

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07822

研究課題名（和文）HMGB1-HRGバランスに着目した川崎病新規治療薬の開発

研究課題名（英文）Development of new therapeutic drug for Kawasaki disease focusing on HMGB1-HRG balance

研究代表者

馬場 健児（Baba, Kenji）

岡山大学・大学病院・准教授

研究者番号：40721767

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）：川崎病患者では健康対照群に比べて血中HMGB1が有意に高値、HRGは有意に低値であった。治療反応良好群と不良群においてHMGB1とHRGのsubacute/acute ratioを比較したところ、治療反応不良群ではHMGB1は有意に上昇、HRGは有意に低下しており、HMGB1とHRGが川崎病のバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。Lactobacillus cell wall extract (LCWE)を単球セルライン(THP-1)に添加して川崎病様の炎症を惹起し、HMGB1抗体やHRG前投与の有無による炎症抑制効果を評価したところ、HMGB1抗体はIL-8の有意な低下を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

川崎病は主要徴候が5項目以上そろふことで診断を行うが、主要徴候がそろわない不全型川崎病が18.2%存在する。不全型川崎病でも炎症の遷延による冠動脈瘤合併は典型例と同様であり、診断や初期治療が遅れることで冠動脈瘤を生じうる。本研究成果によりHMGB1やHRGが川崎病の診断バイオマーカーや重症度評価のバイオマーカーとして活用され、川崎病の早期治療介入や重症度に合わせた強化療法を行うことで、冠動脈瘤の合併率を低下できる可能性がある。一方で川崎病の新規治療薬としての抗HMGB1抗体とHRGに関しては、HMGB1抗体はin vitroにおいてIL-8の有意な低下を認め、引き続き検討を行っていく。

研究成果の概要（英文）：Kawasaki disease patients had significantly higher levels of HMGB1 and lower levels of HRG than healthy subjects. Comparing the subacute/acute ratio of HMGB1 and HRG between the good and poor treatment response groups, HMGB1 was significantly increased and HRG was significantly decreased in the poor treatment response group, indicating that HMGB1 and HRG may be useful as biomarkers for Kawasaki disease. Lactobacillus cell wall extract (LCWE) was added to a monocyte cell line (THP-1) to induce Kawasaki disease-like inflammation, and the anti-inflammatory effects of HMGB1 antibody and HRG pre-administration were evaluated and HMGB1 antibody significantly reduced IL-8 levels.

研究分野：小児循環器

キーワード：川崎病 HMGB1 HRG

1. 研究開始当初の背景

川崎病は、1967年に日本で最初に報告された全身性血管炎であり、年間1万人以上の小児が罹患し、年々増加傾向にある。治療法として免疫グロブリン療法があるが、川崎病患者の約20%は免疫グロブリン(IVIG)抵抗性であり、重篤な合併症である巨大冠動脈瘤を生じ、冠動脈破裂や心筋梗塞により突然死のリスクとなる。また、コロナウイルス感染により欧米で川崎病様の症状をきたす小児患者が増加していることでも、近年注目を集めている疾患である。

High-mobility group box-1(HMGB1)は、さまざまな炎症性疾患における病態形成に重要な働きをしており、組織損傷により細胞外に放出され、炎症作用を発揮する damage-associate molecular patterns(DAMPs)の代表と考えられている。また当研究室では、血漿蛋白である Histidine-rich glycoprotein(HRG)が、循環血液中の好中球の形態を表面微絨毛構造のない正円形の状態に保つことで血管内皮細胞への接着を抑制することを見出した。敗血症モデルマウスに HRG を投与すると致死率が低下し、逆に siRNA により HRG 産生をノックアウトすると致死率が上昇することを世界で初めて報告した (*EBioMedicine*. 2016; 9: 180-194)。さらに敗血症患者では肝臓で HRG 産生低下や血液中の分解亢進で血中 HRG レベルが低下しており、有用な敗血症マーカーとなり得ることを報告した (*Crit Care Med* 2018; 46:570-576)。最新の研究では、Lipopolysaccharide(LPS)刺激による血管内皮細胞の障害で放出される HMGB1 の放出が HRG 投与により抑制され、HRG の受容体が Clec1A であることを新規に同定した (*iScience* 2020; 23: 101180)。また HRG は 2 価陽イオン存在下でヒドロキシルラジカルを抑制する抗酸化作用を有することも明らかにした (*Free Radic Res.* 2020; 6: 1-13)。

近年川崎病の血管炎の病態として、HMGB1 をはじめとする DAMPs が Toll-like receptors などのパターン認識受容体に結合することで自然免疫系を賦活化していることがわかってきた。実際に急性期の川崎病患者では血中 HMGB1 が上昇しており、免疫グロブリン療法抵抗性の患者でより高値であったとの報告がある (*J Rheumatol* 2008; 37: 445-449, *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 339-341)。さらに免疫グロブリン抵抗性の患者、冠動脈瘤を合併した患者において HMGB1 の遺伝子多型が有意に多かった (*Rheumatology* 2019; 58: 770-775)。これらのことから、川崎病患者に対する抗 HMGB1 抗体の炎症抑制、冠動脈瘤予防効果が期待できる。

一方、川崎病モデルマウスの研究では、大動脈での VCAM-1 発現が亢進し、好中球の大動脈血管壁への接着が有意に増加している (*Biochim Biophys Acta* 2015; 1853: 396-408)。HRG には好中球の血管内皮細胞への接着抑制作用があるため、HRG 投与により川崎病の血管炎を抑制できる可能性がある。また敗血症などの炎症性疾患の際には、活性化した好中球が血小板と複合体を形成し、網状構造物(neutrophil extracellular traps, NETs)となり細胞外に放出される。NETs は外来微生物を捕獲するフィルターの役割を担っているが、NETs が過剰に贅成される状況においては血管内血栓形成の誘因となったり、NETs の成分であるヒストンが遊離することで遠隔臓器障害を引き起こし、川崎病患者でも末梢血中の NETs 形成が亢進しているとの報告がある (*Pediatr Res* 2020; 87: 998-1004)。我々は HRG には NETs 形成抑制作用があることも見出しており (*EBioMedicine* 2016; 9: 180-194)、HRG 投与は NETs 形成抑制の観点からも炎症の鎮静化が得られる可能性がある。

2. 研究の目的

川崎病患者において、HMGB1 と HRG が川崎病の診断バイオマーカーや重症度バイオマーカーとして有用であるか検証することを本研究の目的とする。また、抗 HMGB1 抗体と HRG が川崎病の新規治療薬となり得るかについても検証を行う。

3. 研究の方法

計 63 人の川崎病急性期患者において、治療前後に血漿を採取し、血中 HMGB1 と HRG を測定し、48 人の健康対照群と比較することで、HMGB1 と HRG が川崎病の診断バイオマーカーとして有用であるか検証を行う。また、川崎病患者を第 10 病日以内に解熱した治療反応良好群と、第 10 病日以降も発熱が遷延した治療反応不良群に群分けし、治療前後の HMGB1 と HRG を比較することで、HMGB1 と HRG が川崎病の重症度マーカーとして有用であるかについても検証する。

細胞を用いて、川崎病様炎症に対する抗 HMGB1 抗体と HRG の炎症抑制効果を確認する。50 万個/500 μ L の単球セルライン(THP-1)に、コントロール IgG または抗 HMGB1 抗体を 100 μ g/mL、Human serum albumin(HSA)または HRG を 1 μ M 添加する。30 分後に Lactobacillus cell wall extract(LCWE)を添加することで、川崎病様の炎症を惹起する。LCWE 添加から 3 時間後に細胞から mRNA を抽出し、IL-1、IL-8、TNF を RT-PCR で評価することで、炎症抑制効果を確認する。

4. 研究成果

川崎病患者の治療前検体では、健康対照群と比較して血中 HMGB1 が有意に高値、HRG は有意に低値であった。また、治療反応良好群では血中 HMGB1 が治療前後で有意に低下するのに対して、治療反応不良群では血中 HRG が治療前後で有意に低下していた。さらに、治療反応良好群と治療反応不良群において HMGB1 と HRG の subacute/acute ratio を比較したところ、治療反応不良群では HMGB1 は有意に上昇、HRG は有意に低下しており、HMGB1 と HRG が川崎病のバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された(*Mod Rheumatol* 2023; 33: 599-697)。

また in vitro 実験において、LCWE を THP-1 に添加することで川崎病様の炎症を惹起し、抗 HMGB1 抗体や HRG 前投与の有無による炎症抑制効果を評価した。抗 HMGB1 抗体はコントロール IgG と比較して、自然免疫応答に關与するケモカインであり好中球走化因子である IL-8 の有意な発現低下を認めた(図 1)。IL-1 と TNF に関しては、抗 HMGB1 抗体や HRG 前投与の有無で有意差はなかった。

上記研究成果をふまえた今後の展望として、川崎病モデルマウスを用いた抗 HMGB1 抗体や HRG の冠動脈炎抑制効果や NETs 形成抑制効果などにつき引き続き評価を行い、抗 HMGB1 抗体や HRG の川崎病新規治療薬としての有効性の検証を進めていきたい。

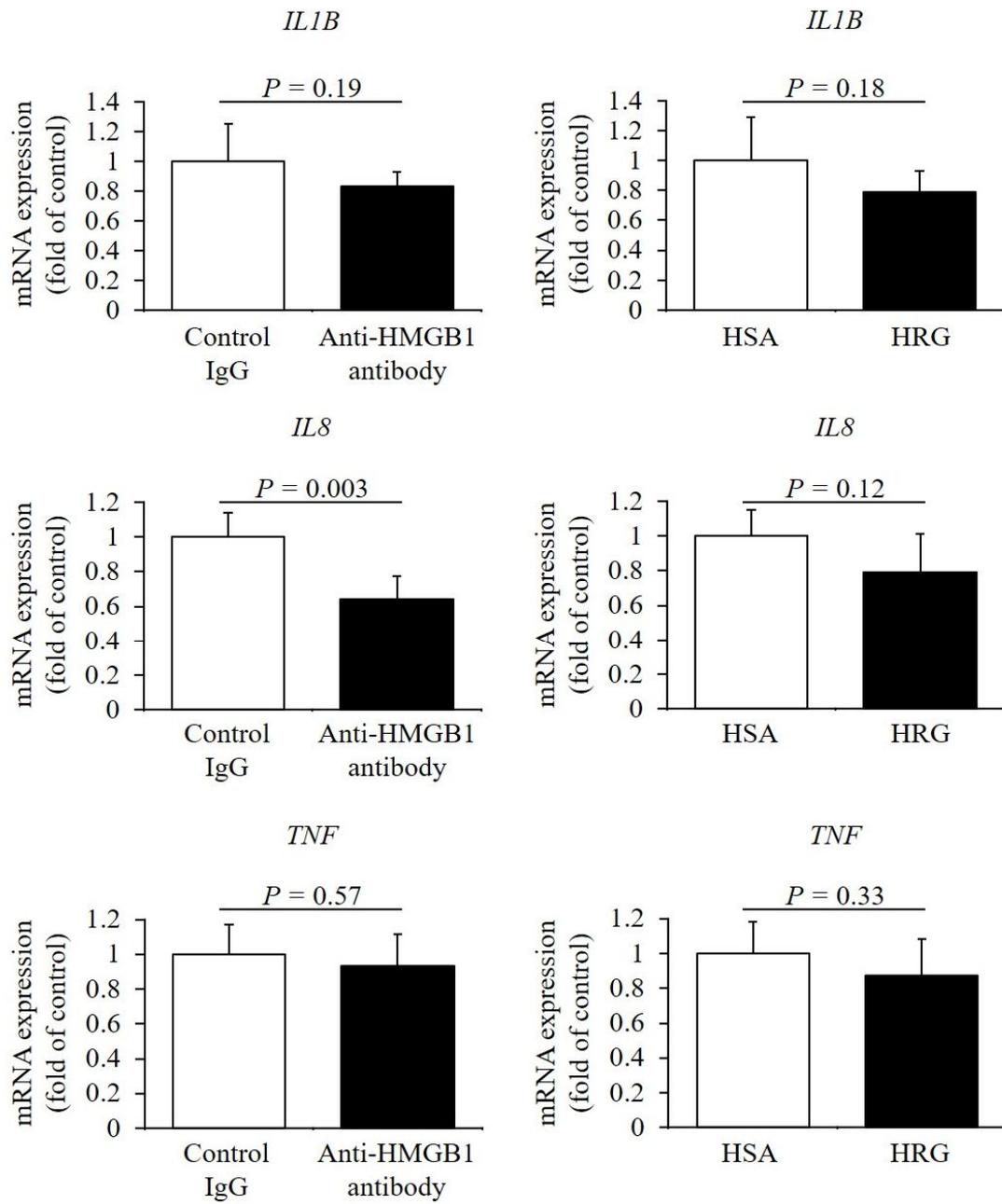


図1 in vitroにおける川崎病様炎症に対する抗HMGB1抗体とHRGの炎症抑制効果の検証

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 11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 Morimoto D, Washio Y, Tamai K, Sato T, Okamura T, Watanabe H, Fukushima Y, Yoshimoto J, Kageyama M, Baba K, Tsukahara H	4. 巻 11
2. 論文標題 Longitudinal Measurement of Histidine-Rich Glycoprotein Levels in Bronchopulmonary Dysplasia: A Pilot Study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biomedicines11010212	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 Shibata T, Kondo M, Fukushima Y, Akiyama M, Akiyama T, Morooka T, Baba K, Ohtsuki S, Tsukahara H, Kasahara S, Kobayashi K	4. 巻 147
2. 論文標題 Epilepsy in Children With Congenital Heart Disease: Risk Factors and Characteristic Presentations	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Pediatr Neurol	6. 最初と最後の頁 28-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pediatrneurol.2023.07.004	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 Hasegawa K, Futagawa N, Ago Y, Miyahara H, Harada D, Miyazawa M, Yoshimoto J, Baba K, Moriwake T, Tanaka H, Tsukahara H	4. 巻 32
2. 論文標題 Novel and recurrent COMP gene variants in five Japanese patients with pseudoachondroplasia: skeletal changes from the neonatal to infantile periods	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clin Pediatr Endocrinol	6. 最初と最後の頁 221-227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1297/cpe.2023-0035	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 Ohnishi H, Toh N, Akagi T, Baba K, Kotani Y, Takaki A, Kasahara S, Ito H	4. 巻 17
2. 論文標題 Detection of hepatocellular carcinoma during Fontan-associated liver disease follow-up: a report of three cases	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Clin J Gastroenterol	6. 最初と最後の頁 148-154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12328-023-01892-w	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 Baba K, Kondo M, Eitoku T, Shigemitsu Y, Hirai K, Otsuki S, Kanazawa T, Iwasaki T, Iguchi T, Toh N, Kotani Y, Kasahara S	4. 巻 80
2. 論文標題 Vascular occlusion with 0.035-inch hydrogel expandable coils in congenital heart disease and vascular anomalies	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Cardiol	6. 最初と最後の頁 249-254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2022.04.005	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 Namba T, Yashiro M, Fujii Y, Tsuge M, Liu K, Nishibori M, Tsukahara H	4. 巻 -
2. 論文標題 Decreased Levels of Histidine-Rich Glycoprotein and Increased Levels of High-Mobility Group Box 1 are Risk Factors for Refractory Kawasaki Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/mr/roac040	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 馬場健児	4. 巻 38
2. 論文標題 側副血行路に対するコイル塞栓術：どこまで、どのコイル？	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本小児循環器学会雑誌	6. 最初と最後の頁 166-171
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 -

1. 著者名 馬場健児	4. 巻 29
2. 論文標題 術前経胸壁心エコー・カテーテル検査のポイント	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Lisa	6. 最初と最後の頁 836-841
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 -

1. 著者名 Yuki Imai, Kenji Baba, Shinichi Otsuki, Maiko Kondo, Takahiro Eitoku, Yusuke Shigemitsu, Yosuke Fukushima, Kenta Hirai, Tatsuo Iwasaki, Tomoyuki Kanazawa, Yasuhiro Kotani, Shingo Kasahara	4. 巻 43
2. 論文標題 Stepwise Treatment for Heterotaxy Syndrome and Functional Single Ventricle Complicated by Infra-Cardiac Total Anomalous Pulmonary Venous Connection with Ductus Venosus Stent Placement and Subsequent Occlusion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pediatric Cardiology	6. 最初と最後の頁 756-763
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00246-021-02782-z	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 Takahiro Eitoku, Shingo Kasahara, Kenji Baba, Yasuhiro Kotani	4. 巻 -
2. 論文標題 Impact of decompression of the right ventricle on the sinusoidal communications in pulmonary atresia and intact ventricular septum	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtcvs.2021.08.083	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 Kenji Baba, Kenji Suda, Motoki Takamuro, Shin Takahashi, Hisashi Sugiyama, Kazuto Fujimoto, Masataka Kitano, Takanari Fujii, Hiroaki Kise, Sinichi Ohtsuki, Hideshi Tomita	4. 巻 78
2. 論文標題 Static balloon atrial septostomy in Japan in shortage of standard balloon septostomy catheter	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 219-223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2021.04.008	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 Tomoyuki Kanazawa, Kazuyoshi Shimizu, Tatsuo Iwasaki, Kenji Baba, Shinichi Otsuki, Yasuhiro Kotani, Shingo Kasahara, Hiroshi Morimatsu	4. 巻 35
2. 論文標題 Perioperative Milrinone Infusion Improves One-Year Survival After the Norwood-Sano Procedure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia	6. 最初と最後の頁 2073-2078
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.jvca.2021.02.017	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 Aya Banno, Tomoyuki Kanazawa, Kazuyoshi Shimizu, Tatsuo Iwasaki, Kenji Baba, Shinichi Otsuki, Hiroshi Morimatsu	4. 巻 35
2. 論文標題 Higher preoperative Qp/Qs ratio is associated with lower preoperative regional cerebral oxygen saturation in children with ventricular septal defect	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 442-445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-021-02931-x	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 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 馬場健児
2. 発表標題 重症心疾患児の学校生活を考える
3. 学会等名 第54回若年者心疾患・生活習慣病対策協議会総会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 馬場健児
2. 発表標題 カテーテル的肺静脈ステント留置術の留意点
3. 学会等名 第59回日本小児循環器学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 馬場健児
2. 発表標題 治療拒否家族への対応としての緊急院内倫理委員会開催の意義
3. 学会等名 第59回日本小児循環器学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 馬場健児
2. 発表標題 当科での成人期複雑心奇形に対するカテーテル治療
3. 学会等名 第25回日本成人先天性心疾患学会総会・学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 馬場健児
2. 発表標題 移行期医療を断念せざるを得ない患者について考える
3. 学会等名 第25回日本成人先天性心疾患学会総会・学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 馬場健児
2. 発表標題 当院におけるTPVI診療体制
3. 学会等名 第34回日本先天性心疾患インターベンション学会・学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 馬場健児
2. 発表標題 胎児診断に基づいて計画する生後すぐのcatheter interventionとsurgical intervention
3. 学会等名 第30回日本胎児心臓病学会・学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 馬場健児
2. 発表標題 岡山大学病院における経カテーテル的肺動脈弁置換術の初期成績
3. 学会等名 第6回 右心系と成人先天性心疾患の血行動態に関する研究会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 馬場健児
2. 発表標題 failing Fontanに対するFenestration stentの有用性
3. 学会等名 第58回日本小児循環器学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬場健児
2. 発表標題 小児循環器領域におけるAzur 35, Azur CX35の有用性
3. 学会等名 第33回JCIC学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 馬場健児
2. 発表標題 小児領域におけるコイル塞栓術 治療立案のポイント
3. 学会等名 第33回JCIC学術集会
4. 発表年 2023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	平井 健太 (Hirai Kenta) (50814224)	岡山大学・大学病院・研究准教授 (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	逢坂 大樹 (Ousaka Daiki) (70839141)	岡山大学・医歯薬学域・助教 (15301)	
研究分担者	王 登莉 (Wang Dengli) (40815693)	岡山大学・医歯薬学域・助教 (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
---------	---------