

## 学位論文の要約 (研究成果のまとめ)

氏 名 菊池 聡

学位論文名 睡眠鎮静剤であるブロムワレリル尿素投与の敗血症治療効果  
: JAK1 阻害との関連

---

### 学位論文の要約

敗血症は重症患者にとって死亡の原因となりうる重篤な病態である。今回我々は睡眠鎮静剤であるブロムワレリル尿素 (BU) が lipopolysaccharide (LPS) で刺激したラットマクロファージのシグナル伝達において Janus kinase 1 (JAK1)/Signal transducer and activator 1 (STAT1) シグナル伝達阻害効果を持つことを発見した。BU が LPS 刺激されたマクロファージの炎症性サイトカインの産生抑制効果を持つことから敗血症の新規治療薬としての可能性を考え盲腸結紮穿刺 (CLP) ラット敗血症モデルで治療効果を検討した。

### 方法と結果

CLP ラット敗血症モデルで 7 日間の生存率を検討した。BU 非投与群での死亡率が 85%であったのに対し BU 投与群では 50%と有意に死亡率を改善させた。また CLP 施術後 24 時間で血液検査を行い臓器損傷の程度や炎症性サイトカインの産生を検討した。BU 投与群で有意に血清 IL-6 の産生を抑制し、腎機能の指標となるクレアチニンの上昇を抑制し、血液ガス検査で酸素化能を改善した。BU の作用機序の検索としてラット腹腔マクロファージと肺胞マクロファージに LPS と interferon- $\gamma$  (INF $\gamma$ ) を刺激物質として用いシグナル伝達を検討した。BU は LPS 刺激で起こる inhibitor of Nuclear factor- $\kappa$ B (I $\kappa$ B) の減少を抑制しなかった。I $\kappa$ B の減少と TANK-binding kinase 1 (TBK1) のリン酸化は STAT1 のリン酸化と interferon regulatory factor 1 (IRF1) の増加以前に起こるが、BU は LPS 刺激による STAT1 のリン酸化の抑制と IRF1 発現増加が確認されたサンプルで TBK1 のリン酸化を抑制しなかった。一方で BU は INF $\gamma$  刺激を加え急速に起こる STAT1 のリン酸化を抑制した。また、腹腔マクロファージで JAK1, STAT1 と IRF1 の siRNA を用いてそれぞれノックダウンを行い LPS 刺激を加えて翌日に上澄液の nitrite concentration (NO) の測定を行った。非特異的 siRNA を加えた系では NO の産生を有意に抑制していたのに対し JAK1, STAT1 と IRF1 をノックダウンした系においては NO の産生を抑制しなかった。JAK には JAK1, JAK2, JAK3 と Tyrosine kinase 2 (Tyk2) がある。腹腔マクロファージでは mRNA を見る限りでは JAK1, JAK2 を発現しており。また JAK2-STAT5 シグナル伝達を導く gr

anulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) 刺激を加えても BU は STAT5 のリン酸化を抑制しなかった。このことから BU は JAK1-STAT1 に特異的に作用するものと思われた。  
考察

LPS によって導かれる炎症シグナルは 2 段階に分けて引き起こされていると考えられる。最初のステップは NF- $\kappa$ B の核内移行である。2 段階目は JAK1-STAT1 の活性化によって起こると考えられる。これらの一連の流れはどの段階でも治療の標的となりうると思われるが、これまでの研究で Toll Like Receptor4 の阻害薬であるエリトランは臨床試験で治療効果が得られなかった。一方で IFN $\gamma$  欠損マウスや STAT1 欠損マウスでは敗血症に対し抵抗力を持つことが報告されている。我々の研究結果も 2 段階目の阻害が敗血症の治療に有益である結果を示唆している。以上より JAK1/STAT1 の活性化の阻害は敗血症治療のターゲットと思われ、プロモワレリル尿素が敗血症の新規治療薬の候補となりうると思われた。なおこの学位論文の内容は、以下の原著論文に既に公表済みである。

主論文 : Satoshi Kikuchi, Tasuku Nishihara: The ameliorative effects of hypnotic bromvalerylurea in sepsis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 459:319-326, 2015 DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.02.111.

参考文献 : M. S. Rangel-Frausto, D. Pittet: The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *JAMA* 273:117-123, 1995 DOI: 10.1001/jama.1995.03520260039030.