

2022年1月14日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

水素は活性化した好中球の NETs 産生を抑制し炎症反応を改善する

慶應義塾大学医学部内科学教室（循環器）の白川公亮訪問研究員と佐野元昭准教授と小林英司客員教授らの研究グループは、慶應義塾大学グローバルリサーチインスティテュート水素ガス治療開発センターの活動のなかで、水素が phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) やカルシウムイオノフォア A23187 で刺激した際の好中球細胞外トラップ (Neutrophil Extracellular Traps, NETs) の産生を抑制することを明らかにしました（注1）。さらに、マウスおよび高齢のマイクロブタ（注2）にリポ多糖 (LPS: Lipopolysaccharide) で敗血症を誘発した際に、水素吸入療法が、肺における NETs の産生を抑制することを確認しました。

NETs は、核内に存在した DNA やヒストン、細胞質の顆粒中に存在した好中球エラスターゼ、ミエロペルオキシダーゼなどの蛋白が結合した構造物です。細胞外に放出された NETs は、網目状に拡がって病原体を付着させ病原体を封じ込めることができますが、過剰に発動すると炎症や血栓症の増悪因子になります。

中国・武漢では、新型コロナウイルス肺炎の治療に水素吸入が採用され、重症化予防に一定の効果をあげたことが報告されました。一方、新型コロナウイルス感染患者の血液中の好中球は、より高いレベルの NETs を産生しており、肺の傷害や微小血管血栓の形成に深く関与していることが知られております。研究グループは、NETs 形成に着目して研究を行い、水素が活性化された好中球による過剰な NETs 産生を抑制することを発見しました。

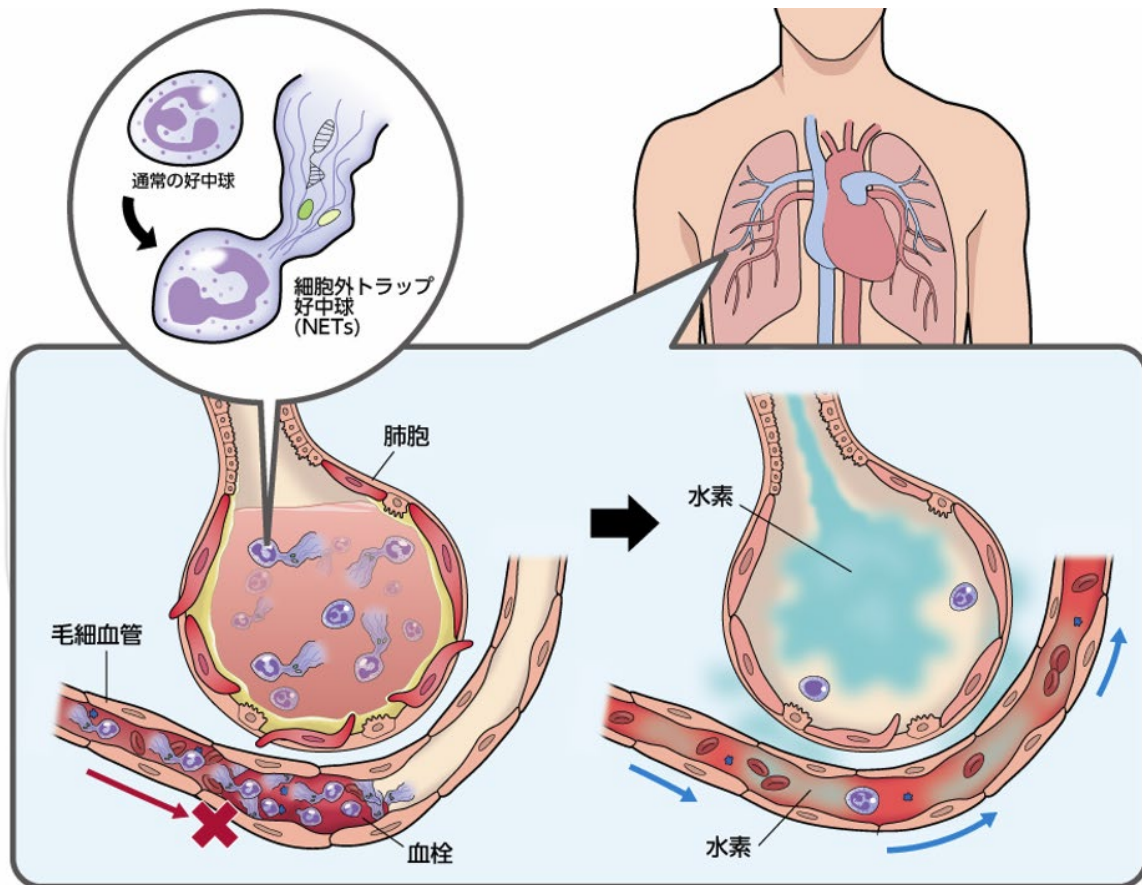
本成果は、2022年1月12日（英国時間）『JACC: Basic to Translational Science』電子版に掲載されました。

1. 研究の背景と概要

好中球細胞外トラップ (Neutrophil Extracellular Traps, NETs) は自己の核内の DNA を能動的に網目のように拡散し、細菌やウイルスなどの病原微生物をトラップすると同時に、DNA に付着する抗菌蛋白やヒストンで殺菌的に処理することで感染防御として働く自然免疫機構です。一方で、過剰に産生される、あるいはうまく分解されないなどの制御不全がおこると、炎症性疾患、自己免疫疾患、血栓性疾患につながる諸刃の剣となります。COVID-19 患者の微小血管内でも NETs が顕著に形成され、NETs の血管内凝集が、血管の急速な閉塞、微小循環の乱れ、および臓器損傷をもたらします。

中国・武漢では、新型コロナウイルス肺炎の治療に水素吸入が採用され、重症化予防に一定の効果をあげたことが報告されました。さらに、COVID-19 の中等症肺炎の患者を対象に多施設共同無作為化臨床試験が行われ、「水素ガスの吸入」が重症度と症状を改善することが示されました（参考文献1）。COVID-19 肺炎患者の好中球増加は予後不良を示唆してお

り、重症 COVID-19 肺炎患者の血液、気管支肺胞洗浄液、肺動脈には NETs の過形成が観察されております（参考文献 2-4）。研究グループは、COVID-19 患者の重症化に関係している NETs 形成に着目して研究を行いました。その結果、水素が、マウスと豚の LPS 誘発性敗血症モデルにおける肺動脈血液中および気管支肺胞洗浄液中の NETs 形成を抑制すること（図 1）、および、ヒト好中球の試験管内の PMA、Ca²⁺ ionophore による NETs 形成を強力に抑制することを見出しました（図 2）。

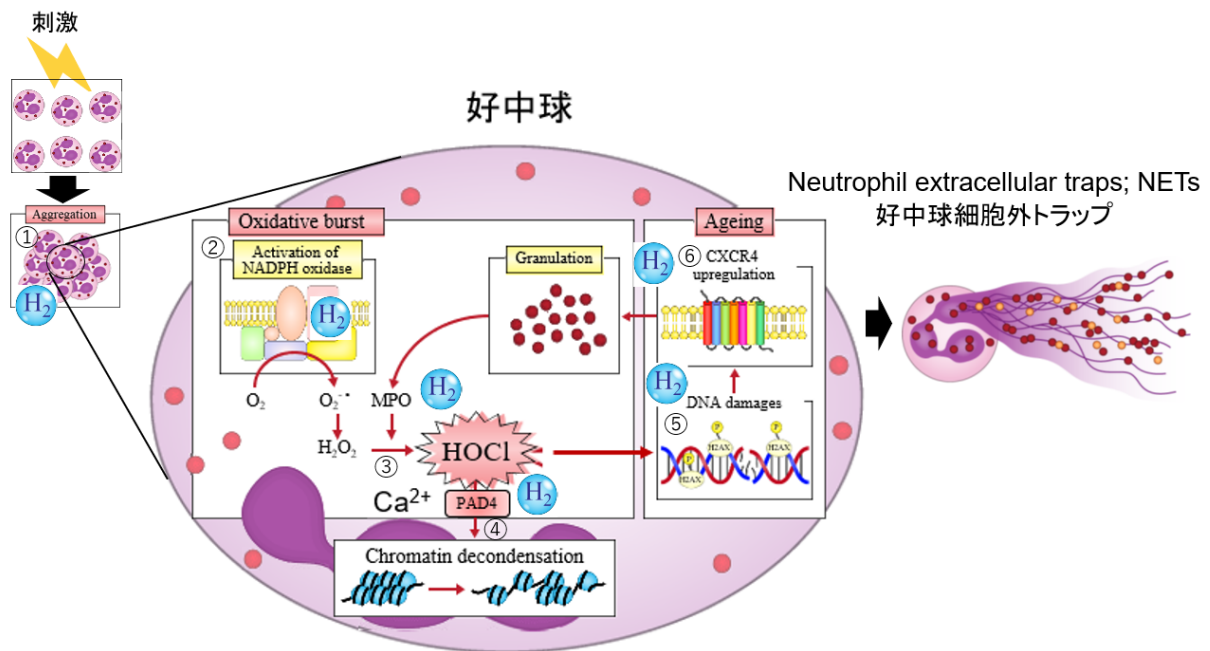


【図 1】水素は LPS 誘発性敗血症モデルにおける肺動脈血液中および気管支肺胞洗浄液中の NETs 形成を抑制する

肺が過剰免疫反応 NETs を介して悪影響を受ける機序として

1. 肺胞内へ侵入した好中球の NETs による肺胞構造の破壊
2. NETs による肺胞毛細血管内の微小血栓が想定される。

1. 肺胞内の NETs は、吸入によって肺胞内に直接入る水素が
2. 肺胞毛細血管内で詰まる NETs は、肺から取り込まれ血液に溶解して流れる水素がそれぞれ、抑制すると考えられる。



【図2】水素による抗NETs効果のメカニズム

刺激を受けた好中球が①凝集、②活性酸素を産生し、③Oxidative burst をおこして、④ペプチジルアルギニンデヒメナーゼ4 (PAD4) によるヒストンのハイパーシトルリン化によってクロマチンの脱凝集を引き起こす。細胞内でNETsが形成され、これが細胞外に放出される。さらに、水素は、⑤DNA損傷を抑え、⑥ミエロペルオキシダーゼ (MPO) などの抗菌タンパクを含んだ顆粒を豊富に含むCXCR4を高発現した好中球への成熟（老化）（注3）を阻害する。このように、水素は、NETs産生の様々なステップを阻害する。試験管内での水素の抗NETs効果は、抗酸化物質であるN-アセチル-L-システインやビタミンCよりも強力であった。

2. 研究の成果と意義・今後の展開

NETsは、敗血症やCOVID-19に伴う急性呼吸窮迫症候群や肺の微小血栓形成などの重篤な病態に関与しています。また、NETsは、急性心筋梗塞、深部静脈血栓症、肺血栓塞栓症、アテローム性動脈硬化症など、いくつかの心血管疾患の病因にも関与しています。

水素は、感染性疾患から非感染性疾患（Non-Communicable Diseases；NCDs；注4）生活習慣病炎症を改善することが、臨床でも動物実験でも示されてきましたが、その作用機序に関しては未だ十分には解明されていませんでした。

今回の研究によって、水素吸入療法がNETsの形成・放出や好中球の過剰な活性化を抑制し、炎症を改善するための有効な選択肢となり得ることが示されました。

3. 特記事項

本研究は、JSPS 科研費 JP18H02812、JP18K15197、JP19J00583、大陽日酸株式会社、株式会社ドクターズ・マンからの支援によって行われました。

4. 論文

英文タイトル : Hydrogen gas inhibits the formation of neutrophil extracellular traps

タイトル和訳 : 水素ガスは好中球細胞外トラップ形成を抑制する

著者名 : 白川公亮、小林英司、市原元気、北方 博規、勝俣義紀、菅井和久、袴田陽二、佐野元昭

掲載誌 : JACC: Basic to Translational Science (電子版)

DOI : 10.1016/j.jacbts.2021.11.005

【参考文献】

1. タイトル : Hydrogen/oxygen mixed gas inhalation improves disease severity and dyspnea in patients with Coronavirus disease 2019 in a recent multicenter, open-label clinical trial
掲載誌 : Journal of Thoracic Disease
DOI : 10.21037/jtd-2020-057.
2. タイトル : Vascular occlusion by neutrophil extracellular traps in COVID-19
掲載誌 : EBioMedicine
DOI : 10.1016/j.ebiom.2020.102925.
3. タイトル : Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps
掲載誌 : Journal of Experimental Medicine
DOI : 10.1084/jem.20200652.
4. タイトル : Neutrophil extracellular traps in COVID-19
掲載誌 : JCI Insight
DOI : 10.1172/jci.insight.138999.

【用語解説】

(注 1) PMA はプロテインキナーゼ C を直接活性化し、NADPH オキシダーゼによるスーパーオキシドアニオンの産生を強力に促す。スーパーオキシドアニオンは、過酸化水素、さらには、ミエロペルオキシダーゼの働きで、次亜塩素酸 (HOCl) を生成する。このプロセスは「Oxidative burst」と呼ばれる。Oxidative burst はペプチジルアルギニンデアミナーゼ 4 (PAD4) を活性化させてヒストンのシトルリン化を誘導し、ヌクレオソームの結合を減少させ、全体的なクロマチンの脱凝集を引き起こす。細胞内で NETs が形成された後、細胞のエンベロープが破壊され、NETs が細胞外に放出される。Ca²⁺イオノフォアである A23187 は、細胞内の Ca²⁺濃度を上昇させ、直接 PAD4 を活性化する。A23187 で誘発された NETs は、PKC 阻害剤や ROS (活性酸素) スカベンジャー、や MPO 阻害剤を投与しても抑制されない。水素ガス処理した培地中では、PMA で刺激された好中球のみならず、A23187 で刺激された好中球でも NETs 形成は抑制された。

(注 2) 通常、ブタの実験では 30 kg 前後の体格のブタが使われますが、一般の家畜ブタは生後 3 か月でヒトの 10 歳程度の年齢です。今回の研究では、年齢が行っても大きくならない特殊なミニブタを 5 年飼育した段階で実験しました。ヒトで言うと 50 歳前後の方の免疫能を有していると考えられています。

(注3) 骨髄で作られたばかりの好中球より老化した好中球 (CXCR4 を高発現) の方が、NETs を産生しやすいことが知られている。

(注4) 非感染性疾患：非感染性疾患には、循環器疾患、がん、糖尿病、呼吸器疾患、うつ病など、感染症以外のさまざまな疾患が含まれる。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

「研究全体について」

慶應義塾大学医学部 内科学（循環器）教室

准教授 佐野 元昭（さの もとあき）

TEL：03-5843-6702 FAX：03-5363-3875

E-mail：msano@keio.jp

<http://www.cpnet.med.keio.ac.jp/>

「高齢ブタモデルについて」

慶應義塾大学医学部 ブリヂストン臓器再生医学寄附講座

客員教授 小林 英司（こばやし えいじ）

TEL：03-5315-4090 FAX：03-5315-4089

E-mail：organfabri@a2.keio.jp

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学

信濃町キャンパス総務課：山崎・飯塚・奈良

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL：03-5363-3611 FAX：03-5363-3612

E-mail：med-koho@adst.keio.ac.jp

<http://www.med.keio.ac.jp/>

※本リリースのカラー版をご希望の方は【本リリースの発信元】までご連絡ください。