





学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・ 	第 299 号	氏 名	新宮 千尋
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	門 田 孝 一 	
	副査氏名	鍛 木 正 志 	
	副査氏名	高 橋 尚 彦 	
論文題目 EPCk1, a vitamin C and vitamin E analogue, reduces endotoxin-induced systemic inflammation in mice (EPC-K1 は、マウスにおけるエンドトキシン誘発性の全身性炎症反応を減弱する)			
論文掲載誌名 Journal of Surgical Research			
論文要旨 敗血症などの全身性炎症反応における各種臓器障害には、nitric oxide(NO)や high mobility group box 1(HMGB1)の役割が重要である。本研究では、臓器障害の標的である肝臓に着目し、強力な抗酸化物質である EPC-K1(vitamin C と vitamin E をリン酸で架橋した物質)が、LPS 誘発全身性炎症反応ラットモデルにおける NO や HMGB1 誘発肝障害を抑制するかどうかを検討した。またマクロファージ培養細胞系を用いてその作用メカニズムも検討した。 BALB/c 雄性ラットに LPS(10mg/kg)を腹腔内投与することで全身性炎症反応モデルを作成した。0.45%NaCl のみを投与した群を対照群とした。EPC-K1 投与群は、LPS 投与前と LPS 投与 2 時間後に EPC-K1(10mg/kg)を腹腔内投与した。各群における肝逸脱酵素、組織中の NO 濃度や iNOS と HMGB1 発現、および血清中の HMGB1 を測定し、さらに HE 染色にて肝臓組織の評価を行った。また、マクロファージ系培養細胞を LPS で刺激し、上清中の HMGB1 と nitrite 濃度および iNOS 発現に及ぼす EPC-K1 の効果も検討した。 LPS 誘発全身性炎症反応モデルにおいて、EPC-K1 前投与群において有意に生存率の改善効果がみられた(p<0.05)。EPC-K1 前投与群では、肝逸脱酵素、組織中の NO 濃度、iNOS と HMGB1 発現、および血清中の HMGB1 濃度はいずれにおいても有意に抑制された(p<0.05)。組織学的検討では、肝臓における好中球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 EPC-K1 前投与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、EPC-K1 は 0.001-1 μ M の濃度において濃度依存性に上清中の HMGB1 産生を抑制し、さらに 1 μ M の濃度で iNOS の発現と nitrite 産生を抑制した。 今回の研究結果から、EPC-K1 は LPS 誘発全身性炎症反応モデルにおいて NO および HMGB1 の産生を抑制し、肝機能障害をはじめとする全身性炎症反応を抑制している可能性が示唆された。 本論文は EPC-K1 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 新宮 千尋

論 文 題 目

EPC-K1, a vitamin C and vitamin E analogue, reduces endotoxin-induced systemic inflammation in mice

(EPC-K1は、マウスにおけるエンドトキシン誘発性の全身性炎症反応を減弱する)

要 旨

緒言

vitamin C と vitamin E をリン酸で架橋した物質である L-ascorbic acid 2-[3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-2H-1-benzopyran-6-yl]-hydrogen phosphatel potassium salt (EPC-K1) は、強力な抗酸化物質のひとつで、一分子内に、水溶性部分 (vitamin C) と脂溶性部分 (vitamin E) を併せ持っている。敗血症や重症炎症においては、サイトカインやフリーラジカルなど様々な物質が誘導されて細胞傷害性を発揮し、臓器の機能不全を引き起こすことが知られている。肝臓も標的臓器の一つであるが、その臓器障害の成り立ちには nitric oxide (NO) や high mobility group box 1 (HMGB1) が重要な役割を果たすとの報告がある。この NO や HMGB1 の発生には、様々なサイトカインやフリーラジカルが関与しており、また更に、NO や HMGB1 自体にも様々なサイトカインやフリーラジカルを誘導・産生する作用があるといわれている。そこで今回われわれは、強力な抗酸化作用を有する EPC-K1 が、様々なサイトカインやフリーラジカルに密接に関与す

る NO や HMGB1 の発生を抑制することにより、敗血症や重症炎症の際の臓器障害の程度を抑制するのではないかと考えた。

研究対象及び方法

マウス (BALB/c、雄性) を対照 (0.45%NaCl 投与) 群、lipopolysaccharide (LPS) 投与 (10mg/kg) 群、EPC-K1 処置 (EPC-K1 10mg/kg+LPS 10mg/kg) 群に分け、肝逸脱酵素、組織中の NO 濃度、血液中の HMGB1 濃度を測定し、また Hematoxylin and Eosin 染色による組織学的検討も行った。また、細胞培養系 (RAW264.7 cell line) において、LPS 誘発性の HMGB1 産生に対する EPC-K1 の抑制効果を、Western-blot 法等を用いて比較・検討した。

結果及び考察

LPS 投与群と比較して、EPC-K1 処置群では、肝逸脱酵素、組織中の NO 濃度、血液中の HMGB1 濃度、いずれにおいても有意な抑制がみられた。組織学的にも、LPS 投与によりみられた細胞質の空胞化や核の濃縮といった所見が、EPC-K1 処置により抑制されており、pathological score も有意に改善された。また、細胞培養系においても、EPC-K1 は、LPS 誘発性の HMGB1 産生を濃度依存性に抑制し、iNOS の発現も抑制した。

結語

マウスにおける LPS 誘発性敗血症モデルにおいて、EPC-K1 は、肝傷害を軽減した。in vivo、in vitro のいずれにおいても、NO と HMGB1 の産生を抑制することから、EPC-K1 による、新しい敗血症治療の可能性を示唆した。