

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26870229

研究課題名(和文)胃粘膜保護剤ゲラニルゲラニルアセトンを用いた気管支肺異形成症の新規予防戦略

研究課題名(英文)New preventive strategy of bronchopulmonary dysplasia with geranylgeranylacetone

研究代表者

徳力 周子(Tokuriki, Shuko)

福井大学・学術研究院医学系部門・助教

研究者番号：60510237

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)：高濃度酸素投与によるマウス新生仔の気管支肺異形成症(BPD)モデルを作成し、geranylgeranylacetone(GGA)の細胞保護効果を検討した。また、酸素治療を受けたヒト早産児の血清HSP70濃度を測定した。

GGAは肺におけるHSP70の発現を約2倍に増強した。高濃度酸素はHSP70の発現を低下させたが、GGAはその効果を弱めた。高濃度酸素投与マウスでは、肺胞は単純化しapoptosis陽性細胞が増加したが、GGAはそれらの効果を弱めた。ヒト早産児の血清HSP70濃度は日齢とともに徐々に低下した。GGAは新生児肺において高濃度酸素障害を減弱させ、BPDの発症を予防するかもしれない。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether geranylgeranylacetone(GGA) protected neonatal lungs from hyperoxic stress in a murine bronchopulmonary dysplasia (BPD) model, and measured serum heat shock protein (HSP)70 levels in preterm humans treated with oxygen. GGA administration enhanced HSP70 expression two-fold compared with normoxia-exposed and vehicle-treated mice. Hyperoxia reduced HSP70 expression, whereas GGA abrogated the effects. Hyperoxia-exposed mice exhibited more apoptotic cells in lung parenchyma and a more simplified alveolar structure with less radial alveolar count (RAC) and larger mean linear intercept (MLI) than normoxia-exposed mice. GGA suppressed the increase in apoptotic cells and the structural changes of the lungs induced by hyperoxia. Serum HSP70 levels of preterm human infants gradually decreased with age. GGA may attenuate hyperoxic injury in neonatal lungs and thereby may prevent the development of BPD.

研究分野：neonatology

キーワード：heat shock protein geranylgeranylacetone premature infant hyperoxia alveolarization

1. 研究開始当初の背景

気管支肺異形成症 (bronchopulmonary dysplasia:BPD)は、在胎 28 週未満出生児の 30 ~ 40%に発症し、肺の慢性炎症、肺胞や血管の発達停止、間質線維化などによって特徴づけられる早産児特有の肺障害である。未熟な肺に人工換気療法による肺損傷、酸素毒性、感染症、肺浮腫などのさまざまな要因が加わって BPD が発症すると考えられている。周産期医療の進歩によりわが国における超低出生体重児の新生児死亡率は年々減少しているが、修正 36 週以降も酸素投与が必要な重症 BPD は 35.8%で近年ほとんど変化していない。重症 BPD 発症児は 3 歳時の精神運動発達遅延が有意に多く、呼吸機能低下も遷延する。早産・超低出生体重児の長期的な生活の質を向上させるためには、重症 BPD の発症を抑制する方法の確立は喫緊の課題となっている。

本研究者は周産期の酸化ストレスが未熟肺に及ぼす影響について精力的に研究を進めてきた。特に酸化ストレスに対する生体の内因性ストレス応答システムに着目し、平滑筋増殖抑制・血小板凝集抑制・抗炎症・抗アポトーシスなど様々な「抗ストレス効果」を発揮する内因性の一酸化炭素 (carbon monoxide:CO) とヘモグロビンの結合産物 (CO-Hb) が中等度~重度の BPD 児で出生後早期に有意に上昇することを明らかにした (平成 21-22 年度若手研究 B「慢性肺疾患の予測・治療効果判定に有用な新たなバイオマーカーの開発」)。しかし、BPD 児の CO-Hb 値は生後 1 ヶ月程度で軽症児とほぼ同等のレベルに低下することから、内因性 CO の産生に関与したヘムオキシゲナーゼ - 1(HO-1)が慢性持続性ストレス下では誘導されにくいと考えられた。BPD を発症する児には生後 1 ヶ月頃よりコントロール困難な気道炎症による喀痰の増加や、肺間質の浮腫・線維化・気腫化を反映する胸部レントゲン上の変化が現れることから、慢性持続性のストレス下でも生体のホメオスタシス機構を維持する戦略が BPD 発症を阻止するために有効と考えられた。

2. 研究の目的

酸化ストレスをはじめとする様々な刺激によって誘導される熱応答タンパク質 (heat shock protein : HSP) の一つである HSP70 は、近年その細胞保護効果が注目されている。本研究では高濃度酸素、感染等様々なストレスにより引き起こされる未熟児の肺傷害における HSP の細胞保護メカニズムを解明し、次に HSP70 の誘導体であるゲラニルゲラニルアセトン (geranylgeranylacetone : GGA) が傷害肺に及ぼす影響を検討して「生体の内因性ストレス応答システム」を維持する新たな BPD への介入方法を探索する。

3. 研究の方法

(1) BPD モデルマウスの肺組織における HSP70 の発現

高濃度酸素暴露による BPD モデルマウスを作成し、肺の HSP70 の発現をウエスタンブロットティング法で測定する。

(2) GGA の投与による BPD 予防効果

BPD モデルマウスに GGA を 3 日間投与して、日齢 8 の肺組織の構造的変化を HE 染色標本を用いて、細胞死の程度を TUNEL assay および cleaved caspase-3 陽性細胞数の測定を用いて解析する。

(3) NICU の入院児における血液中の HSP70 濃度を ELISA 法で測定する。

4. 研究成果

(1) BPD モデルマウスの肺組織における HSP70 の発現

日齢 1 のマウス新生仔に GGA500mg/kg を投与すると、24 時間後に肺の HSP70 が非投与群の約 2 倍誘導されることが明らかとなった。また、高濃度酸素曝露下では HSP70 のレベルは低下したが、GGA の投与でその効果は減弱した (図 1)。

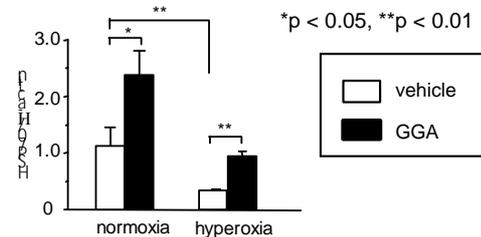


図 1 GGA による HSP70 の誘導

(2) GGA の投与による BPD 予防効果

高濃度酸素曝露群と非曝露群で生存率に差はなかったが、高濃度酸素曝露群の体重増加率は有意に低下していた。しかし、GGA500mg/kg を 3 日間投与した群では、体重増加率が改善していた。

日齢 8 の高濃度酸素曝露群では、非曝露群に比べて radical alveolar counts (RAC) が小さく、mean linear intercept (MLI) が長くなっており、有意に単純化した気腫状の肺胞構造がみられた。しかし、GGA を投与した群では高濃度酸素曝露下においてもこれらの変化が有意に緩和された (図 2)。

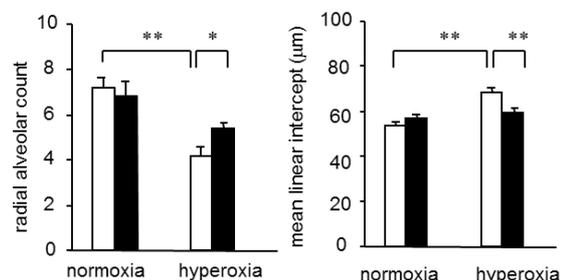


図 2 GGA 投与による肺の構造的変化

高濃度酸素曝露群では、非曝露群に比べて有意に TUNEL 陽性細胞、cleaved caspase-3 陽性細胞が多かった。しかし、GGA を投与した群ではこれらの変化は有意に緩和されており、細胞死が抑制されていることが推察された(図 3)。

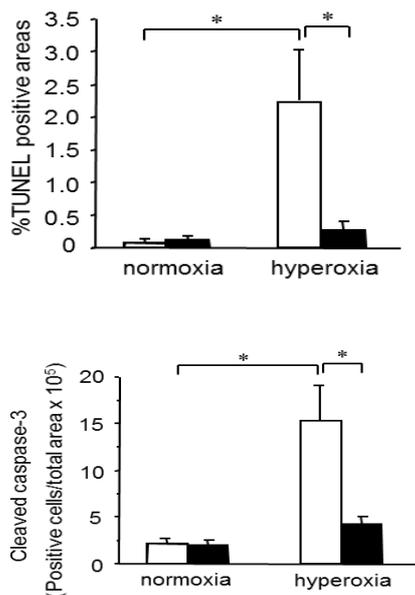


図 3 GGA 投与による細胞死の抑制効果

(3) NICU 入院児の血清中 HSP70 濃度
 当院 NICU に入院した 57 名の新生児 (在胎週数 22-42 週: 中央値 35 週、出生体重 541-4089 g : 中央値 1951 g) の日齢 0-3 における血清 HSP70 濃度を測定した。血清 HSP70 濃度は、在胎週数や出生体重、Apgar score と有意な相関を認めなかった。サーファクタント製剤を投与された児では、投与を受けなかった児と比べて有意に HSP70 濃度が高かったが、性別や出生前ステロイド投与の有無、絨毛膜羊膜炎の有無、BPD 発症の有無では群間の差を認めなかった。
 HSP70 濃度は日齢と共に有意に低下したが、日齢 28-30 の時点でも BPD 発症の有無によって有意な差はみられなかった(図 4)。

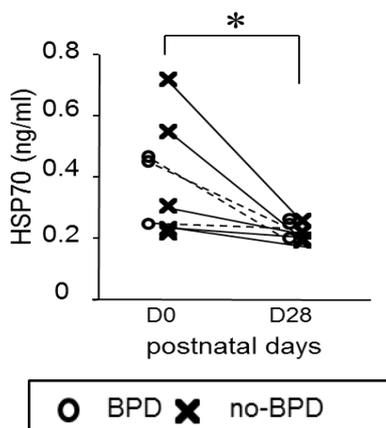


図 4 新生児の血清 HSP70 濃度

上記結果より、出生時に高値であった内因性の HSP70 はおよそ生後 1 ヶ月で低下するため HSP70 の細胞保護効果を強めるには何らかの外的介入が必要と考えられた。

GGA は高濃度酸素曝露によるマウス新生児の肺傷害を軽減することが可能であり、BPD の発症を予防する新たな介入方法となりうるかもしれない。

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 3 件)

Tokuriki S, Igarashi A, Okuno T, Ohta G, Naiki H, Ohshima Y. Treatment with geranylgeranylacetone induces heat shock protein 70 and attenuates neonatal hyperoxic lung injury in a model of bronchopulmonary dysplasia. Lung 2017 doi:10.1007/s00408-017-0007-4. 査読有り

Tokuriki S, Igarashi A, Okuno T, Ohta G, Kosaka T, Ohshima Y. Postnatal changes in humerus cortical bone thickness reflect the development of metabolic bone disease in preterm infants. Dis Markers. 2016;2016:2176594. doi: 10.1155/2016/2176594. 査読あり

Tokuriki S, Okuno T, Ohta G, Ohshima Y. : Carboxyhemoglobin Formation in Preterm Infants Is Related to the Subsequent Development of Bronchopulmonary Dysplasia. Dis Markers. 2015;2015:620921. doi: 10.1155/2015/620921. 査読あり

[学会発表](計 1 件)

徳力周子、奥野貴士、五十嵐愛子、巨田元礼、大嶋勇成 新生児慢性肺疾患モデルマウスにおける geranylgeranylacetone の肺傷害防御効果. 第 52 回日本周産期新生児医学会学術集会(2016 年 7 月 17 日、ANA クラウンプラザホテル富山、富山市)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:

番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

徳力 周子 (TOKURIKI, Shuko)
福井大学・学術研究院医学系部門・助教
研究者番号：60510237

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()