

学 位 論 文 要 旨

氏 名 西岡 龍太郎

論 文 名

マウス敗血症モデルにおけるアドレナリン $\beta 2$ 受容体を介した循環血液中 B 細胞数・好中球数の変化

学位論文要旨

【背景】

敗血症は治療困難な病態であり、死亡率は非常に高い。病原体の侵入に対して免疫系が反応し、高強度な全身性の起炎症反応を起こすことから、長らく全身性炎症反応症候群と同義に扱われ、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 などの起炎症サイトカインの制御が試みられてきた。しかしながら、近年では IL-10 などの抗炎症性サイトカインの関与やリンパ球のアポトーシスなど、免疫不全を引き起こす可能性についてより多くの注目が集まる様になっている。私は、盲腸結紮穿孔(Cecum ligation and puncture; CLP)によって作成するマウス敗血症モデルにおいて、B 細胞がモデル作成後 2 時間というごく短時間で大きく減少することに気づいた。また、ほぼ同時に好中球は急速に増加していた。CLP 施行後、2 時間での血球数の変動は、CLP による細菌播種の結果とは考えにくく、そのメカニズムの解明を目指すこととした。

【材料と方法】

C57/BL6 マウス、オス 8~9 週齢を用いた。CLP はマウス右下腹部腹壁を切開し、盲腸を体外に取り出し、23 ゲージ注射針にて二箇所穿孔、閉創した。偽 CLP 群では腹壁切開後、盲腸を体外に取り出すのが、穿孔せず閉創した。処置後、0、1、2、3、4、6 時間後に心臓穿刺により採血した。副腎摘出を行った群は偽 CLP の一日前に副腎摘出術を行った。ノルアドレナリン、アドレナリン、フェニレフリン($\alpha 1$ アゴニスト)、ICI118,511(ICI; $\beta 2$ アンタゴニスト)、クレンブテロール($\beta 2$ アゴニスト)、ナドロール(脳移行性のない β 受容体アンタゴニスト)、AMD3100(ケモカイン受容体 CXCR4 阻害薬)を皮下または腹腔内投与し、交感神経系の関与を検討した。血球数を全血算分析装置で解析し、白血球分画をフローサイトメトリーにより分析した。脾臓を採取して全 RNA を調製、cDNA を合成後定量的 RT-PCR による mRNA 発現の変動を調べた。動物実験については、愛媛大学動物実験員会から承認を受け実施した(承認番号: 05-U-37-1)。

氏名 西岡龍太郎

【結果】

CLP 後 1~2 時間で、有意な末梢血中 B 細胞の減少と顆粒球（主に好中球）の増加が観察された。大腸菌等の細菌感染の結果とは考えられない非常に急速な変化であるため、手術侵襲によるストレス反応の可能性を疑い、腹腔内への大腸菌播種を伴わない偽 CLP 手術をおこなった。その結果、偽 CLP でも CLP と同等の急速な B 細胞数の減少と好中球の増加が観察された。次に、選択的 $\beta 2$ アンタゴニストである ICI の投与を事前に行い、CLP、偽 CLP を行なったところ、B 細胞の減少、好中球の増加は有意に抑制された。また $\beta 2$ アゴニストのクレンブテロールを投与したところ、CLP 後の変化と類似する B 細胞の減少や好中球の増加が観察された。脳移行性のない β アンタゴニスト、ナドロールでも ICI 投与とはほぼ同じ結果が得られた。さらにアドレナリン投与でも同様の結果を得たが、ノルアドレナリンや $\alpha 1$ アゴニストのフェニレフリンでは、有意な変化は生じなかった。事前に副腎摘出をおこなってから偽 CLP を行うと、B 細胞数・好中球数の変化は大幅に抑制された。B 細胞や好中球の血液中への動員と関連するケモカイン受容体の CXCR4 mRNA の脾臓での発現を調べたところ、偽 CLP やクレンブテロールで発現が上昇し、副腎摘出で発現変化が抑制されることが判明した。また、CXCR4 阻害剤である AMD3100 投与で、偽 CLP による B 細胞減少や好中球増加が抑制された。

【考察】

CLP モデルでは、ごく早期から B 細胞の減少や好中球の増加が生じることは知られており、敗血症における免疫不全や免疫系の暴走に関連すると考えられている。この末梢血の変化は、細菌をはじめとする敗血症の原因となる病原体が Toll 様受容体などを介して引き起こすものと考えられてきた。しかしながら、今回の研究では、病原体が関与しないと考えられる極めて早期から、偽敗血症モデルマウスで類似の変化を生じること、この変化はアドレナリン $\beta 2$ 受容体を介して生じること、副腎由来のアドレナリンが関係していること、ケモカイン受容体の CXCR4 が関与していることを示した。したがって、CLP という手術侵襲により交感神経が活性化、副腎からのアドレナリン放出が促進し、 $\beta 2$ 受容体を介して CXCR4 の発現が増大して、B 細胞のホーミング、好中球の末梢血中への動員が促進されたものと考えられた。

【結論】

手術侵襲などのストレス負荷により交感神経活動が亢進して、副腎髄質からアドレナリン放出促進が生じ、免疫系に大きな影響を与えることが判明した。一方、 α 作用が中心とされるノルアドレナリンは末梢白血球数に大きな影響を与えることはなく、敗血症治療等において循環管理のために安全に使用できると考えられた。

キーワード（3～5）	敗血症、交感神経系、B細胞、好中球、カテコラミン
------------	--------------------------