

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	川崎 俊
審査委員	主査 増本 純也 副査 上野 修一 副査 高橋 光司 副査 竹下 英次 副査 村上 正基

論文名 催眠鎮静薬ブロムワレリル尿素の抗炎症作用

### 審査結果の要旨 (2,000字以内)

#### 背景と目的：

申請者らにより、催眠鎮静剤であるブロムワレリル尿素(以下BUと表す)が盲腸結紮による腸管穿孔性敗血症モデルラットの生存率を改善することが報告されているが、その詳細な作用機序は不明であった。そこで、本研究では、急性肺傷害/急性呼吸窮迫症候群(以下ALI/ARDSと表す)のラットモデルに対するBUの効果を確認し、その抗炎症作用の分子メカニズムを明らかにすることを目的として、ラット由来の初代培養マクロファージとマウスマイクログリア細胞株のBV2細胞を用いた作用機序の解明を試みた。

#### 材料と方法：

8-9週齢のオスWistarラットを用い、濁度を1に調整した大腸菌(XL-1-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)、術直後に広域スペクトラムを持つカルバペネム系抗菌薬である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シルコイドであるデキサメタゾン(以下DEXと表す)を投与したAB+DEX群(n=10)の4群の生存率を比較した。次に、ラットから採取した初代培養マクロファージおよびBV2細胞を用いてBUの効果および作用機序を解析した。

#### 結果：

ALI/ARDSモデルラットの実験では、大腸菌投与後48時間での生存率はC群30%、AB群40%、AB+DEX群60%だったのに対してAB+BU群100%となり、BUはDEXより優れた生存率改善を示した。BV2細胞を使った実験で、BUはLipopolysaccharide(以下LPSと表す)刺激によるBV2

細胞からの NO や炎症性サイトカインの産生を抑制した。一方で、NF- $\kappa$ B の核内移行や核内の NF- $\kappa$ B-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 BU を加えても、LPS 刺激による NO 産生を抑制しなかった。一方で、BV2 細胞において、JAK1 阻害薬が 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。加えて、LPS 刺激した BV2 細胞において、p38 阻害薬、MSK1 阻害薬は、単独で LPS 刺激による NO 産生を抑制しなかったが、BU と JAK1 阻害薬を同時に使用すると NO 産生の抑制が認められた。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乗作用が認められた。

#### 結論：

催眠鎮静薬である BU には抗炎症作用がある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。この BU の抗炎症作用には少なくとも JAK-STAT1 軸と p38-MAPK 軸の抑制が関わっていることが明らかになった。

#### 意義：

BU は催眠鎮静薬として 100 年以上にわたって使用されており、安全性の確立された薬剤である。DEX で見られる糖代謝への影響や免疫抑制などの副作用は報告されていないため、副作用の少ない抗炎症薬として、敗血症をはじめ多くの炎症性疾患に応用できる。今後、新しいタイプの抗炎症剤の開発に結びつく可能性が期待できる。

#### 審査結果：

本研究に関する公開審査会は平成 29 年 1 月 4 日に開催された。申請者から研究内容が英語で口頭発表された後に、審査委員から本研究に関連する以下の質問がなされた。1) BU の効果はヒトでの常用量と比べてどうか 2) 100 年以上使用されている BU で新規の薬理作用が見つかったのは偶然か 3) TNF $\alpha$  とその他のサイトカインの定量 PCR で有意差を確認した時間の違いがみられるのはなぜか 4) 半減期や副作用の観点から慢性炎症に対する臨床応用に向けた問題はないか 5) NF- $\kappa$ B の結果と TNF $\alpha$  の結果に乖離があるのはなぜか 6) JAK1/STAT1/IRF1 を介する抑制系は不完全であり、この系のみで BU の効果を説明することは難しいのではないか 7) Rotenon というフェニルプロパノイド系化合物と比較しただけで、経路が同じとした証拠は不十分ではないか 8) 単剤だけのコントロールがないのは不十分ではないか 9) BU は経口投与が通常だが、今回のような皮下注で問題はないか 10) 図表に説明の不十分な点があるがどう考えるか 11) 投与量について説明が不十分な点があるがどう考えるか 12) 病理組織学的検討はされているのか、など、多方面からの試問が行われた。これらに対して申請者は、質問の意図を十分に理解した上詳細かつ明解に応答した。審査委員は一致して本論文を高く評価し、博士(医学)の学位論文に値するものと結論した。