

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：32620  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2016～2019  
課題番号：16K09878  
研究課題名(和文) CD26/DPP のHMGB1阻害による慢性GVHD発症防止のメカニズムの解明  
  
研究課題名(英文) Prevention of chronic GVHD onset by HMGB1 inhibition of DPP4  
  
研究代表者  
岩尾 憲明 (IWAO, NORIAKI)  
  
順天堂大学・医学部・准教授  
  
研究者番号：00309139  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではHMGB1(High Mobility Group Box1)が移植前処置で傷害されたレシピエント臓器から放出された後、自然免疫を活性化して炎症を起こし好中球や好酸球を標的臓器へ遊走させて慢性移植片対宿主病(graft-versus-host disease: GVHD)の病態進展に作用することが明らかになった。また、DPP のHMGB1抑制は直接的でなく間接的作用の可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
慢性移植片対宿主病(GVHD)の発症機序はまだ不明な点が多い。HMGB1によって引き起こされる自然免疫の活性化がGVHDの病態形成にかかわる可能性が明らかになったことは、GVHDの発症を抑制するための治療標的の探索につながる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that HMGB1 (High Mobility Group Box 1) was released from recipient organs damaged by preconditioning regimen, and activated innate immune system and cause inflammatory reaction. Then, it has been clarified that neutrophils and eosinophils migrate to target organs, and promote the progression of chronic GVHD (graft-versus-host disease). Inhibition of HMGB1 by DPP4 may have an indirect effect rather than a direct effect.

研究分野：血液内科学

キーワード：GVHD HMGB1 炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

同種造血幹細胞移植を受けた患者の約 40%に慢性移植片対宿主病(慢性 GVHD)が合併するとされており、重症化すれば治療成績に大きな悪影響を及ぼすが、まだ発症機序・病態には不明な点が多い。申請者は GVHD マウスモデル(J Immunol 2014)で活性化された CD26 陽性 T 細胞がエフェクターとなって標的臓器に浸潤して傷害し線維化を惹起することを明らかにした。しかし、抗 CD26 抗体の投与により標的臓器への炎症性細胞の浸潤は抑制されなかった。そのため慢性 GVHD での慢性炎症の病態形成に関与する何らかの因子が存在する可能性が考えられた。CD26 が DPP (Dipeptidyl Peptidase) 酵素活性を有することから、DPP の基質として報告されていた HMGB1(High Mobility Group Box1)に着目した。HMGB1 は核内蛋白質であるが、敗血症の致死因子として同定され、壊死細胞から放出されると炎症性メディエーターの作用を示し免疫細胞を活性化して炎症反応を誘導することが知られていることから HMGB1 は敗血症や外傷などの様々な炎症性の病態以外に GVHD の炎症反応や病態形成にも関与しているのではないかと考えた。そこで申請者が GVHD のマウスモデルで予備実験を行ったところ血清 HMGB1 が経時的に上昇していることを見出した。

## 2. 研究の目的

- (1) GVHD の炎症反応と臓器障害の病態形成には HMGB1 が関与する可能性を考えてマウスモデルを用いて HMGB1 の動態を解明する。
- (2) DPP の基質である HMGB1 の作用を阻害することによる GVHD の発症予防の可能性について検討する。

## 3. 研究の方法

- (1) レシピエントの B10.BR マウス(H-2<sup>k</sup>)へ抗癌剤投与(cyclophosphamide 120mg/kg ip, day -4, -3)と放射線照射(total 425cGy, day -2, -1)の前処置を行い、day0 にドナーの C57BL/6 マウス(H-2<sup>b</sup>)の骨髄細胞と脾細胞を輸注した。
- (2) GVHD を発症したマウスの血清中の HMGB1 濃度を ELISA で経時的に測定した。また、GVHD 発症マウスの肝臓、腸管、肺、脾臓を摘出し、各臓器での HMGB1 の mRNA の経時的な発現量変化を real-time RT-PCR で測定した。
- (3) GVHD を発症したマウスの標的臓器(肝臓、肺、腸管)を組織学的に検討し、炎症性細胞浸潤と GVHD 発症の経時的变化を観察した。
- (4) レシピエントのマウスに移植前処置の段階から抗 HMGB1 抗体を投与して炎症性細胞の浸潤抑制効果と GVHD 発症抑制効果について検討した。
- (5) DPP による HMGB1 作用の直接阻害効果を検討した。

## 4. 研究成果

移植前処置を受けたレシピエントマウスの肝臓の組織を抗 HMGB1 抗体で免疫染色を行い観察すると、細胞核から HMGB1 が放出される所見が著明であった。移植前処置では肺や肝臓では HMGB1 mRNA の発現量が増加し、腸管では移植後に HMGB1 mRNA の発現が増加した。血清の HMGB1 濃度の変化を調べると前処置直後の濃度は低値であり、移植後 1 週目から HMGB1 の濃度が上昇して 2 週目にピークを示した。その時期からマウスの体重減少や死亡が認められるようになり、GVHD の症状と HMGB1 の濃度が相関していると考

えられた。GVHD のエフェクター細胞はリンパ球であるが、移植後のレシピエントマウスの GVHD 標的臓器では肝臓で好中球、好酸球の浸潤が見られた。リンパ球浸潤は遅れて認められ、抗 HMGB1 抗体を投与したレシピエントマウスでは好中球の浸潤が減少したことから、HMGB1 が自然免疫を活性化して GVHD の発症に関与していると考えられた。DPP の基質である HMGB1 に対する直接の阻害作用 *in vitro* で確認できなかったことから阻害作用は何らかの間接的作用である可能性が考えられ、今後の検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 岩尾憲明 大沼圭 波多野良 大塚春奈 古宮栄利子 伊藤匠 森本幾夫	4. 巻 8
2. 論文標題 GVHDの発症と慢性炎症	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 別冊Bio Clinica	6. 最初と最後の頁 128-133
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩尾憲明、大沼圭、大塚春奈、波多野良、古宮栄利子、伊藤匠、森本幾夫
2. 発表標題 急性GVHDマウスモデルにおけるHMGB1の動態に関する検討
3. 学会等名 第40回日本造血細胞移植学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	大沼 圭  (Ohnuma Kei)  (10396872)	順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授    (32620)	