




## 学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 号	氏 名	工藤 享祐
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	明田 淳一	
	副査氏名	重光 修	
	副査氏名	伊波 英克	
論文題目 Cepharanthine exerts anti-inflammatory effects via NF- $\kappa$ B inhibition in a LPS-induced rat model of systemic inflammation (セファランチンは LPS 誘発全身性炎症モデルにおいて NF- $\kappa$ B を阻害することで抗炎症作用を発揮する)			
論文掲載誌名 Journal of Surgical Research			
論文要旨 敗血症は各種臓器障害を惹起し致命的な転帰をとる場合が少なくない。このような全身性炎症反応症候群における病態悪化には TNF- $\alpha$ や IL-6 などの炎症性サイトカインが関与している。本研究では、植物由来の麦角アルカロイドのひとつであるセファランチン(CE)の免疫修飾作用に着目し、LPS 誘発全身性炎症ラットモデルに対する CE の病態改善効果を検討し、また培養細胞系を用いてその作用メカニズムを検討した。 Wister 系雄性ラットに LPS を静注することで全身性炎症モデルを作成し、コントロールとして生理食塩水を静注した。CE は LPS 投与前と LPS 投与 2 時間後に投与することで病態改善効果を検討した。病態の指標として、血清中の TNF- $\alpha$ と IL-6、NOx 量を経時的に測定し、さらに肺および肝臓組織の評価を HE 染色にて行った。また、マクロファージ系培養細胞を LPS で刺激し、上清中の TNF- $\alpha$ 、IL-6、NOx 量と細胞内シグナルである NF- $\kappa$ B 活性化に及ぼす CE の効果も検討した。 LPS 誘発全身性炎症モデルにおいて、CE 前投与群では LPS 投与後 3 時間目より、後投与群では LPS 投与後 9 時間目より TNF- $\alpha$ 、IL-6 の産生は有意に抑制された ( $p < 0.05$ )。NOx 量は両群とも LPS 投与後 9 時間目より有意に減少した ( $p < 0.05$ )。組織学的検討では、肺および肝臓における炎症細胞浸潤を中心とした臓器障害の程度は、LPS 単独投与群と比して CE を投与された両群において著明に改善されていた。培養細胞系の検討においては、CE は 1-100 $\mu$ g/ml の濃度において濃度依存性に上清中の TNF- $\alpha$ 、IL-6、NOx 量の遊離を抑制し、さらに I $\kappa$ B のリン酸化抑制を介して NF $\kappa$ B の活性化を抑制した。 今回の研究結果から、CE は LPS 誘発全身性炎症モデルにおける炎症性サイトカインと NOx の産生を抑制し、その作用機序として、細胞内シグナルである NF $\kappa$ B の活性化抑制が関与している可能性が示唆された。 本論文は CE が敗血症などの全身性炎症反応症候群の治療戦略として有用であることを明らかにしたもので、今後の臨床応用に重要な示唆を与える研究と考えられ、審査員の合議により学位論文に値するものと判定した。			

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 工藤 享祐

## 論 文 題 目

Cepharanthine exerts anti-inflammatory effects via NF- $\kappa$ B inhibition in a LPS-induced rat model of systemic inflammation

(セファランチンはLPS誘発全身性炎症モデルにおいてNF- $\kappa$ Bを阻害することで抗炎症作用を発揮する)

## 要 旨

## 緒言

最近の医学発達に伴い、集中治療領域での患者数は減少してきている。しかしながら、敗血症などに起因する全身性炎症反応症候群においては、各種臓器障害が生じる結果、更なる病態の悪化をもたらす、結果的に死にいたる場合も少なくなく、依然として致死率は高い状態である。このような全身性炎症反応症候群における病態悪化のメカニズムのひとつに、TNF $\alpha$ やIL6といった炎症性サイトカインの存在が知られている。また近年の研究において、炎症性サイトカインを制御することにより、患者死亡率を改善できる可能性がある。一方、セファランチンは植物由来の麦角アルカロイドのひとつであり、生体膜の安定化や抗アレルギー作用、免疫機構への関与など、様々な生理活性を有することが知られている。今回我々は、ラットを用いたLPS誘発全身性炎症モデルに対するセファランチンの炎症性サイトカインを中心とした病態改善効果について検討し、さらにセファランチン後投与での病態改善効果を検討した。また、セファランチンの抗炎症作用におけるメカニズムを明らかにするために、細胞培養系を用いてセファランチンの作用メカニズムの検討を行った。

## 研究対象及び方法

Wistar 系雄性ラット (250-300 g) を使用。無作為に以下の 5 群を作成した。1) 生理食塩水を腹腔内に投与した後、生理食塩水を静脈内投与した群、2) 生理食塩水を腹腔内に投与した後、LPS (7.5mg/kg) を静脈内投与した群、3) セファランチン (10 mg/kg) を腹腔内に投与した後、LPS を静脈内に投与した群、4) LPS を静脈内に投与した 2 時間後にセファランチン (10 mg/kg) を腹腔内投与した群、5) セファランチン (10 mg/kg) を腹腔内に投与した後、生理食塩水を静脈内に投与した群を作成した。その後、経時的に採血し、血清中の炎症性サイトカインである TNF $\alpha$ 、IL6 の測定ならびに血清中 NOx 量を測定した。さらに LPS 投与 12 時間後の、肺ならびに肝臓組織を HE 染色法にて評価した。また、マウスマクロファージ系細胞である RAW264.7 細胞に LPS 投与による刺激を与え、LPS 刺激細胞を作成し、培養 24 時間後の上清中の炎症性サイトカイン (TNF $\alpha$ 、IL6) 分泌能の変化と NOx 産生量の変化に対するセファランチンの効果を評価した。さらに、セファランチンを投与することでこの LPS 刺激細胞における細胞内シグナル (NF- $\kappa$ B 活性化、I $\kappa$ B、pI $\kappa$ B) がどのような影響を受けるかを検討した。

## 結果及び考察

LPS 誘発全身性炎症モデルにおいて、セファランチンを前投与することで、炎症性サイトカインである IL-6、TNF- $\alpha$  ならびに血清中 NOx 量が有意に減少した。また、後投与しても同様に、炎症性サイトカインは有意に減少した。組織学的検討においては、セファランチンを前投与することで、肺ならびに肝臓組織における臓器障害の程度が改善した。さらに、培養細胞において、セファランチンを投与することで、上清中の炎症性サイトカインおよび NOx の遊離はセファランチンの濃度依存性に抑制された。また、この抑制効果の機序として、セファランチンが I $\kappa$ B のリン酸化を抑制し、その結果 NF $\kappa$ B による各種サイトカインの転写が抑えられた可能性が示唆された。しかし、セファランチンが細胞内シグナル伝達のどの部分に作用するのは本研究では同定できず、今後更なる検討が必要である。

## 結語

セファランチンは LPS による全身性炎症反応の結果生じる肺障害および肝障害を軽減した。その、機序としてセファランチンによる NF $\kappa$ B の活性化抑制を介した炎症性サイトカインの産生抑制が示唆された。セファランチンは敗血症に伴う全身性炎症反応を制御する薬剤として臨床的有用性が期待されるかもしれない。