

(第3号様式)

学位論文要旨

氏名 菊池 聡

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

学位論文要旨

はじめに

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。敗血症の制御には病原の除去と同様に免疫応答の制御が重要だと思われる。多くの薬剤が敗血症の治療薬として試されてきたが、現在まで有効な薬剤は存在しない。今回我々は古くから使われている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今までは知られていない 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様々な炎症性サイトカインの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孔 (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、バイタルサインの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、乳酸の産生を抑制した。バイタルサインでは収縮期血圧の低下を抑制した。CLP 施術後 8 時間での小腸を観察すると BU 非投与群では小腸の発赤と腫脹が見られたが BU はそれを改善させていた。また回腸末端を免疫染色したところ BU 非投与

氏名 菊池 聡

群ではパイエル板に多くの炎症性細胞の集積が見られたのに対しBUは集積を抑制していた、また漿膜面にリン酸化STAT1陽性細胞が多く見られたがBU投与群ではリン酸化STAT1陽性細胞が減少していた。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- γ (INF γ)を刺激物質として用いシグナル伝達の解析をウェスタンブロット法やリアルタイムRT-PCRで時間経過を加味して検討した。BUはLPS刺激で起こるinhibitor of Nuclear factor-kB(IkB)の減少を抑制しなかった。IkBの減少とTANK-binding kinase1(TBK1)のリン酸化はSTAT1のリン酸化とinterferon regulatory factor1(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 γ 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 kinase2(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granulocyte 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。このことから腹腔マクロファージでは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-kb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。この2つのステップをIFN γ が中継をしているのではないかと思われた。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。またMyD88欠損マウスではCLP敗血症で死亡率が増加する報告がある。一方でIFN γ 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、ブロモワレリル尿素が敗血症の新規医療薬の候補となりうると思われた。

キーワード (3~5)	敗血症 ブロモワレリル尿素 JAK1阻害
-------------	----------------------------