

一酸化炭素 (CO)/CO 遊離分子の急性肺傷害に対する治療薬としての可能性

高橋 徹

岡山県立大学保健福祉学部

Carbon monoxide (CO)/CO-releasing molecule (CORM) is a therapeutic target against acute respiratory distress syndrome induced by hemorrhagic shock and resuscitation (HSR)

Toru Takahashi

Faculty of Health and Welfare Science, Okayama Prefectural University

Abstract

HSR incites pulmonary inflammation that leads to acute respiratory distress syndrome (ARDS). However, there have been no definitive pharmacological therapies against ARDS. CO is a toxic gas due to the generation of carboxyhemoglobin (COHb). However, trace amount of CO is endogenously produced by the enzymatic reaction of heme oxygenase-1 (HO-1) that is induced by oxidative stress to confer protection against various inflammatory disorders. Recent studies have indicated that low dose of CO exerts potent cytoprotective effects on inflammatory organ damage in animal models by its anti-inflammatory property. We also demonstrated that CO inhalation at 250 ppm ameliorated HSR-induced pulmonary injury in rats. However, this dose of CO increased blood COHb level to approximately 20% that may be toxic to humans. Very recently, to overcome the disadvantage, CORMs have been developed by coordinating CO with a transition metal carbonyl complexes. Among various types of CORMs, CORM-3, a water-soluble CORM, spontaneously liberated and deliver CO to various tissues under physiological condition through intravenous administration. We found that CORM-3 treatment mitigated HSR-induced lung injury without any increase in blood COHb levels through its anti-inflammatory property. We propose that CO/CORMs are possible pharmacological agent to treat ARDS.

Endotoxin and Innate Immunity 21 : 62~65, 2018

Key words : ARDS, CORM-3, HO-1(Heme Oxygenase-1), CO, HSR (Hemorrhagic shock and resuscitation)

はじめに¹⁾

出血性ショックでは蘇生に成功しても過度な炎症反応から急性肺傷害 (Acute Respiratory Distress Syndrome : ARDS) に陥ることがある。ARDS に対する治療法として肺保護換気などの支持療法は存在するが、効果的な薬物療法はいまだ確立していない。近年、有毒ガスとして扱われる一酸化窒素、硫化水素、一酸化炭素 (CO) が、酵素反応により、生体内で微量ではあるが産生され、細胞保護的に働くことから、医療用ガスとしての応用の可能性が示唆されている。これらのガスのうち、CO は抗炎症作用を有することから、ARDS の治療薬としての可能性が考えられている。本稿では、CO

の性質について概説した後、われわれが作成した出血性ショック蘇生後 ARDS モデルに対して CO がもたらした治療効果について、最近、開発された CO 遊離分子を用いた研究成果を交えて述べる。

1. 一酸化炭素 (CO) の毒性²⁾

CO は、有機物の不完全燃焼によって生じる有毒ガスである。CO は酸素に比べてヘモグロビンに対する親和性が 200~250 倍高いことから、CO を吸入するとただちに CO-ヘモグロビン (COHb) が形成される。また、ヘモグロビンの一部が CO によって占拠されると酸素 (O₂)-ヘモグロビンから O₂ の遊離が阻害される。これらの効果によって組織は低酸素症に陥る。ヒトの血中

の COHb レベルは、喫煙や自動車の排ガスなど大気汚染がない状況では 0.1~1% である。しかし、CO ガスを誤って吸入することにより COHb レベルが 20% を超えると、めまい、頭痛などの中毒症状が現れ、50~80% になると意識障害を来し死に至る。

2. CO 生成酵素 : Heme Oxygenase-1 の ARDS に対する細胞保護作用³⁾

CO は有毒ガスであるが、生体内で微量に産生されている。すなわち、ヘモグロビン、ミオグロビンなどのヘム蛋白の補欠分子族であるヘムが分解される過程でその分解の律速酵素である heme oxygenase (HO) によって生成される。HO の誘導型のアイソザイムである HO-1 は基質であるヘムのみならず種々の酸化ストレスによって誘導される。誘導された HO-1 は ARDS モデルを含む種々の炎症・酸化ストレスによる臓器障害の動物モデルに対して抗炎症作用、抗アポトーシス作用を介して細胞保護効果を示すことが報告されている。私たちは雄性 SD ラット (体重 : 380~420 グラム) に対して、出血性ショック (平均血圧 30 mmHg/1 時間) に陥らせた後、蘇生を行うと肺の炎症反応が増強し ARDS が発生することを報告した。このモデルに、ヘムにアミノ酸のアルギニンを結合させて静脈内投与を可能にした Heme arginate を投与し肺に HO-1 を誘導したところ、肺の炎症反応が抑制され、肺傷害が軽減することを見出した。

3. 細胞内情報伝達物質としての低濃度 CO¹⁾

CO は上述したように、有毒ガスであるが、極低濃度では細胞内情報伝達物質として機能する。極低濃度 CO は、細胞内情報伝達系に作用し、血管拡張作用、抗細胞増殖作用、抗炎症作用、抗アポトーシス作用を示す。このうち、ARDS の治療に深く関与すると考えられる抗炎症作用と抗アポトーシス作用のメカニズムについて述べる。

3-1. CO の抗炎症作用¹⁾

CO は mitogen activated protein kinase (MAPK) を活性化させて抗炎症作用を現す。すなわち、LPS 刺激マクロファージに対して CO は p38 MAPK を介して抗炎症作用を示す。また、p38 MAPK 以外に、CO の抗炎症作用には Toll-like receptor (TLR) 経路の抑制、NADPH oxidase シグナルの抑制、PPAR- γ の活性化が関与していることが明らかとなっている。さらに、最近、CO は NLRP3-inflammasome 経路を抑制して抗炎症作用を示すことも報告された。

3-2. CO の抗アポトーシス作用¹⁾

CO はさまざまな細胞情報伝達系を介して抗アポ

トーシス作用を現す。TNF- α による細胞死に対しては p38 MAPK や NF- κ B シグナル経路を介して抗アポトーシス作用を示す。また、酸素ストレスに対する抗アポトーシス作用には STAT3 や phosphatidylinositol-3-kinase/Akt 経路および NADPH oxidase による ROS 産生抑制、Fas によるアポトーシス経路抑制の関与が報告されている。

4. 低濃度 CO 吸入による ARDS の改善効果

4-1. 出血性ショック蘇生前後の CO 吸入が蘇生後急性肺傷害に及ぼす保護効果⁴⁾

私たちが作成した出血性ショック蘇生後 ARDS は、組織障害度スコア (うっ血、浮腫、出血、細胞浸潤の 4 項目のスコアの総計) と肺浮腫の指標である Lung Wet/Dry 比の有意な上昇によって定量的にも確かめられた。また、炎症性転写因子である NF- κ B と AP-1 の活性、および炎症性メディエーターである TNF- α と iNOS の発現がともに上昇しており、肺組織の好中球浸潤度と Myeloperoxidase (MPO) 活性も増加がみられた。本モデルに出血性ショックの前 1 時間および後に 3 時間、250 ppm の CO を吸入させると、組織障害度スコアの改善、Lung Wet/Dry 比の有意な低下、炎症性転写因子活性および炎症性メディエーターの発現の抑制が認められ、好中球浸潤度や MPO 活性も低下していた。出血性ショック後 ARDS に対する蘇生前後の 250 ppm の CO 吸入は、転写因子活性の抑制による炎症性メディエーターのダウンレギュレーションを介して、炎症細胞浸潤を抑制して肺保護効果をもたらすと考えられた。

4-2. 蘇生後急性肺傷害に対する CO 吸入の治療効果⁵⁾

私たちは、ショック蘇生前後の CO 吸入が出血性ショック蘇生後 ARDS を軽減することを明らかにしたが、より臨床的な応用方法を考える場合、生体侵襲が加わった後に CO を吸入させることがより現実的である。そこで、私たちは、ショック蘇生後にのみ 250 ppm の CO を 3 時間吸入させて、ARDS に対する治療効果を検証した。その結果、CO は蘇生後投与でも肺傷害スコア、肺水腫の指標である Wet/dry 比を低下させた。また、肺組織の TNF α mRNA, iNOS mRNA レベルも減弱させ、アポトーシス細胞数の有意な減少も認められた。さらに、CO 吸入によって抗炎症性サイトカイン IL-10 の発現は有意に増加していた。以上より CO 吸入は抗炎症作用を介して蘇生後 ARDS に対して治療効果を示すことが示唆された。

5. CO 遊離分子の ARDS に対する保護作用

5-1. CO 遊離分子¹⁾

蘇生後 ARDS に対して治療効果を示す CO 濃度は 250 ppm と著しく低く、ラットでは、動脈血ガス分析で低酸素血症、代謝性アシドーシスを呈さず、組織学的にも低酸素状態に陥らなかった。しかし、血中 COHb 濃度は約 20% とラットでは何ら中毒症状を示さなかったが、このレベルの血中 COHb 濃度はヒトでは中毒症状を引き起こす可能性がある。近年、この CO ガスの毒性を回避するために、遷移性金属のカルボニル化合物が化学的 CO 供与体：CO 遊離分子 (CO releasing molecules: CORMs) として開発された。CORMs には構造によっていくつかの種類があり、CORM-1, CORM-2 は疎水性である。一方、CORM-3 は親水性であり、緩衝液に溶解すると溶液中にただちに CO を遊離する。すなわち、CO 吸入と異なり、血液 COHb 値を上昇させることなく、組織内に CO を運搬できることが CORMs の利点である。

5-2. CORMs の細胞保護作用¹⁾

CO 吸入と同様に CORMs は抗炎症作用を示すことが報告されている。CORMs は LPS 刺激によるマクロファージの炎症性サイトカインの産生を抑制する。また、血管内皮に対しては LPS 刺激による炎症反応と酸化ストレスを減弱させる。In vivo においても CORMs の抗炎症作用が報告されている。敗血症、熱傷マウスにおいて、CORMs の投与は NF- κ B の活性化、ICAM-1 の発現、白血球の浸潤の抑制を介して、全身性炎症反応を低下させる。また、CORMs の敗血症に対する保護効果には、Nrf2/AKT 経路を介するミトコンドリアの新生促進が関与することも報告されている。

5-3. CORM-3 の蘇生後 ARDS に対する保護作用

私たちは、蘇生後 ARDS モデルに対して蘇生終了直後に CORM-3 (4 mg/kg) を尾静脈より投与し、肺傷害にたいする効果を検討した。その結果、CORM-3 の投与によりうっ血、浮腫、細胞浸潤、出血で評価した組織障害スコアの著しい改善が認められた。また、それを裏付ける形で肺 wet/dry および気管支肺胞洗浄液の蛋白濃度が低下していた。また、炎症性メディエーターである TNF- α , iNOS, IL-1 β , MIP-2 の肺での発現も抑制されていた。一方、抗炎症性サイトカインである IL-10 の発現レベルは CORM-3 投与により上昇が認められた。さらに、TUNEL 陽性細胞数とカスパーゼ-3 の発現により、CORM-3 のアポトーシスに及ぼす影響を検討したところ、両指標とも CORM-3 投与により、有意な減少が認められた。以上より、CORM-3 は抗炎症・抗アポトーシス作用を介して蘇生後 ARDS を改善

することが示唆された。なお、CORM-3 の投与は出血性ショック蘇生モデルの血行動態、COHb レベルを含む動脈血ガス分析値に何ら悪影響を与えなかった。

6. ARDS 患者に対する CO 吸入の臨床試験⁶⁾

現在、米国で ARDS 患者に対する CO 吸入の第 1 相臨床試験が行われている。この試験の目的は Sepsis による気管挿管中の ARDS 患者に対する CO 吸入の安全性を評価することで、COHb レベル 6~8% を目安として 100 ppm または 200 ppm の CO 吸入を行う。主要評価項目は CO 吸入にともなう副作用であり、2 次評価項目として SOFA score, P/F ratio, 急性肺傷害スコア, ICU 滞在日数, 在院日数, 血漿の炎症マーカー, 肺胞上皮細胞傷害, 臓器障害マーカー, 筋肉のミトコンドリア新生のバイオマーカーが設定されている。

まとめ (図 1)

CO は有毒ガスであるが、HO のヘム分解反応によって体内で微量産生されており、誘導型の HO-1 は出血性ショック蘇生後 ARDS に対して肺保護的に働く。また、出血性ショック蘇生モデルへの低濃度 CO 吸入、CORM-3 の蘇生後投与は、ともに抗炎症作用・抗アポトーシス作用を介して蘇生後 ARDS を改善した。250 ppm の CO 吸入は血中 COHb レベルをヒトで有害効果をもたらすレベルまで上昇させたが、ラットに対して副作用はなかった。一方、CORM-3 の投与は血中 COHb レベルを上昇させることなく、CO 吸入と同等の ARDS 軽減効果をもたらした。ARDS に対する決め手となる治療法がない現在、米国で Septic ARDS に対する第 1 相臨床試験が行われている。良い結果が得られて第 2 相試験に進むことが待たれる。

謝 辞

本研究の遂行に多大なご支援を頂いた岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 麻酔・蘇生学講座の皆様へ深謝致します。

文 献

- 1) Ryter SW, Choi AM : Carbon monoxide : present and future indications for a medical gas. Korean J Intern Med 28 : 123-140, 2013
- 2) Gorman D, Drewry A, Huang YL, et al : The clinical toxicology of carbon monoxide. Toxicology 187 : 25-38, 2003
- 3) Takahashi T, Shimizu H, Morimatsu H, et al : Heme Oxygenase-1 is an Essential Cytoprotective Component in Oxidative Tissue Injury Induced by Hemorrhagic Shock. J Clin Biochem Nutr 44 : 28-40, 2009
- 4) Kanagawa F, Takahashi T, Inoue K, et al : Protective effect of carbon monoxide inhalation on lung injury

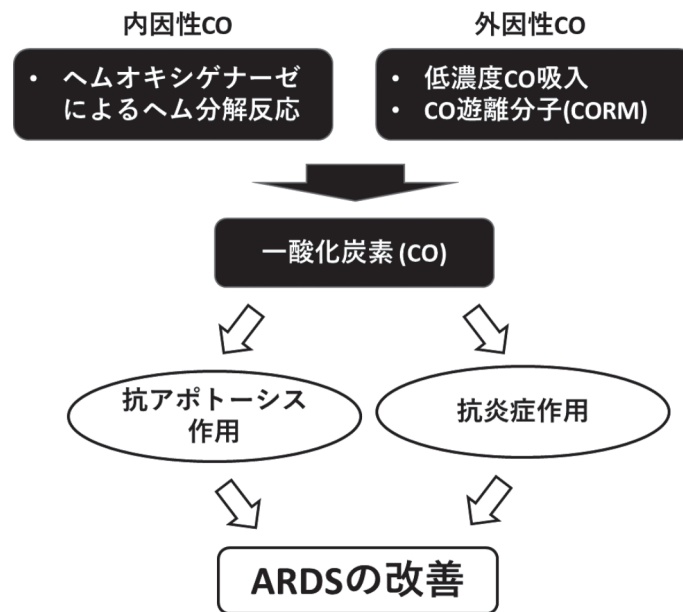


図 1 CO/CORMs の ARDS に対する治療薬としての可能性

after hemorrhagic shock/resuscitation in rats. J Trauma 69 : 185-194, 2010

5) Kawanishi S, Takahashi T, Morimatsu H, et al : Inhalation of carbon monoxide following resuscitation

ameliorates hemorrhagic shock-induced lung injury. Mol Med Rep 7 : 3-10, 2013

6) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02425579>