

令和 6 年 9 月 10 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09176

研究課題名（和文）組織障害性HMGB1に着眼した肺虚血再灌流障害に対する新規戦略の確立

研究課題名（英文）Therapeutic effects of anti-HMGB1 monoclonal antibody on lung ischemia reperfusion injury in mice

研究代表者

大谷 真二（OTANI, SHINJI）

愛媛大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：10770779

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：肺移植後に問題となる虚血再灌流障害(IRI)は、炎症により活性化された好中球等による血管内皮細胞の傷害が大きく寄与している。細胞障害などのストレスに伴い細胞から多様な炎症性タンパク質が放出され組織障害を助長するが、High mobility group box-1(HMGB1)はその代表格である。本研究の目的は、マウス肺虚血再灌流障害モデルにおいてHMGB1の動態と抗体投与による治療可能性を検証することであり、HMGB1の動態と抗体投与による虚血再灌流障害の抑制効果は示されたと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺移植後に問題となる虚血再灌流障害(IRI)は、炎症により活性化された好中球等による血管内皮細胞の傷害が大きく寄与している。細胞障害などのストレスに伴い細胞から多様な炎症性タンパク質が放出され組織障害を助長するが、High mobility group box-1(HMGB1)はその代表格である。申請者らはHMGB1過剰産生が肺IRIの一因であり、抗HMGB1抗体が肺移植後のIRIを抑え、肺移植の成績を向上させる可能性に着目し、マウス肺IRI/肺移植後IRIモデルと関連分子の評価系を用いて、肺IRIにおける抗HMGB1抗体が治療となりうる可能性を示した。

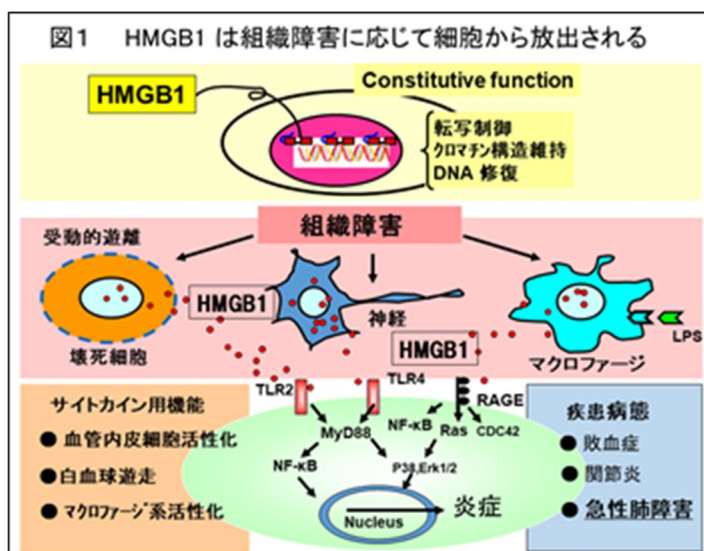
研究成果の概要（英文）： We assessed the therapeutic effect of a neutralizing anti-HMGB1 monoclonal antibody (mAb) on lung IR injury in mice. Anti-HMGB1 mAb ameliorated lung IR injury by reducing inflammatory responses and apoptosis. Our findings indicate that anti-HMGB1 mAb has potential for use as a therapeutic to improve IR injury symptoms during lung transplantation.

研究分野：肺移植

キーワード：虚血再灌流障害

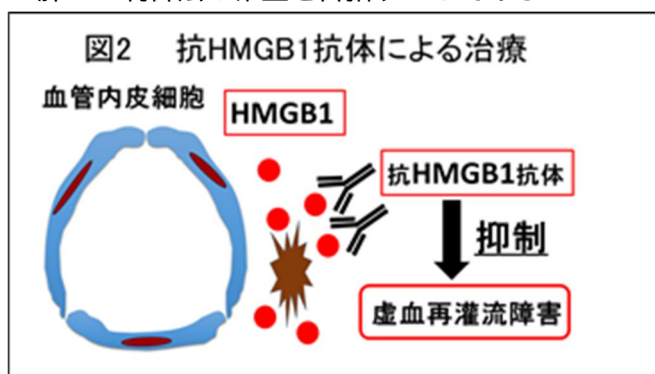
1. 研究開始当初の背景

肺移植後に問題となる虚血再灌流障害(IRI)は、炎症により活性化された好中球等による血管内皮細胞の傷害が大きく寄与している。細胞障害などのストレスに伴い細胞から多様な炎症性タンパク質が放出され組織障害を助長するが、High mobility group box-1(HMGB1)はその代表格であり、組織障害性の病態において治療標的となる可能性がある。申請者らはHMGB1 タンパク質に対し高い親和性と特異性を示す抗 HMGB1 抗体を独自に開発し、インフルエンザ肺炎を含む様々な疾患に対してその有効性を確認してきた。これらを踏まえ、申請者らは HMGB1 過剰産生が肺 IRI の一因であり、抗 HMGB1 抗体が肺移植後の IRI を抑え、肺移植の成績を向上させる可能性に着目した。



2. 研究の目的

本研究は、申請者らが確立しているマウス肺 IRI/肺移植後 IRI モデルと関連分子の評価系を用いて、肺 IRI における HMGB1 の役割を明らかにし、抗 HMGB1 抗体による肺移植時の新しい肺 IRI 制御法の確立を目指すことである。



3. 研究の方法

マウス肺虚血再灌流障害モデルにおいてHMGB1の動態と抗体投与による治療可能性を検証することである。マウス肺門クランプモデルにおけるHMGB1の動態、抗体投与による虚血再灌流障害の抑制、抗体投与による抗炎症効果、抗体投与によるアポトーシスの抑制についてそれぞれ研究を行った。HMGB1の肺IRIに及ぼす影響と治療効果を解析するため、病理組織(H&E、免疫染色、蛍光顕微鏡、Tunnel染色、caspase 3)、定量的PCR(サイトカイン、ケモカイン)、フローサイトメトリー(リンパ球サブセット)、ウェスタンブロッティング法等を用いて分析した。

4 . 研究成果

マウス肺門クランプモデルにおけるHMGB 1 の動態

HMGB 1 は通常核内に限局しているタンパクである。マウス左肺門クランプモデルにおいて、再還流後 2 時間までのHMGB 1 の血中濃度を測定したところ、HMGB 1 が時系列に沿って上昇することが確認された。また組織の免疫染色において、虚血再還流障害を加えた群では、HMGB 1 が核内よりむしろ細胞質で強く染色され、細胞障害性の刺激により核内から細胞質へ移動している様子が確認された。この現象はHMGB 1 抗体を投与することで抑制されたことから細胞障害によりHMGB 1 には自己分泌経路が出現し抗体投与によってその経路を停止させることができるのではないかと考えられた。

抗体投与による虚血再還流障害の抑制

HMGB1抗体を投与する事による虚血再還流障害の抑制効果を調べた。肺機能、組織障害の改善を生理学的、組織学的に確認することができた。

抗体投与による抗炎症効果

HMGB1抗体を投与するとサイトカインの産生が低下することが確認された。HMGB1はRAGEやTLRといったレセプターのリガンドであり、MAPKの経路を介しサイトカイン産生を行っているが、HMGB1抗体によりMAPKの経路が抑制されることが示された。

抗体投与によるアポトーシスの抑制

肺組織の細胞死を定量するため組織でのアポトーシスを検索した。虚血性再還流障害によるアポトーシスが抗体投与により抑制されていることが確認された。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Nakata Kentaro, Okazaki Mikio, Shimizu Dai, Suzawa Ken, Shien Kazuhiko, Miyoshi Kentaroh, Otani Shinji, Yamamoto Hiromasa, Sugimoto Seiichiro, Yamane Masaomi, Ousaka Daiki, Ohara Toshiaki, Matsukawa Akihiro, Nishibori Masahiro, Toyooka Shinichi	4. 巻 573
2. 論文標題 Protective effects of anti-HMGB1 monoclonal antibody on lung ischemia reperfusion injury in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 164 - 170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.08.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中田憲太郎ほか
2. 発表標題 抗HMGB1抗体による廃墟血再還流障害の抑制
3. 学会等名 第37回日本呼吸器外科学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakata K, et al
2. 発表標題 Anti-HMGB1 Monoclonal Antibody Ameliorates Lung Ischemia Reperfusion Injury in Mice
3. 学会等名 ISHLT 2021 Annual Meeting and Scientific Sessions
4. 発表年 2021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	山根 正修 (Yamane Masaomi) (20432643)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授 (15301)	
研究分担者	豊岡 伸一 (Toyooka Shinichi) (30397880)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	
研究分担者	杉本 誠一郎 (Sugimoto Seiichiro) (40570148)	岡山大学・大学病院・准教授 (15301)	
研究分担者	王 登莉 (WANG Dengli) (40815693)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教 (15301)	
研究分担者	西堀 正洋 (Nishibori Masahiro) (50135943)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・特命教授 (15301)	
研究分担者	岡崎 幹生 (Okazaki Mikio) (50467750)	岡山大学・医歯薬学域・准教授 (15301)	
研究分担者	三好 健太郎 (Miyoshi Kentaroh) (50534773)	岡山大学・大学病院・助教 (15301)	
研究分担者	阪口 政清 (Ousaka Daiki) (70379840)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------