

論文内容要旨

Pharmacological and genetic inhibition of translocator protein 18 kDa ameliorated neuroinflammation in murine endotoxemia model

(Translocator protein 18 kDa の薬理的および遺伝的阻害はマウス内毒素血症モデルにおける神経炎症を改善する)

SHOCK, 2020, in press.

主指導教員：志馬 伸朗教授

(医系科学研究科 救急集中治療医学)

副指導教員：相澤 秀紀教授

(医系科学研究科 神経生物学)

副指導教員：廣橋 伸之教授

(原爆放射線医科学研究所 放射線災害医療研究センター)

副指導教員：中島 覚教授

(自然科学研究支援開発センター)

副指導教員：浦邊 幸夫教授

(医系科学研究科 スポーツリハビリテーション学)

儀賀 普嗣

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

敗血症関連脳症 (SAE) は、直接的な中枢神経系 (CNS) 感染に起因しない、敗血症に関連するびまん性脳機能障害である。SAE は、せん妄から昏睡まで幅広い重症度の意識障害を引き起こすことが知られており、敗血症の診断基準を満たさないほどの急性期の軽度意識障害から長期の認知機能障害に至るまで長期間にわたり影響を与えることがわかっている。SAE の発症機序は依然不明だが、早期診断や予防および治療介入の方法の開発が望まれている。

これまでの研究で、全身炎症がミクログリアを活性化し炎症誘発性メディエーターの放出を引き起こすことや、活性化ミクログリアが敗血症関連せん妄において重要な役割を果たすことが報告されており、ミクログリア活性化の分子メカニズムを解明することは SAE を理解する一助となる可能性がある。また、トランスロケータータンパク質 18kDa (TSPO) は、ステロイド産生およびサイトカイン放出や酸化ストレスなどの炎症に関与するミトコンドリアタンパク質で、ミクログリアなどの免疫細胞で発現が増加するため、CNS の炎症バイオマーカーとして注目を集めている。

この研究では、TSPO 阻害が SAE の病態を改善できると仮定し、全身性炎症モデルとしてリポ多糖 (LPS) マウスモデルを用いて、脳におけるサイトカイン発現および TSPO 発現、ミクログリア活性化、自発運動活性について調べた。

8~12 週齢の C57BL/6J の雄野生型マウスおよび雄 TSPO ノックアウトマウス (TSPOKO) を使用した。全ての野生型マウスには LPS もしくは同量の生理食塩水を腹腔内投与した。また、腹腔内投与の 4 日前から TSPO アンタゴニストである ONO-2952 (ONO) もしくはその vehicle (Veh) を投与した。TSPOKO マウスには LPS 腹腔内投与を行った。これらの組み合わせで、Veh + Saline 群、Veh + LPS 群、ONO + LPS 群、TSPOKO + LPS 群の 4 群にわけ、定量的ポリメラーゼ連鎖反応(qPCR)、免疫染色、腹腔内投与前後のオープンフィールド試験による行動実験の結果を比較した。

qPCR により、Veh + Saline 群と Veh + LPS 群の比較で、LPS 投与後 24 時間の海馬における *TNF- α* および *IL-1 β* の発現が優位に増加することを確認した。また、*TSPO* 発現も優位に増加していた。*TSPO* のサイトカインへの影響を調べるため、Veh + LPS 群、ONO + LPS 群、TSPOKO + LPS 群の比較を行った。ONO 投与により、*TSPO* 発現に差はなかったが、*TNF- α* および *IL-1 β* の発現の有意な低下を認めた。TSPOKO では、*TNF- α* の発現の有意な低下を認めたが、*IL-1 β* においては有意な低下を認めなかった。

Ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba1) の免疫染色の蛍光強度定量化により、Veh + Saline 群と Veh + LPS 群の比較で、LPS 投与後 24 時間の海馬において、ミクログリアが有意に活性化することを確認した。また、*TSPO* との 2 重染色の蛍光強度定量化により、活性化ミクログリアでの *TSPO* 発現が増加していることが分かった。*TSPO* のミクログリア活性化への影響を調べるため、Veh + LPS 群、ONO + LPS 群、TSPOKO + LPS 群の比較を行った。ONO 投与により、ミクログリア活性化および活性化ミクログリアでの *TSPO* 発現が有意に低下した。また、TSPOKO では、LPS 投与後もミクログリアの活性化が認められなかった。

LPS 投与前と投与後 24 時間のオープンフィールド試験の結果により、Veh + Saline 群と Veh

+ LPS 群の比較で、LPS 投与は自発運動活性を抑制することが分かった。TSPO の自発運動活性への影響を調べるため、Veh + LPS 群、ONO + LPS 群、TSPOKO + LPS 群の比較を行い、ONO 投与および TSPOKO によって自発運動活性は有意な改善を認めた。

qPCR の結果から TSPO 発現が炎症性サイトカイン増加と相関していることが明らかになった。一方で、ONO 投与や TSPO 遺伝子欠失は、サイトカインの産生を有意に抑制する抗炎症効果を示した。これらの効果は、オープンフィールド試験での自発運動の有意な回復と相関していた。組織学的分析では、ONO 投与や TSPO 遺伝子欠失が LPS によるミクログリア活性化を抑制したことが明らかになった。これらの結果は、TSPO が SAE マウスモデルで重要な役割を果たしていることを示唆している。今後、他の敗血症動物モデルやヒト敗血症において TSPO 活性をモニタすることで、SAE の分子メカニズムの理解を深めることができると考えられた。