

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26461509

研究課題名(和文)肺アスペルギルス症におけるグレリンの有用性と作用機序の解析

研究課題名(英文)Effect of ghrelin for prevention in murine invasive pulmonary aspergillosis model

研究代表者

今村 圭文 (IMAMURA, Yoshifumi)

長崎大学・病院(医学系)・講師

研究者番号：90467960

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)：侵襲性肺アスペルギルス症(IPA)は代表的な難治性感染症である。肺アスペルギルス症では栄養状態が予後と関連していることから、食欲を増進させるホルモンであるグレリンの効果に着目し研究を行なった。IPAマウスモデルに対してグレリンを投与したところ生存率を有意に改善し体重減少も抑制させた。肺内生菌数、病理所見、気管支肺胞洗浄液(BALF)中の細胞数および細胞分画についてはグレリン投与群とコントロール群で差はなかったが、肺組織中のIL-10産生はグレリン投与群で有意に増加していたことから(TNF- $\alpha$ とIL-6は差はなかった)、グレリンは抗炎症作用によりIPAに対して有益な効果を示す可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Invasive pulmonary aspergillosis (IPA) occurs in immunocompromised patients and its mortality rate is remain high. With regard to pulmonary aspergillosis, BMI and nutritional status were independent predictor of prognosis. We hypothesized that the orexigenic hormone, ghrelin could have supportive effect in IPA and investigated the effect of ghrelin on mouse model of IPA. Ghrelin was administrated to IPA mouse for 9 days. We found that ghrelin could improve survival rate of IPA (63%) compared with untreated group (0%). The count of viable fungi of the lungs was not significantly different in both groups. There were no differences between ghrelin treated group and untreated group in histopathological examination and BALF analysis (cell count and proportion). Ghrelin treatment increased anti-inflammatory cytokine (IL-10) whereas no effect on inflammatory cytokines (IL-6 and TNF- $\alpha$ ). These results indicated that , ghrelin may improve the survival rate of IPA by immunomodulatory effect.

研究分野：感染症

キーワード：肺アスペルギルス症 グレリン

## 1. 研究開始当初の背景

近年抗癌剤や免疫抑制剤、ステロイドなどの使用頻度の増加に伴い免疫不全患者は増加傾向にある。免疫不全患者に発症する侵襲性肺アスペルギルス症(IPA)は、未だに死亡率が高い疾患であり新たな治療法や予防法の開発が期待されている。

肺アスペルギルス症において Body mass index の低下は独立した予後規定因子であることが報告されている (Respir Med. 106: 724-729, 2012)。したがって、るい瘦を改善することが肺アスペルギルス症の予後改善に寄与する可能性が考えられる。

グレリンは胃から分泌され、食欲を亢進させるホルモンであるが、近年抗炎症効果があることが知られており (Am J Respir Crit Care Med. 176: 805-813, 2007) 敗血症 (Am J Respir Crit Care Med. 176: 805-813, 2007) や腹膜炎 (Int Immunopharmacol. 13: 440-445, 2012) ARDS マウスモデル (Eur J Pharmacol. 672: 153-158, 2011) に併用することにより生存率の改善効果があることが報告されている。

## 2. 研究の目的

グレリンが持つ食欲増進作用や免疫調整作用がアスペルギルス症に対して有用であると仮定し、マウスモデルを用いて IPA におけるグレリンの治療効果とその作用機序について検討する。

## 3. 研究の方法

メス ICR 7 週齢マウスを酢酸コルチゾン 200mg/kg 投与により免疫抑制状態とし、免疫抑制開始前日よりグレリン (100 µg/kg) とコントロール群として生理食塩水をそれぞれ 1 日 2 回腹腔内投与した。

免疫抑制開始翌日に *Aspergillus fumigatus* を気管内に投与し感染を成立させた。

グレリンを感染成立から計 1 週間投与を継続投与し、生存率 (2 週間観察) 体重変化 (2 週間観察) 肺内生菌数 (感染 4 日目) 病理所見 (感染 6 日目) 気管支肺胞洗浄液 (BALF) (感染 6 日目) 肺組織中サイトカイン産生 (感染 6 日目) の評価を行った。

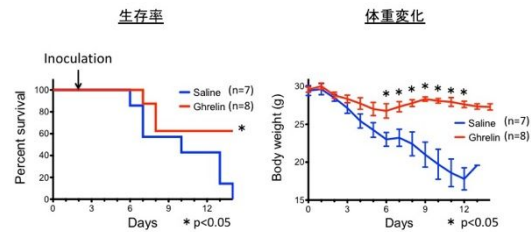
肺組織中サイトカインの測定には市販の ELISA キットを用いた。

## 4. 研究成果

### (1) IPA におけるグレリンの治療効果

コントロール群 (生理食塩水投与群) では 2 週間後の生存率が 0%であったのに対し、グレリン投与群では 63%と有意差を持って生存率を改善した。

図1. IPAに対するグレリンの治療効果

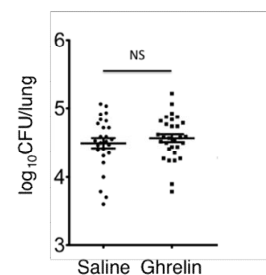


また、グレリン群では有意に体重減少も抑制した (図 1)。

### (2) IPA におけるグレリン投与が肺内生菌数に与える影響

図 1 で示した IPA に対するグレリンの治療効果について、グレリン投与群において *A. fumigatus* が肺内からクリアランスされているかどうかを確認するために、感染 4 日後の肺内生菌数を計測した (図 2)。その結果、グレリンは肺内菌数を減少させてはいないことが明らかとなった。

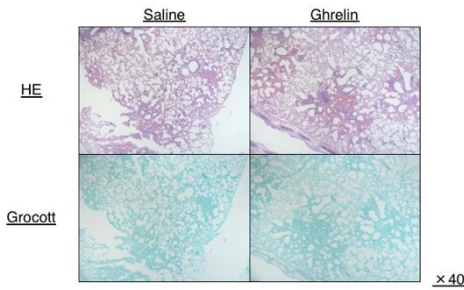
図2. 感染4日後の肺内生菌数



### (3) IPA におけるグレリン投与後の肺病理所見

IPA においてグレリン投与が与える影響を病理組織像で解析したが、コントロール群とグレリン投与群のいずれにおいても、*A. fumigatus* の肺実質内への侵襲と、周囲の炎症細胞増加が認められたが、両者に有意な差異は認められなかった (図 3)。

図3. IPAにおけるグレリン投与後の病理所見

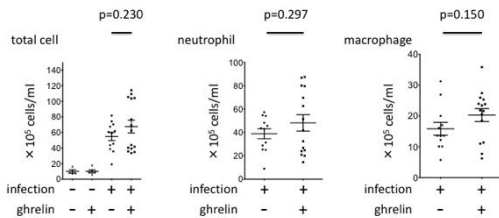


(4) グレリン投与が BALF 中の細胞数、細胞分画に与える影響

次に、グレリンが IPA の病態にもたらす効果について更に検証するために BALF 中の細胞数、細胞分画を解析した。

その結果、コントロール群と比較して、グレリン投与群では細胞数および細胞分画に差は認められなかった (図 4)。

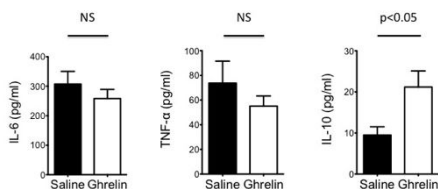
図4. BALF中の細胞数と細胞分画



(5) 肺組織中のサイトカイン産生

感染 4 日後の肺組織中の炎症性サイトカイン (TNF- $\alpha$ 、IL-6) と抗炎症性サイトカイン (IL-10) について ELISA で定量したところ、TNF- $\alpha$ 、IL-6 についてはコントロール群と比較して有意差はなかったものの、グレリン投与群においてやや産生が抑制される傾向があった。また、IL-10 についてはコントロール群と比較してグレリン投与群で有意に産生が増加していた (図 5)。

図5. グレリンがサイトカイン産生に与える影響



以上の結果より、グレリンは IPA に対して予後改善と体重減少抑制の点で有効な補助的治療薬となり得る可能性が示唆された。

グレリンは 28 のアミノ酸から構成される胃から分泌されるペプチドホルモンであり、下垂体に作用して成長ホルモン分泌を促し、視床下部に作用し食欲を増進させる。グレリンは 感染・敗血症時には低下するとされており、感染時の体重減少に関与することが示唆されており、食欲減退ホルモンであるレプチンとは対照的な効果を示す。

今回認められた IPA の予後を改善する作用の機序については、まず第一にはグレリンが有する食欲を増進させる作用により、宿主の全身状態を維持できたことに起因することが推測される。肺アスペルギルス症と同様に、い痩が予後不良因子となる疾患に COPD があるが、グレリンを投与することで COPD 患者の体重が増加し、運動耐容能が改善したという報告がある (Chest. 128:1187-1193, 2005; PLoS One. 7:e35708, 2012)。また、COPD だけでなく、慢性下気道感染症や間質性肺炎による慢性呼吸不全患者に対してもその効果が期待されている (Endocr J. 64(Suppl.): S1-S3, 2017)。

グレリンは食欲に対する効果の他に、免疫調節作用を始めとして様々な生理的作用を有することが報告されている (Scientifica. 2013: 518909, 2013)。例えば、喫煙に起因する気道上皮からの IL-6 産生を抑制することが報告されており (Inflammation. 39: 190-198, 2016)、今回の検討においても (有意差はなかったものの) グレリン投与群において炎症性サイトカインである IL-6 が低下する傾向にあり、対照的に、抗炎症性サイトカインで IL-10 は有意差を持ってグレリン投与群で増加していた。

今回の検討では、グレリンが IPA の予後を改善させる機序を解明するために行った肺内生菌数、病理所見、BALF 所見では有意な変化は認められず、前述の体重維持による効果以外では、抗炎症作用により IPA の病態に有利に作用したのではないかと推測される。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

武田和明、今村圭文他. 第 88 回日本感染症学会総会. マウス侵襲性肺アスペルギルス症モデルに対する補助療法としてのグレリンの有用性について. 福岡. 2014 年 6 月 18 日~20 日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

今村 圭文 (IMAMURA, Yoshifumi)

長崎大学・病院(医学系)・講師

研究者番号: 90467960