

Caspofungin suppresses zymosan-induced cytokine and chemokine release in THP-1 cells: possible involvement of the spleen tyrosine kinase pathway

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2021-03-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 伊藤, 和広 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10098/00028720">http://hdl.handle.net/10098/00028720</a>

## 学位論文の要旨

※ 整理番号		ふりがな 氏名	いとう かずひろ 伊藤和広
学位論文題目	Caspofungin suppresses zymosan-induced cytokine and chemokine release in THP-1 cells: possible involvement of the spleen tyrosine kinase pathway (Syk 依存性経路を介したカスポファンギンによるサイトカインおよびケモカイン産生修飾作用)		
<p><b>【研究の目的】</b></p> <p>感染症の重症化における機序にサイトカイン過剰産生が関与することが知られている。このため、これまでに抗菌薬の抗微生物作用に加え、免疫調整作用も注目され、検証されてきた。カンジダ症の重症化においてもサイトカイン産生過剰の関与が示唆され、重症化の抑止にサイトカイン制御の観点も重要と考えられる。近年、宿主免疫細胞の真菌感染症に対する免疫応答に spleen tyrosine kinase (Syk) の関与を示す報告があるが、抗真菌薬におけるサイトカイン制御作用については十分に解明されていない。</p> <p>抗真菌薬によるサイトカイン制御とその過程における Syk の関与について検証することを目的とする。</p> <p><b>【方法】</b></p> <p>単球系 THP-1 細胞を酵母真菌壁成分 zymosan で刺激し、キャンディン系およびアゾール系抗真菌薬を添加し、炎症に関わるサイトカイン・ケモカイン [tumor necrosis factor alpha (TNF-<math>\alpha</math>)、interleukin (IL) -1<math>\beta</math>、IL-6、IL-8、interferon gamma inducible protein (IP)-10、monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1)、macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1<math>\alpha</math>)、MIP-1<math>\beta</math>] の産生を enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) および multiplex assay により調べた。また、Syk 依存性経路における作用を Western blot により検証した。</p> <p>さらに、Syk 阻害薬 R406 を用いて、同様に zymosan 刺激 THP-1 細胞に添加し、ELISA による TNF-<math>\alpha</math> 抑制効果および Western blot による Syk 依存性経路の抑制作用を確認した。</p> <p><b>【結果】</b></p> <p>Zymosan 10 <math>\mu</math>g/mL で刺激した THP-1 細胞に、フルコナゾール (FLC)、ミカファンギン (MFG) およびカスポファンギン (CAS) を添加したところ、濃度依存的に TNF-<math>\alpha</math> 産生抑制を認めた。各抗真菌薬 30 <math>\mu</math>g/mL 添加時にコントロールと比較し、TNF-<math>\alpha</math> 中央値がそれぞれ CAS 42%、MFG 38%、FLC 82%まで低下し、アゾール系よりキャンディン系抗真菌薬において、TNF-<math>\alpha</math> 抑制効果が強かった。IL-6、IP-10 等もキャンディン系抗真菌薬は濃度依存的な抑制効果を示した。</p> <p>Western blot にて細胞内シグナル伝達経路を解析した。Zymosan による刺激は、細胞膜の Toll-like receptors (TLR) や C-type lectin receptors (CLR) を介し、Syk が活性化され細胞内シグナルを下流に伝達する。CAS は CLR 系では Syk およびその下流の蛋白として、p-38、extracellular signal-regulated kinase、c-Jun N-terminal kinase、inhibitor of nuclear factor kappa-B <math>\alpha</math>、nuclear factor of activated T-cells 1 のリン酸化および caspase-1 の活性化を抑制し、TLR 系では下流分子である IL-1</p>			

receptor-associated kinase (IRAK) 1, IRAK4, transforming growth factor-beta-activated kinase 1 のリン酸化を抑制した。さらに zymosan 刺激による THP-1 細胞における TNF- $\alpha$  産生および Syk とその下流分子の活性化は Syk 阻害薬によっても抑制されることを確認した。

#### 【考察】

これまでの抗真菌薬の免疫調整作用の報告では、Baltch ら (2012) はヒト由来単球にカンジダを感染させて刺激する実験系を用いており、CAS のサイトカイン産生抑制は抗真菌作用の関与の可能性を考慮する必要がある。また一方で、Wheeler ら (2006) は CAS が真菌壁の  $\beta$  グルカンを露出させることで、骨髄由来マクロファージの TNF- $\alpha$  産生が逆に増加したと報告している。これらの報告は、CAS の抗真菌作用と関連していると考えられ、免疫調整作用を検証する場合、抗真菌作用を区別して考える必要があることを示唆している。

今回、我々は特にキャンディン系およびアゾール系抗真菌薬について、抗微生物作用以外の免疫調整作用を検証するために、真菌由来物質にて非感染性の実験系を用いた。キャンディン系抗真菌薬はアゾール系抗真菌薬よりもサイトカイン産生抑制効果が強く、カンジダ感染の重症化における高サイトカイン状態をより効率的に抑制できる可能性がある。さらに、Western blot の検討により、CAS は Syk 依存性経路の活性化を抑制し、サイトカイン・ケモカイン過剰産生抑制に貢献することが示された。Zymosan 投与による非感染性炎症の動物モデルにおいて、Syk 阻害薬が炎症性サイトカインを抑制し低血圧や頻脈などショックに伴う状態を改善させることがすでに報告されており、真菌感染症の重症化に関して、CAS は抗真菌作用に加え、Syk 依存性経路の活性化抑制作用が加わることで、生体防御により有効に働く可能性があることが示された。

#### 【結論】

キャンディン系抗真菌薬 CAS に関して、Syk 依存性細胞内伝達経路を抑制し、サイトカイン・ケモカイン産生を制御することで、それらの過剰産生が抑制され、真菌感染症の重症化抑制を支持することが期待される。

- 備考
- 1 ※印の欄は、記入しないこと。
  - 2 学位論文の要旨は、和文により研究の目的、方法、結果、考察、結論等の順に記載し、2,000 字程度にまとめタイプ等で印字すること。
  - 3 図表は、挿入しないこと。