天堂大学・医学部・先任准教授
研究者番号：40403084

(2)研究分担者

松田 明久 (MATSUDA, Akihisa)
日本医科大学・医学部・助手
研究者番号：00366741

井上 貴昭 (INOUE, Yoshiaki)
筑波大学・医学部・教授
研究者番号：60379196

田中 裕 (TANAKA, Hiroshi)
順天堂大学・医学部・教授
研究者番号：90252676

末吉 孝一郎 (SUEYOSHI, Koichiro)
順天堂大学・医学部・助手
研究者番号：90648297

(3)研究協力者

Wolfgang Junger (Wolfgang Junger)
Department of Surgery, Beth Israel
Medical Deaconess Center, Harvard
Medical School, Professor
研究者番号：