

# 敗血症下において脳内に浸潤した T 細胞は敗血症性脳症と うつ様症状の緩和に寄与する

齋藤 雅史<sup>1)</sup>, 井上 茂亮<sup>1)</sup>, 藤浪 好寿<sup>1)</sup>, 大野 雄康<sup>1)</sup>, 大山 正平<sup>2)</sup>, 小谷 穰治<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>神戸大学医学部医学研究科外科系講座災害・救急医学分野先進救命救急医学部門

<sup>2)</sup>同 内科系講座小児科学分野

## Infiltrated T cells in the brain contribute to attenuation of sepsis-associated encephalopathy and alleviation of anxiety-like behavior in septic mice

Masafumi Saito<sup>1)</sup>, Shigeaki Inoue<sup>1)</sup>, Yoshihisa Fujinami<sup>1)</sup>, Yuko Ono<sup>1)</sup>, Shohei Ohyama<sup>2)</sup>, Joji Kotani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Disaster and Emergency and Critical Care Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine

<sup>2)</sup>Department of Pediatrics, Kobe University Graduate School of Medicine

### Abstract

Emerging data suggest that sepsis survivors frequently experience long-term mental impairment after discharge. This is assumed to be caused by sepsis-associated encephalopathy (SAE); however, the relationship between the onset of long-term mental impairments and SAE is still unclear. In addition, several studies have revealed that the development of mental impairment results in neuroinflammation, which is induced by aberrant activated immune cells, including glial cells and T cells. However, it is still unclear how these immune cells contribute to the pathogenesis and attenuation of SAE. In this study, we performed animal behavioral tests and found that anxiety-like behavior was exacerbated in mice with sepsis. Furthermore, these mice had elevated levels of pro-inflammatory cytokines such as interleukin (IL)-1 $\beta$  in the brain, depending on the severity of sepsis. Interestingly, sepsis induced an increase in microglia and a decrease in astrocytes in mice during the acute/subacute phase; T cell numbers also increased in the brains of mice with sepsis. To investigate how brain-accumulated T cells influence the development of SAE and mental impairments, we treated mice with sepsis with FTY720 to inhibit recruitment. This immunomodulator delayed the recovery of anxiety-like behavior, and the number of astrocytes in the brain remained reduced during the chronic phase of sepsis in mice. Additionally, the expression of *Il1b* in the brains of FTY720-treated mice with sepsis had increased during the chronic phase. Our findings suggest that infiltrated T cells contribute to the attenuation of SAE and alleviate SAE-induced mental disorders by alleviating neuroinflammation in the chronic phase of sepsis.

Endotoxin and Innate Immunity 23 : 12~15, 2020

**Key words** : 敗血症, 敗血症性脳症, うつ, T 細胞

### はじめに

敗血症は、感染に対する制御不能な宿主応答に起因した生命を脅かす多臓器障害と定義される。敗血症はいまだ集中治療において最も死亡率の高い疾患の一つであるものの、先進国における敗血症患者の救命率は改善されている。そのため、敗血症は、患者の救命から長期予後の改善に着目した治療が求められるようになってきた。実際、敗血症患者の長期予後における重篤な認知症や精

神疾患の発症、あるいは運動機能の低下が新たな問題として認知され始めている。敗血症患者を含めた、集中治療を受けた患者に認められるこれらの症状は集中治療後症候群 (Post intensive care syndrome : PICS) と呼ばれており、退院後の患者の生活の質 (Quality of life : QOL) を著しく低下させる<sup>1)</sup>。とりわけ、敗血症患者は PICS が重篤化することが知られており<sup>2)</sup>、その対策は急務である。

近年、感染症に伴う脳炎が認知症や精神疾患の引き金

齋藤 雅史 神戸大学医学部医学研究科外科系講座災害・救急医学分野先進救命救急医学部門 〒650-0017 兵庫県神戸市中央区楠町 7-5-2

TEL : 078-382-6521 FAX : 078-341-5254 E-mail : msaito@med.kobe-u.ac.jp

となることが示されてきた。敗血症に認められる脳炎は敗血症性脳症 (Sepsis-associated encephalopathy : SAE) と呼ばれ、約 70% の患者に発症する。SAE は敗血症の予後不良因子であることから、適切かつ早期の介入が患者の予後を改善するためには必要不可欠であるが、その詳細な発症機序は不明であり、治療方法は確立されていない。われわれは、SAE の病態形成の解明が敗血症患者に認められる重度の精神疾患や認知症の発症機序解明および治療法の開発に貢献できると考えて、これまで研究を進めてきた。敗血症マウスを用いた研究結果から、われわれは SAE の病態形成やうつ様症状の発症と回復には、脳内で増加する T 細胞が重要であることを明らかにした。本稿では、精神疾患の発症と脳内の免疫細胞の関連性、敗血症時における免疫細胞の動態について概説した後、われわれの研究結果をもとに敗血症に伴ううつ様症状の発症と回復の機序について考察する。

## 1. 精神疾患の発症と脳内の免疫細胞

### 1-1. グリア細胞

グリア細胞は脳を構成する細胞群の一つであり、ミクログリア、アストロサイトおよびオリゴデンドロサイトの 3 種類に分類される。近年の研究から、脳内炎症の制御およびうつや不安障害をはじめとした精神疾患の発症機序におけるミクログリアとアストロサイトの重要性が示されている<sup>3)</sup>。ミクログリアは中枢神経系においてマクローファージ様の活性を示す免疫担当細胞であり、Interleukin (IL)-1 $\beta$  や IL-6, Tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  などの炎症性サイトカイン産生や貪食活性を示すことで炎症を惹起する。Steiner らの研究によると、うつ病や統合失調症、自閉症スペクトラム症の患者、さらには、自殺者の脳内でミクログリアの過剰な活性化が認められている<sup>4)</sup>。ミクログリアの過剰活性はニューロンの細胞死の誘導、正常な神経伝達の阻害、神経新生の傷害など、脳の恒常性維持にさまざまな障害を与える。一方、アストロサイトは最も豊富に存在するグリア細胞であるが、これまで神経細胞への栄養の運搬や脳の構成支持をしている細胞として知られていた。しかし、近年の研究から、この細胞が血液脳関門の維持に寄与することや、神経伝達物質の受容体を多く発現することなどが明らかにされてきており、脳の恒常性維持により本質的に関与すると考えられている。アストロサイトの機能不全は、精神疾患の発症にも関与している。アストロサイトはグリア伝達物質として Adenosine triphosphate (ATP) を産生するが、これは細胞内の Ca<sup>2+</sup> 依存的シグナルにより産生される。慢性ストレスの曝露により作製されたうつ病モデルマウスは対照群と比較して脳中の ATP 量は約 1/3 であることが示され、それは、ATP を腹腔内あるいは脳室から投与することでうつ様症状の改善が認められている<sup>5)</sup>。また、うつ病患者や自殺者の前

頭葉におけるこの細胞の減少が認められており、アストロサイトが精神疾患の病態形成において重要な役割を果たすことが示されている。

### 1-2. リンパ球

リンパ球には大別すると T 細胞と B 細胞があるが、これらの細胞と脳内炎症、あるいは精神疾患との関連性を示した研究は少ない。近年、アルツハイマー病などの神経変性疾患の患者における精神疾患の発症に、脳内に浸潤した病原性 CD8<sup>+</sup> T 細胞の関与が示唆されている<sup>6)</sup>。また、脳梗塞モデルマウスを用いた研究においては、慢性期の不安様行動の回復に脳内に浸潤した制御性 T 細胞が寄与していることが報告されている<sup>7)</sup>。このように、脳内に浸潤した T 細胞は疾患の時期やそのフェノタイプによって病態形成における役割が異なる可能性がある。

## 2. 敗血症時における脳内での免疫細胞の動態

では、敗血症罹患時、免疫細胞は脳内においてどのような挙動を示すのだろうか？ 敗血症において脳は最も早くダメージを受ける臓器の一つであることから、SAE は罹患後かなり早期に起こっていることが推測される。実際、敗血症モデルマウスを用いた研究において、発症から 24 時間以内で血液脳関門が崩壊し、末梢血中の好中球や炎症性単球の脳内への浸潤が認められている。SAE の主要病態である神経炎症はこれらの細胞により惹起されると考えられており<sup>8)</sup>、神経細胞やグリア細胞のアポトーシスを誘導する一方で、ミクログリアやアストロサイトを活性化し、脳内での炎症応答をさらに充進する。この結果、脳の恒常性が失われることとなる。

敗血症におけるミクログリアの過剰な活性化は、SAE の病態形成、さらには認知機能障害やうつ病の発症に致命的な役割を成すことが明らかにされている。抗菌薬の一種であるミノサイクリンは、*in vitro*, *in vivo* レベルでミクログリアの活性を抑制することが知られている。敗血症モデルラットにミノサイクリンを投与することで、脳内の炎症性サイトカインレベルの低下および血液脳関門の維持が認められ、さらには長期の認知機能の低下やうつ様症状が改善されることが報告されている<sup>9)</sup>。また、近年の研究から、ミクログリアに発現する CX3C chemokine receptor 1 (CX3CR1) の遺伝子変異が統合失調症などの精神疾患の発症に関連することが示された。ミクログリアは CX3CR1 を介してニューロンとコミュニケーションをとっており、CX3CR1 ノックアウトマウスに lipopolysaccharide を投与したエンドトキシンショックモデルを用いた研究では、うつ様症状の増悪が認められている<sup>10)</sup>。

敗血症に罹患すると末梢における T 細胞が減少することはよく知られており、また、ヘルパー T (Th) 細胞のバランスが崩れることも明らかにされている。しかし

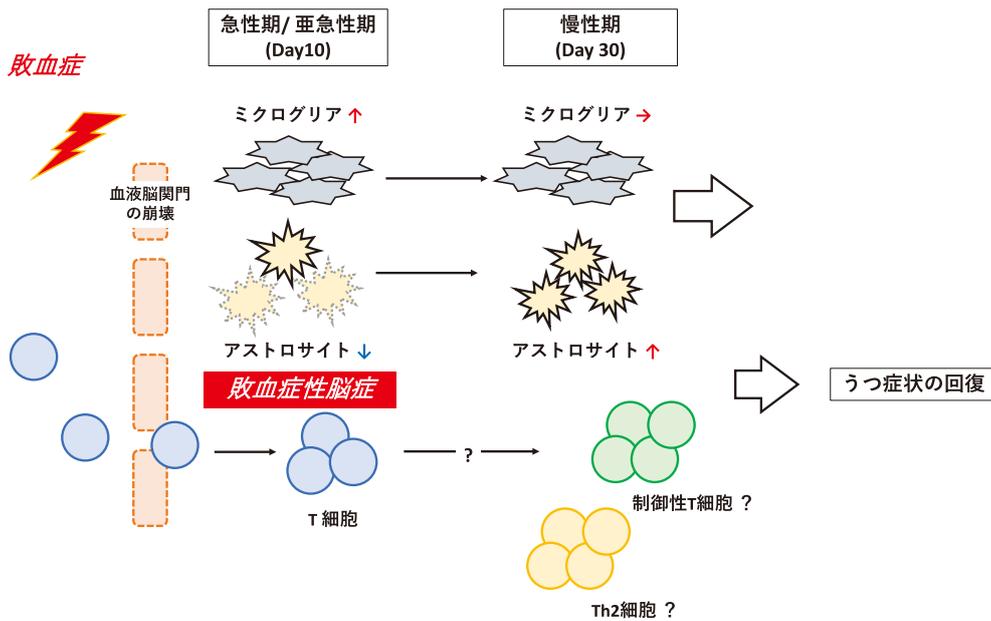


図 1 敗血症性脳症およびうつ様症状の発症と回復のメカニズムにおける T 細胞の役割

敗血症による脳炎は、罹患後、早い段階で認められ、脳の恒常性を破壊する。敗血症モデルマウスの脳において、敗血症重症度依存的に炎症性サイトカインの増加が認められ、ミクログリアの増加とアストロサイトの減少が認められた。また、脳内に T 細胞の増加も認められた。この T 細胞は、敗血症罹患から経過時間的に増加した。FTY720 の投与により、脳内への T 細胞の浸潤を阻害すると、マウスのうつ様症状の回復は遅れた。すなわち、脳内に浸潤した T 細胞は、敗血症性脳症により誘発されるうつ様症状の回復に寄与していると示唆された。

ながら、SAE の病態形成や、それに起因したうつ様症状、あるいは認知障害の発症に対する T 細胞の役割について調べた研究は極めて少ない。

### 3. 脳内に浸潤した T 細胞が敗血症性脳症およびそれに伴う不安様症状の回復に果たす役割

上記からも分かるように、SAE における T 細胞の役割はほとんど分かっていない。そこで、われわれは T 細胞が SAE の病態形成およびそれに伴う不安様症状の発症にどのような影響を与えるか検討するため、敗血症マウスモデルを用いて研究を進めてきた。これまでの研究から、敗血症を誘導して 10 日目において、敗血症の重症度依存的にマウスの脳中の T 細胞数の増加が認められ、また、炎症性サイトカインの増加が認められた (投稿中)。同時に、敗血症マウスにおいてミクログリアの増加とアストロサイトの減少が認められ、これはヒトのうつ病患者と類似した特徴であった。このマウスの不安様行動は、敗血症誘導から 1 カ月程度で回復した。この結果から、われわれは脳内で増加した T 細胞が敗血症後の不安様行動の回復に寄与していると考え、脳へのリンパ球の浸潤を阻害するために、敗血症マウスに対して FTY720 を投与した。その結果、敗血症を誘導して 30 日目において、FTY720 を投与した敗血症マウスの不安様行動の回復が遅延し、なおかつ、脳内の炎症も遷延して

いた (投稿中)。さらに、FTY720 を投与した敗血症マウスではアストロサイトは減少したままであり、ミクログリアにおける CX3CR1 発現も減少していた (投稿中)。以上の結果から、敗血症の慢性期において脳内に浸潤した T 細胞は、アストロサイトの回復に寄与し、脳の恒常性を回復することで、敗血症マウスの不安様行動の改善に寄与したと考えられた (図 1, 投稿中)。

### おわりに

SAE の病態形成や回復における T 細胞の役割についての研究は、まだ始まったばかりである。FTY720 は Sphingosine-1-phosphate receptor 依存的に作用するため、T 細胞と B 細胞の両方の体内循環を阻害する。よって、SAE 後のうつ様症状の回復に B 細胞も寄与している可能性が示唆される。また、T 細胞が脳内炎症の抑制に寄与したことから、制御性 T 細胞ないしは Th2 細胞であることが予測された (図 1, 投稿中)。今後は、敗血症モデルマウスの脳内で増加した T 細胞の表現型を明らかにする必要がある。さらに、興味深いことに敗血症下においてアストロサイトが増減することが示された。FTY720 の投与試験の結果から、脳内に浸潤した T 細胞が減少したアストロサイトの回復を促すことが示唆され、今後は、T 細胞とアストロサイトのクロストークに興味をもたれる。

先述したように, SAE は敗血症患者の予後不良因子であることから早期の適切な介入が必要である。SAE の病態形成および回復における T 細胞の役割を明らかにすることで, 敗血症患者の長期予後の改善に貢献したい。

## 文 献

- 1) Inoue S, Hatakeyama J, Kondo Y, et al. : Post-intensive care syndrome : its pathophysiology, prevention, and future directions. *Acute Med Surg* 6 : 233-246, 2019
- 2) Prescott HC, Angus DC : Enhancing Recovery From Sepsis : A Review. *JAMA* 319 : 62-75, 2018
- 3) Rial D, Lemos C, Pinheiro H, et al. : Depression as a glial-based synaptic dysfunction. *Front Cell Neurosci* 9 : 521, 2016
- 4) Steiner J, Gos T, Bogerts B, et al. : Possible impact of microglial cells and the monocyte-macrophage system on suicidal behavior. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 12 : 971-979, 2013
- 5) Cao X, Li LP, Wang Q, et al. : Astrocyte-derived ATP modulates depressive-like behaviors. *Nat Med* 19 : 773-777, 2013
- 6) Gate D, Saligrama N, Leventhal O, et al. : Clonally expanded CD8 T cells patrol the cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease. *Nature* 577 : 399-404, 2020
- 7) Ito M, Komai K, Mise-Omata S, et al. : Brain regulatory T cells suppress astrogliosis and potentiate neurological recovery. *Nature* 565 : 246-250, 2019
- 8) Andonegui G, Zelinski EL, Schubert CL, et al. : Targeting inflammatory monocytes in sepsis-associated encephalopathy and long-term cognitive impairment. *JCI Insight* 3 : e99364, 2018
- 9) Michels M, Vieira AS, Vuolo F, et al. : The role of microglia activation in the development of sepsis-induced long-term cognitive impairment. *Brain Behav Immun* 43 : 54-59, 2015
- 10) Corona AW, Huang Y, O'Connor JC, et al. : Fractalkine receptor (CX3CR1) deficiency sensitizes mice to the behavioral changes induced by lipopolysaccharide. *J Neuroinflammation* 7 : 93, 2010