

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2017) 第17巻:47-48.

平成27年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 9)インフルエンザ脳症の新たな分子標的療法の開発

高橋 悟

9) インフルエンザ脳症の新たな分子標的療法の開発  
Development of molecular targeted therapy for  
influenza encephalopathy

研究代表者 高橋 悟

**【目的】**

インフルエンザ脳症では、TNF- $\alpha$ などのサイトカインにより血管内皮細胞障害が惹起され、急速に進行する脳浮腫のために救命できない患者が存在する<sup>1,2)</sup>。脳低温療法を試み、有効であったという報告はあるが、まだ十分な根拠は得られていない<sup>3)</sup>。本研究では、インフルエンザ脳症の新たな治療法開発を目的とし、TNF- $\alpha$ による血液脳関門障害の分子メカニズムを解明する。また、TNF- $\alpha$ の作用に及ぼす温度の影響を検討し、急性脳症の臨床における体温管理指針の基礎データを提供する。

**【方法】**

血液脳関門が破綻される病態では、タンパク分解酵素 MMP-9 が中心的役割を演じている<sup>4)</sup>。本研究では、ヒト脳血管内皮細胞 (Cell Systems 社、米国) の

培養液中に TNF- $\alpha$  を添加し、MMP-9 の発現量を RT-PCR 法で、培養上清中に分泌された MMP-9 の酵素活性を Gelatin zymography で測定した。また、tight junction 構成蛋白の分解は、Western blot 法で claudin 5 の発現量を測定して評価した。TNF- $\alpha$  による MMP-9 活性化・血液脳関門障害へ及ぼす温度の影響は、培養温度を 37°C から 33°C に変化させて比較検討した。

**【結果】**

TNF- $\alpha$  は MMP-9 の活性化を介して血液脳関門障害を引き起こす。

TNF- $\alpha$  による tight junction 構成蛋白 (claudin 5) の分解は、MMP-9 の siRNA 存在下で抑制された。

TNF- $\alpha$  による MMP-9 活性化は JNK の活性化を介している。

MMP-9 遺伝子の転写調節領域には AP-1 や NF- $\kappa$ B の結合部位があるため、MAPKs (ERK1/2, p38MAPK, JNK)、NF- $\kappa$ B の各阻害薬を使用し、TNF- $\alpha$  による MMP-9 発現に及ぼす影響を調べた。JNK 阻害薬の存在下で、濃度依存的に MMP-9 発現が抑制された。

低温により TNF- $\alpha$  による MMP-9 活性化・血液脳関門障害は軽減する。

TNF- $\alpha$  添加後の培養温度を 37°C から 33°C に低下させると、MMP-9 発現量および培養上清中の MMP-9 酵素活性は低下して、claudin 5 の分解も抑制された。

**【考察】**

低温による血液脳関門の保護効果は、JNK の活性化抑制を介した MMP-9 分泌抑制によるものと考えられた (図 1)。急性脳症における脳低温療法の効果は、治療開始までの遅延時間が短いほど有効であることが知られている<sup>3)</sup>。JNK 抑制作用を有する薬物の早期使用が、インフルエンザ脳症の治療成績を改善する可能性がある。新たな脳浮腫治療薬の開発に向けて、小児への適応のある既承認薬からのスクリーニングは、有効な手段となるだろう。

**【文献】**

1) Ichiyama T, et al. Analysis of cytokine levels and NF- $\kappa$ B activation in peripheral blood mononuclear cells in influenza virus-associated encephalopathy. *Cytokine* 2004;27:31-37.

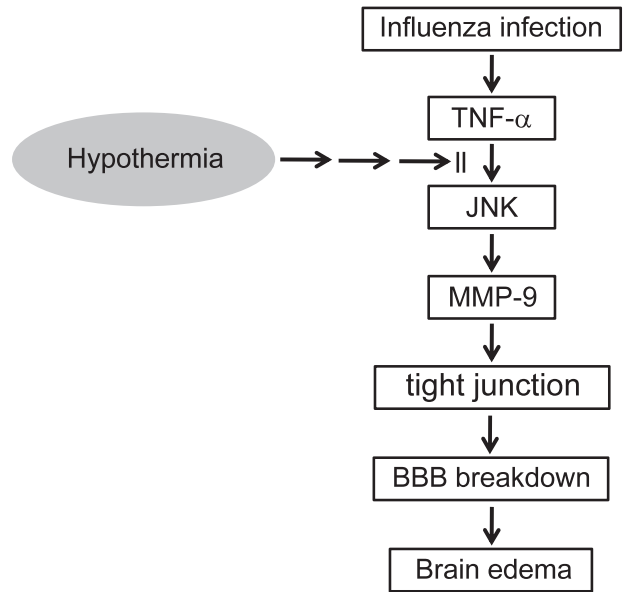


図 1 インフルエンザ脳症の脳浮腫に対する脳低温療法の作用機序  
インフルエンザ脳症では、TNF- $\alpha$  により JNK が活性化し、誘導された MMP-9 により tight junction 構成蛋白が分解され、血液脳関門が破綻する。低温療法は、TNF- $\alpha$  による JNK 活性化を抑制する効果をもつ。

2) Mizuguchi M, et al. Acute encephalopathy associated with influenza and other viral infections. *Acta Neurol Scand* 2007;115:45-56.  
3) Kawano G, et al. Determinants of outcomes following acute child encephalopathy and encephalitis: pivotal effect of early and delayed cooling. *Arch Dis Child*. 2011;96:936-941.  
4) Tsuge M, et al. Increase of tumor necrosis factor- $\alpha$  in the blood induces early activation of matrix metalloproteinase-9 in the brain. *Microbiol Immunol* 2010;54:417-424.