

氏名	なかたじゅんや 仲田純也
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第532号
学位授与年月日	平成18年3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Oral administration of geranylgeranylacetone improves survival rate in a rat endotoxin shock model: administration timing and HSP70 induction (ラットエンドトキシンショックモデルにおけるゲラニルゲラニルアセトン経口投与による生存率の改善: 投与タイミングと熱ショック蛋白70の発現)
学位論文審査委員	(主査) 豊島良太 (副査) 山田一夫 石部裕一

学位論文の内容の要旨

全身性炎症反応症候群 (systemic inflammatory response syndrome; SIRS) や多臓器不全 (multiple organ failure; MOF) は敗血症の主な直接死因であり、敗血症の治療ではこれらをいかに予防するかが重要な課題である。SIRS の病態は炎症性サイトカインと窒素酸化物 (nitric oxide; NO) の産生増加によってもたらされると考えられている。一方、実験的に敗血症に先立って熱ストレスを与えて熱ショック蛋白 (heat shock protein; HSP) を誘導すると、様々な臓器障害が軽減し生存率が改善すると報告されている。したがって、HSP 誘導は SIRS や MOF に対する魅力的な治療戦略であるが、多くの HSP 誘導剤はその毒性や副作用のため臨床応用が困難である。

ゲラニルゲラニルアセトン (GGA) は抗胃潰瘍薬として重大な副作用の報告もなく臨床使用されており、HSP 誘導剤としても知られている。そこで、本研究ではエンドトキシンショックモデルに対する GGA の効果を検討することを目的として行った。

方法

エンドトキシンショックモデルは雄性 Sprague-Dawley ラットにリポ多糖類 (lipopolysaccharide; LPS, 20mg/kg) を腹腔内注射して作製した。LPS 注射前に GGA (200 mg/kg) を投与 (4, 8, 16, 24 時間前、以下 G4, G8, G16, G24 群) した群と vehicle のみを投与した群 (V 群)、GGA (100, 200, 400 mg/kg) 単独投与群および無処置群 (C 群) に分けて、生存率や下記の物質の動態を検討した。GGA 前投与群は LPS 注射 6 時間後に、GGA 単独投与群は

投与 8、16、24 時間後に血液と臓器（心、肺、肝、腎）を採取した。そして、血漿中の ALT、AST、サイトカイン（tumor necrosis factor- α ;TNF- α 、interleukin-6;IL-6、macrophage inflammatory protein-2;MIP-2）、BUN、NO の濃度を測定し、各臓器内の HSP70 の発現をウェスタンブロット法で解析した。さらに、GGA 前投与のさらに 1 時間前に HSP70 阻害薬であるケルセチン（200 mg/kg）を投与し、生存率を比較した。

結果

- (1)LPS 注射 24 時間後の生存率：V 群の生存率は 30%であった。G8 群と G16 群ではそれぞれ 100%、80%であった。ところが、G4 群と G24 群の生存率は V 群と差はなかった。
- (2)血漿中の炎症性サイトカイン、NO, ALT, AST, BUN の濃度：V 群では TNF- α , IL-6, MIP-2, NO は C 群の 5 倍以上に増加していた。G8 群と G16 群では TNF- α と IL-6 の増加は V 群に比べて有意に抑制されていた。一方、G4 群と G24 群では抑制はみられなかった。NO 濃度は G4 群、G8 群、G24 群で有意に抑制されていた。ALT, AST は V 群では C 群の 6 倍以上に増加したが、G8 群、G16 群、G24 群では著明に抑制されていた。BUN は G8 群のみに有意な抑制がみられた。
- (3)GGA 単独投与による HSP70 の誘導：GGA 投与 8 時間後から心臓、肝臓、腎臓で HSP70 が誘導された。心臓の誘導量は GGA の濃度依存性に増加したが、肝臓、腎臓では 200 mg/kg で最大であった。
- (4)GGA 前投与による HSP70 の誘導：V 群でも HSP70 を誘導したが、これに比べて G8 群と G16 群の心臓と肺臓、そして G8 群の肝臓での発現は有意な高値であった。
- (5)HSP70 阻害薬ケルセチンによる生存率の変化：ケルセチンにより G8 群における 24 時間生存率は、100%から約 40%へ低下し、GGA による生存率改善効果はほぼ消失していた。

考察

GGA を LPS 注射の 8、16 時間前に投与することにより、生存率が劇的に改善することが判明した。しかし、4、24 時間前の投与では改善はみられず、保護効果の発現には投与タイミングが重要であると考えられた。生存率改善は TNF- α 、IL-6 および NO の産生抑制によってもたらされ、GGA が抗炎症作用を有する可能性が示唆された。さらに、GGA は HSP70 の発現を有意に増強すること、そして HSP70 阻害薬ケルセチン投与によって生存率は低下することが確認された。これらの結果は、GGA による LPS 注射後の生存率改善メカニズムとして、HSP70 の誘導がサイトカイン抑制を介して関与していることを示唆していると考えられた。

結論

ラットエンドトキシンショックモデルにおいて、LPS 注射前に最適のタイミングで GGA 投与を行った場合、多臓器において HSP70 の発現が増強し、炎症性サイトカインおよび NO の産生が抑制され、その結果 LPS による臓器障害を軽減し、生存率改善に結びつく可能性が示唆され

た。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究はSDラットを用いてエンドトキシンショックモデルを作製し、抗胃潰瘍薬であるゲラニルゲラニルアセトン(GGA)経口投与により、その生存率の改善と多臓器保護効果を調べたものである。その結果、LPS処置前に最適のタイミングでGGAの経口投与を行った場合には、HSP70の発現が多臓器において増強され、炎症性サイトカインおよびNO産生を抑制し、さらに臓器障害が軽減され、生存率改善に結びつく可能性が示唆された。本論文の内容は、GGAの単回経口投与によるLPS処置ラットに対する生存率改善効果を示し、そのメカニズムを解明したものである。これらの結果は、GGAがHSP誘導により多臓器障害を軽減する有用な治療薬であることを示唆したものであり、集中治療医学の分野で、明らかに学術水準を高めたものと認める。