

(第3号様式)

学 位 論 文 要 旨

氏 名 川崎 俊

論 文 名 催眠鎮静薬ブロムワレリル尿素の抗炎症作用

学位論文要旨

<はじめに>

我々は古典的催眠鎮静薬であるブロムワレリル尿素(BU)が lipopolysaccharide (LPS) 刺激によるマクロファージの活性化を抑制し、盲腸結紮穿孔による敗血症モデルラットの生存率を改善することを発見し、報告した。また、ラットパーキンソン病モデル、脳外傷モデル、マウスアトピー性皮膚炎モデル等に対しても、BUは顕著な治療効果を発揮することが分かっている。BUは JAK1-STAT1-IRF1 経路の活性化を抑制するが、これが唯一の薬理メカニズムなのかは不明である。本研究では、急性肺障害/急性呼吸窮迫症候群(ALI/ARDS)のラットモデルに対するBUの治療的有効性や、当該病態に深く関与する肺胞マクロファージの活性化抑制を確認した。BUの強力な抗炎症作用の分子メカニズムについて、ラットの一次培養マクロファージに加えて、マウスマイクログリア細胞株のBV2細胞を用いて解明を試みた。

<方法>

8-9週齢のオスWistarラットを用いた。濁度を1に調整した大腸菌(XL1-Blue MR)を経気管的に肺に注入しALI/ARDSモデルラットを作成した。無治療のC群(n=12)、術直後に超広域スペクトラムを持つカルバペネム系抗菌薬メロペネムのみを投与したAB群(n=10)、メロペネムとBUを投与したAB+BU群(n=10)、メロペネムと合成グルココルチコイドであるデキサメタゾン(DEX)を投与したAB+DEX群(n=10)の四群に分けて生存率を比較した。

また、ラットから採取した一次培養マクロファージおよびBV2細胞を用いてウエスタンブロットティング、定量的リアルタイムRT-PCR、一酸化窒素(NO)測定、ルシフェラーゼレポーターアッセイ、siRNAを用いたRNA干渉などの分子生物学的手法を用いてBUの効果および作用機序を検討した。

<結果>

ALI/ARDSモデルラットの実験では、大腸菌投与後48時間の生存率はC群30%、AB群40%、AB+DEX群60%であったのに対してAB+BU群100%となり、BUはDexより有意に優れた生存率改善

効果を示した。

in vitro 実験では、各種細胞において BU が LPS 刺激による NO や起炎症性サイトカインの産生を著しく抑制した。特に、LPS 刺激した BV2 細胞からの NO 産生に対しては、BU は DEX より遙かに強力に抑制した。LPS 刺激した細胞からの核タンパク質抽出実験やルシフェラーゼレポーターアッセイにより、BU は NFκB の核内移行や核内での NFκB-responsive element への結合を阻害しなかった。また、siRNA によって JAK1、STAT1、IRF1 をノックダウンした腹腔マクロファージに対し、BU は LPS 刺激による NO 産生を抑制しなかった。これらの結果から、BU は NFκB 経路には全く影響を与えず、JAK1-STAT1-IRF1 経路を抑制することで抗炎症作用を発揮すると考えられる。しかし、JAK1 阻害薬 (GLPG0634) は LPS 刺激による STAT1 のリン酸化を抑制するにも関わらず、NO 産生を抑制しなかった。つまり BU の抗炎症作用は JAK1 阻害だけでは説明がつかなかった。

一方 BU は、LPS 刺激した BV2 細胞において、p38 MAPK やその基質である MSK1 のリン酸化も弱いながら抑制することがわかった。p38 阻害薬 (SB203580)、MSK1 阻害薬 (SB747651A) はそれぞれ単独では LPS 刺激による NO 産生を抑制しなかったが、JAK1 阻害薬と同時に使用すると NO 産生を抑制した。また BU と p38 阻害薬、MSK1 阻害薬を同時に使用しても NO 抑制効果は増強しなかったが、JAK1 阻害薬と p38 阻害薬の併用では、相加効果がみられた。

これらから、BU の著しい抗炎症作用の一部は、JAK1-STAT1-IRF1 経路と p38 経路の抑制が合わさったものと考えられるが、さらに、その他の未解明なメカニズムが存在するものと考えられる。

<結語>

古典的催眠鎮静薬である BU には DEX をしのぐ強い抗炎症作用を持つことが明らかになり、ALI/ARDS モデルラットの生存率を大幅に改善させた。しかし、その強力な抗炎症作用をもたらす主要な薬理メカニズムはなお不明である。その解明は、全く新しい範疇の抗炎症剤の開発に結びつく可能性がある。また、BU は催眠鎮静薬として主に東アジアで 100 年以上にわたって使用され、自殺企図などによる急性中毒の報告はあるものの、DEX のような糖代謝異常や免疫抑制などの副作用が報告されていない。このように BU はヒトに対する安全性が確立された薬剤であり、新規の抗炎症薬として BU そのものを敗血症など重症炎症性疾患に応用しうると考えられる。

キーワード (3~5)	Nitric Oxide JAK-STAT pathway IRF p38 MAPK MSK1
-------------	---