

令和 6 年 5 月 3 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17930

研究課題名（和文）霊長類マーマセットを用いた脳内出血治療法の開発と基盤となるHMGB1動態の解析

研究課題名（英文）Application of anti-HMGB1 mAb in intracerebral hemorrhage-induced brain injury in common marmoset and elucidation of HMGB1 translocation mechanism

研究代表者

王 登莉（WANG, Dengli）

岡山大学・医歯薬学域・助教

研究者番号：40815693

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：脳内出血（ICH）は有効な治療法がない重大な医療問題だ。HMGB1が炎症性サイトカインとして機能することが知られている。以前の研究で、抗HMGB1モノクローナル抗体がラットのICHモデルで脳損傷を顕著に改善したため、臨床用のヒト化抗体（OKY001）を開発した。この研究では、ヒト化抗体がHMGB1の放出を阻害し、鉄の蓄積と脳損傷を減少させたこと、またヘモグロビンの毒性効果を遅らせる可能性が示された。さらに、体重減少を抑え、行動性能を向上させる効果が確認され、ICH治療の新たな戦略としての可能性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究は脳内出血（ICH）の治療法開発に新たな道を示し、HMGB1をターゲットとした治療が脳損傷を減少させる可能性を明らかにした。効果的な治療法が患者の生活の質を向上させ、医療費の削減や社会復帰の促進に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：Intracerebral hemorrhage (ICH) is a critical medical issue without effective treatment. High mobility group box-1 (HMGB1) acts as an inflammatory cytokine when released from cell nuclei. Prior research showed that anti-HMGB1 monoclonal antibody (mAb) significantly reduced brain damage in a rat ICH model, leading to the development of a humanized version (OKY001) for clinical use. This study tested the humanized mAb in marmosets, finding that it blocked HMGB1 release and reduced brain iron deposition, oxidative stress, and brain injury size 12 days post-ICH. It also hindered hemoglobin uptake by macrophages, delaying the clearance of hemoglobin and its toxic byproducts. Additionally, it mitigated weight loss and enhanced behavioral outcomes post-ICH, suggesting its potential as a new ICH treatment.

研究分野：薬理学

キーワード：抗体治療 脳出血 HMGB1

1. 研究開始当初の背景

脳内出血は全世界で見られる重篤な医療問題であり、死亡率と障害の高い原因となっている。脳出血は、脳内に突然出血が起こり、周囲の脳組織が損傷して、重篤な健康障害を引き起こす。特に、出血が原因で発生する二次的脳損傷は、患者の予後を大きく左右する要因とされている。治療方法に関しては、主に支持療法が行われており、血圧の管理、凝固異常の調整、血糖のコントロールなどが含まれる。しかし、これらの治療は症状の管理に過ぎず、脳出血後の回復を促進する具体的な治療法はまだ FDA から承認されていない。これまでの臨床試験では、最小侵襲手術や血腫の清掃、鉄キレート療法、血小板機能不全の調整、てんかんの管理など、さまざまなアプローチが試みられてきましたが、これらの治療が臨床成果を改善することはほとんどなかった。このような現状から、脳出血後の二次的脳損傷を効果的に抑制できる新たな治療法の開発が急務とされている。

この問題に対処するため、我々の研究チームは、特定の分子標的、特に High Mobility Group Box1 (HMGB1) に焦点を当てた新しい治療アプローチの可能性を探っている。HMGB1 は脳炎症と二次的脳損傷の増幅に関与しており、この分子を標的とすることで脳出血の治療効果が向上する可能性がある。

2. 研究の目的

(1) ヒト化抗 HMGB1 モノクローナル抗体の脳損傷軽減効果の検証：

研究の主目的は、ヒト化抗 HMGB1 モノクローナル抗体がマーモセットの脳内出血モデルにおいて脳損傷をどのように軽減するかを明らかにすることだった。具体的には、この抗体が脳から血漿への HMGB1 の放出を抑制し、その結果として炎症マーカーの減少や脳内の鉄沈着の減少を引き起こすかどうかを検証した。

(2) 二次的脳損傷メカニズムの解明：

本研究は、HMGB1 が脳出血に伴う二次的脳損傷にどのように関与しているかの詳細なメカニズムを解析した。特に、体外実験を通じて、HMGB1 がマクロファージによるヘモグロビンの取り込みをどのように阻害するかを調べ、脳損傷後のヘモグロビン、ヘム、Fe²⁺の毒性効果が持続する可能性について考察した。

(3) 臨床への応用可能性の探求：

ヒト化抗 HMGB1 モノクローナル抗体が脳出血治療における新たな治療戦略としての可能性を探求した。治療が脳出血後の体重減少を抑制し、行動性能を改善する効果を持つかを評価し、これらの結果から将来的な臨床試験への応用に向けた基礎を築いた。

3. 研究の方法

(1) マーモセット脳内出血モデルの作製、病態解析と抗 HMGB1 抗体効果の解析：

マーモセットを用いて脳出血を人工的に誘発し、脳出血モデルを作製した。このモデルを使用して、ヒト化抗 HMGB1 モノクローナル抗体の投与が脳損傷、体重減少、および炎症反応にどのような影響を与えるかを評価した。治療後の生体内での変化を詳細に追跡し、血漿中の HMGB1 レベル、脳内の 4-ヒドロキシノネナール (4-HNE) の蓄積、および脳内の鉄沈着量の変化を測定した。

(2) 二次的脳損傷メカニズムの解明：

脳出血に伴う二次的脳損傷のメカニズムを深く探求した。特に、HMGB1 がマクロファージの機能にどのように影響を及ぼすか、体外実験を通じて解析した。蛍光標識されたヘモグロビンを使用して、デキサメタゾンで前処理した THP-1 細胞におけるヘモグロビンの取り込みを評価した。

(3) マーモセット脳内出血モデルにおける抗 HMGB1 投与効果の解析：

抗 HMGB1 抗体の投与が行動性能と体重にどのような影響を与えるかを詳しく調べるため、抗 HMGB1 抗体の投与前後における体重や行動テスト（運動能力や認知機能を測定するテスト）を行った。

4. 研究成果

(1) HMGB1 放出の抑制と炎症反応の減少：

抗 HMGB1 抗体を投与したグループでは、脳出血後に脳から血漿への HMGB1 の放出が抑制された。この結果、炎症マーカーである 4-ヒドロキシノネナール (4-HNE) の蓄積と脳内の鉄の

沈着が顕著に減少し、炎症応答が有意に抑制されたことが示された。

(2) 二次的脳損傷メカニズムの解明：

CT スキャンの解析によると、脳出血誘発から 12 日後に抗体を投与されたグループの脳損傷体積が、対照群と比較して著しく小さくなっていたことが観察された。この結果から、ヒト化抗体が二次的な脳損傷を効果的に抑制している可能性が示唆される。脳出血に伴い、脳からはヘモグロビンと HMGB1 が同時に放出され、これらの物質が相互に脳炎症を増幅させる作用がある。そのメカニズムとして、HMGB1 の存在下でヘモグロビンのマクロファージへの取り込みが用量依存的に抑制されることが明らかにされた。これは、HMGB1 がハプトグロビンを介したヘモグロビンのクリアランスを効果的に妨げていることを示唆している。ヒト化抗 HMGB1 モノクローナル抗体は、HMGB1 を中和し、血腫からのヘモグロビンのクリアランスを促進するために、豊富なハプトグロビンを解放する可能性がある。

(3) 行動性能と体重の改善：

抗体投与群では、脳出血後の体重減少が少なく、行動テスト（運動能力や認知機能を測定するテスト）でのパフォーマンスが改善された。これらの結果は、抗体が脳機能の保護および回復に寄与していることを示している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Dengli Wang, Daiki Ousaka, Handong Qiao, Ziyi Wang, Kun Zhao, Shangze Gao, Keyue Liu, Kiyoshi Teshigawara, Kenzo Takada, Masahiro Nishibori	4. 巻 11
2. 論文標題 Treatment of Marmoset Intracerebral Hemorrhage with Humanized Anti-HMGB1 mAb	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 1-22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells11192970	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 該当する
1. 著者名 Shangze Gao, Keyue Liu, Wenhan Ku, Dengli Wang, Hidenori Wake, Handong Qiao, Kiyoshi Teshigawara, Masahiro Nishibori	4. 巻 13
2. 論文標題 Histamine induced high mobility group box-1 release from vascular endothelial cells through H1 receptor	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Immunol .	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2022.930683	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 該当する
1. 著者名 Kazue Hisaoka-Nakashima, Kazuto Ohata, Natsuki Yoshimoto, Shintarou Tokuda, Nanako Yoshii, Yoki Nakamura, Dengli Wang, Keyue Liu, Hidenori Wake, Takayuki Yoshida, Yukio Ago, Kouichi Hashimoto, Masahiro Nishibori, Norimitsu Morioka	4. 巻 355
2. 論文標題 High-mobility group box 1-mediated hippocampal microglial activation induces cognitive impairment in mice with neuropathic pain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Exp Neurol .	6. 最初と最後の頁 1-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.expneurol.2022.114146	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Nishibori Masahiro, Wang Dengli, Ousaka Daiki, Wake Hidenori	4. 巻 9
2. 論文標題 High Mobility Group Box-1 and Blood Brain Barrier Disruption	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2650 ~ 2650
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells9122650	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 -

1. 著者名 Hisaka-Nakashima Kazue, Azuma Honami, Ishikawa Fumina, Nakamura Yoki, Wang Dengli, Liu Keyue, Wake Hidenori, Nishibori Masahiro, Nakata Yoshihiro, Morioka Norimitsu	4. 巻 9
2. 論文標題 Corticosterone Induces HMGB1 Release in Primary Cultured Rat Cortical Astrocytes: Involvement of Pannexin-1 and P2X7 Receptor-Dependent Mechanisms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 1068 ~ 1068
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9051068	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 -

1. 著者名 Gao Shangze, Wake Hidenori, Sakaguchi Masakiyo, Wang Dengli, Takahashi Youhei, Teshigawara Kiyoshi, Zhong Hui, Mori Shuji, Liu Keyue, Takahashi Hideo, Nishibori Masahiro	4. 巻 23
2. 論文標題 Histidine-Rich Glycoprotein Inhibits High-Mobility Group Box-1-Mediated Pathways in Vascular Endothelial Cells through CLEC-1A	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101180 ~ 101180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101180	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7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 王登莉
2. 発表標題 Treatment of intracerebral hemorrhage with humanized a-HMGB1 mAb in non-human primate brain
3. 学会等名 第139回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 王登莉
2. 発表標題 The therapeutic effects of humanized anti-HMGB1 mAb on intracerebral hemorrhage-induced brain injury in marmoset.
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 王登莉
2. 発表標題 抗HMGB1抗体による脳内出血の治療：霊長類マーマセットを用いた検討
3. 学会等名 第36回創薬・薬理フォーラム（岡山）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 王登莉
2. 発表標題 Treatment of intracerebral hemorrhage with humanized a-HMGB1 mAb in non-human primate brain
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小橋和馬、長谷川玲央、松川力嗣、劉克約、喬寒棟、和氣秀徳、逢坂大樹、王登莉、西堀正洋
2. 発表標題 脳出血時のミクログリアにおけるHMGB1トランスロケーションに関する検討
3. 学会等名 創薬・薬理フォーラム岡山
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Dengli Wang, Keyue Liu, Kiyoshi Teshigawara, Hidenori Wake, and Masahiro Nishibori
2. 発表標題 HMGB1 Translocation in Neurons after Ischemic Insult: Subcellular Localization in Mitochondria and Peroxisomes
3. 学会等名 第137回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Dengli Wang, Shangze Gao, Keyue Liu, Hidenori Wake, Kiyoshi Teshigawara, Shuji Mori and Masahiro Nishibori
2. 発表標題 The therapeutic effects of anti-HMGB1 mAb on subdural hematoma-induced brain injury in rats
3. 学会等名 第43回日本神経科学学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Research Map (王 登莉) https://researchmap.jp/okayaku2017
--

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

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
---------	---------