

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861534

研究課題名(和文)敗血症に伴う心筋障害におけるIL18の関与と治療戦略の開発

研究課題名(英文)The involvement of IL-18 in cardiac dysfunction during sepsis.

## 研究代表者

奥原 祥貴 (Okuhara, Yoshitaka)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：20648232

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：IL-18欠損マウスではLPS投与後の心収縮力低下や心拡大が抑制されており、IL-18は敗血症における心筋障害に関与することが示唆された。IL-18欠損マウスにおいて、LPS投与後のSERCA2aの発現低下、PLNやAktのリン酸化の低下が抑制されており、それらを調節するPP2A活性の増加も抑制されていた。ラット心筋細胞における検討では、IL-18刺激により同様の結果がみられた。以上の結果から、IL-18はPP2Aを介してSERCA2a/PLNやAktを調節することにより、敗血症における心筋障害の進展に重要な役割を果たしているものと結論した。

研究成果の概要(英文)：IL-18 was associated with cardiac dysfunction during sepsis and its ablation exhibited attenuation of septic cardiac dysfunction. We also observed that IL-18 ablation inhibited a decrease of SERCA2a expression and PLN and Akt phosphorylation in septic cardiac dysfunction, which may be regulated by PP2A activation. In cardiac myocytes treated with IL-18, we found a decrease of SERCA2a expression, PLN and Akt phosphorylation, and an increased of PP2A activation. Thus, IL-18 plays important roles in advancing septic cardiac dysfunction by regulating SERCA2a/PLN interaction and Akt through the PP2A.

研究分野：循環器内科学

キーワード：サイトカイン IL-18 SERCA2a Phospholamban PP2A Akt 敗血症性心筋症

## 1. 研究開始当初の背景

敗血症性ショックにおける心機能障害は予後の規定因子の一つとして知られている。敗血症に心機能障害を合併した患者は、それを認めない患者よりも死亡率が高い (*Pharm Biol.* Apr 2013;51(4):482-487)。それゆえに敗血症における心筋障害を抑制することは非常に重要である。敗血症における心筋障害には炎症性サイトカインが重要な役割を果たしているが、広く研究されている TNF-

は敗血症発症早期にピークアウトし、心筋障害が生じる時相とは一致せずその役割は限定的であると思われる。一方、インターロイキン 18 (IL-18)は、敗血症における心筋障害の時相と一致した増加を示し、いくつかの報告によると、その中和は敗血症における心筋障害に対して保護的に働くことがわかっている (*J Immunol.* 2000;164(5):2644-2649, *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology.* 2002;283(2):H650-H657)。

Sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase 2a (SERCA2a)や phospholamban (PLN)は心筋カルシウムハンドリングに関与する重要な分子であり敗血症における心機能障害においてその機能が低下することが知られている (*Shock.* 2001;15(1):49-55)。一方、Akt は敗血症における心筋障害において重要な役割を果たしており、Type 2 protein phosphatase (PP2A) は PLN や Akt のリン酸化の調節を担っている。しかし、敗血症における心筋障害において、IL-18 が PP2A を介した PLN や Akt のリン酸化に影響しているかどうかは明らかでない。

## 2. 研究の目的

本研究課題では敗血症における心筋障害において、IL-18 の遺伝的欠損が心筋障害を抑制するかどうかを検討する。また、SERCA2a、PLN などの心筋カルシウムハンドリングに関与する分子や、Akt のリン酸化、さらにそれらを調節する protein phosphatase に関して検討する。最後にラット心筋細胞において IL-18 を負荷することにより、それらのシグナルの心筋細胞における動態を検討する。

## 3. 研究の方法

(1) 野生型マウスに対し、LPS 30mg/kg を腹腔内投与し、投与後 3 時間毎に、心エコー、心臓カテーテル検査を行い、LPS の心機能への影響を明らかにする。

(2) LPS 投与後のマウスをサンプリングし、血中及び心筋細胞における IL-18、SERCA2a、PLN、Akt、protein phosphatase などの動態について関連性を調べる。

(3) IL-18 欠損マウスを用いて、同様の LPS 投与を行い心機能への影響、生化学的な検討を加える。

(4) ラット仔心筋細胞に IL-18 (100ng/mL) を負荷することによる刺激実験を行い、同様の検討を加える。

## 4. 研究成果

IL-18 と敗血症における心筋障害との関連を調べたところ、LPS 投与後の心筋障害の時相に一致して、IL-18 は増加を認めており、IL-18 欠損マウスでは LPS による心筋収縮力

の低下や心拡大は有意に抑制されていた。SERCA2a の mRNA 及びタンパク発現は LPS 投与後の野生型マウスで有意に低下していたが、IL-18 欠損マウスではその低下が抑制されていた。また、PLN のリン酸化に関しても LPS 投与後の野生型マウスで有意に低下していたが、IL-18 欠損マウスではその低下が抑制されていた。これらの結果から、IL-18 は敗血症における心筋障害において SERCA2a や PLN を介した調節を行っているものと思われる。また、Akt のリン酸化についても野生型マウスでは LPS 投与後に有意に低下するのに対して、IL-18 欠損マウスではその低下が抑制されていた。次に、PLN や Akt のリン酸化に關与する protein phosphatase を測定したところ、PP1 活性は LPS 投与により変化がなかったのに対して、PP2A 活性は野生型マウスにおいて LPS 投与後に増加し、IL-18 欠損マウスではその増加が抑制されていた。ラット仔心筋細胞における検討でも、IL-18 刺激により SERCA2a の発現低下、PLN や Akt のリン酸化の低下を認め、PP2A 活性の増加を認めた。

以上の結果から、IL-18 は PP2A を介して SERCA2a/PLN や Akt を調節することにより、敗血症における心筋障害の進展に重要な役割を果たしているものと結論した。

## 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6件)

1. Morisawa D, Hirotani S, Oboshi M, Nishimura K, Sawada H, Eguchi A, Okuhara Y, Iwasaku T, Naito Y, Mano T, Okamura H, Masuyama T. Interleukin-18

disruption suppresses hypoxia-induced pulmonary artery hypertension in mice. *Int J Cardiol* 2016;202:522-4.

doi:10.1016/j.ijcard.2015.09.118.

査読有

2. Sawada H, Naito Y, Oboshi M, Soyama Y, Nishimura K, Eguchi A, Ando T, Okuhara Y, Morisawa D, Iwasaku T, Hirotani S, Mano T, Mitsuno M, Miyamoto Y, Masuyama T. Increment of pentraxin3 expression in abdominal aortic aneurysm. *Int J Cardiol* 2015;195:281-2.

doi:10.1016/j.ijcard.2015.05.177.

査読有

3. Oboshi M, Naito Y, Sawada H, Hirotani S, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Nishimura K, Fujii K, Mano T, Ishihara M, Masuyama T. Temporary dietary iron restriction affects the process of thrombus resolution in a rat model of deep vein thrombosis. *PLoS One* 2015;10(5):e0126611.

doi: 10.1371/journal.pone.0126611.

査読有

4. Naito Y, Sawada H, Oboshi M, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotani S, Mano T, Tsujino T, Masuyama T. Cardiac remodeling in response to chronic iron deficiency: role of the erythropoietin receptor. *J Hypertens* 2015;33(6):1267-75.

doi: 10.1097/HJH.0000000000000547.

査読有

5. Naito Y, Fujii A, Sawada H, Oboshi M, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotsu S, Masuyama T. Association between renal iron accumulation and renal interstitial fibrosis in a rat model of chronic kidney disease. *Hypertens Res* 2015;38(7):463-70.  
doi: 10.1038/hr.2015.14.

査読有

6. Sawada H, Naito Y, Oboshi M, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotsu S, Masuyama T. Iron restriction inhibits renal injury in aldosterone/salt-induced hypertensive mice. *Hypertens Res* 2015;38(5):317-22.  
doi: 10.1038/hr.2015.13.

査読有

[学会発表](計5件)

1. Morisawa D, Hirotsu S, Oboshi M, Nishimura K, Sawada H, Eguchi A, Okuhara Y, Iwasaku T, Naito Y, Mano T, Ishihara M, Masuyama T. Interleukin-18 Promotes Development of Hypoxia-Induced Pulmonary Artery Hypertension in Mice. American College of Cardiology 64th Annual Scientific Session 2015, 2015.3.14-6, San Diego, USA.
2. Iwasaku T, Hirotsu S, Eguchi A, Okuhara Y, Morisawa D, Oboshi M,

Sawada H, Naito Y, Mano T, Masuyama T. Interleukin-18 Enhances Mitochondrial Function in Pressure Overload through AMP-activated Protein Kinase Activation. American Heart Association Scientific Sessions 2014, 2014.11.15-9, Chicago, USA.

3. Iwasaku T, Hirotsu S, Eguchi A, Sumitani N, Okuhara Y, Morisawa D, Sawada H, Naito Y, Masuyama T. Low-dose Interleukin-18 is Necessary to Adapt to Pressure Overload in Mice. Basic Cardiovascular Sciences 2014 Scientific Sessions, 2014.7.14-7, Las Vegas, USA.

4. Naito Y, Hosokawa M, Hao H, Sawada H, Iwasaku T, Okuhara Y, Morisawa D, Eguchi A, Hirotsu S, Masuyama T. Dietary Iron Restriction Attenuates the Development of Monocrotaline-Induced Pulmonary Vascular Remodeling and Right Ventricular Failure in Rats. The 18th International Vascular Biology Meeting. 第18回国際血管生物学会, 2014.4.14-7, 京都市勧業館みやこめっせ(京都府・京都市).

5. Okuhara Y, Hirotsu S, Iwasaku T, Eguchi A, Morisawa D, Ando T, Sawada H, Nishimura K, Naito Y, Masuyama T. Salt with Low-Dose Furosemide

Decreases Plasma Aldosterone Level in  
Acute Decompensated Heart Failure.  
American College of Cardiology 63rd  
Annual Scientific Session 2014,  
2014.3.29-31, Washington DC, USA.

〔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〕

ホームページ等

特になし。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

奥原 祥貴 (Okuhara, Yoshitaka)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：20648232