

令和 6 年 9 月 6 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09442

研究課題名(和文) HMGB1の血管内皮障害作用に着目した妊娠高血圧腎症の病態の解明と新規治療薬探索

研究課題名(英文) The pathogenesis of preeclampsia focusing on the vascular endothelial dysfunction by HMGB1 and the search for new therapeutic agents.

研究代表者

永松 健 (Nagamatsu, Takeshi)

国際医療福祉大学・国際医療福祉大学成田病院・教授

研究者番号：60463858

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)：HMGB1は、ストレス負荷を受けた細胞から放出されて組織炎症を誘発するdanger signal蛋白である。アンジオテンシンII (AngII) 誘導性PEマウスモデルにおいて、機能障害を生じた胎盤絨毛から放出されたHMGB1が発症要因となることが示され、臨床検体の解析もマウスモデルの結果を支持していた。また、HMGB1の拮抗作用があるトロンボモジュリン(TM)を、AngII誘導性PEマウスモデルに投与すると、母体症状と胎児発育の改善が認められた。TMによるHMGB1の胎盤機能障害の抑制は、PE治療の新たな治療アプローチとなりうると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠高血圧腎症(PE)の臨床管理において近年末梢血中のsFlt-1/PlGF比を用いた発症予測が行われるようになったが、発症後の母児の予後改善のための有効な治療法はいまだ確立していない。本研究の成果によりHMGB1がPE発症に関与する因子であることが解明されて、トロンボモジュリンを用いたHMGB1作用阻害による治療アプローチの可能性が示された。本研究の成果が、将来のPE治療法開発への端緒となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to clarify the involvement of high-mobility group box 1 (HMGB1) in the pathogenesis of preeclampsia (PE) and to explore novel therapeutic approaches to PE by HMGB1 antagonism. In a mouse model angiotensin II (AngII)-induced PE, HMGB1 released from the placenta increases sFlt-1 production and induces an increase in inflammatory cytokines in trophoblast cells, developing systemic maternal symptoms. HMGB1 was significantly increased in the serum of PE pregnant women in late pregnancy and PE placentas showed extra-nuclear leakage from trophoblastic cells. Thrombomodulin (TM), an antagonist of HMGB1, when administered to the Ang II-induced PE mouse model, contributed to the suppression of PE development. In conclusion, HMGB1 released from trophoblast cells is a factor exacerbating maternal organ damage and placental dysfunction. Suppression of HMGB1 by TM could be a new therapeutic approach for PE.

研究分野：周産期医学

キーワード：妊娠高血圧腎症 HMGB1 トロンボモジュリン 妊娠 治療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

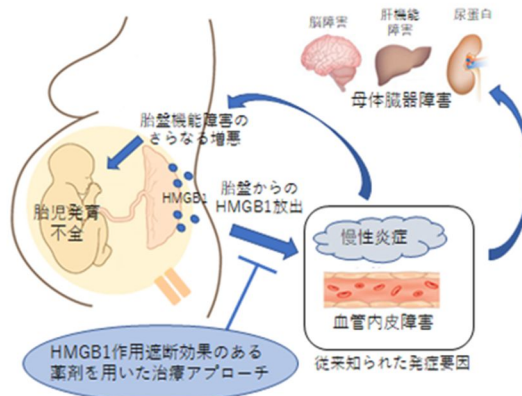
妊娠高血圧症候群(preeclampsia: PE)は全妊娠の 5-10%に生じる頻度の高い周産期疾患である。PE が発症すると母体の高血圧に続発して全身的な臓器障害が生じ、また胎盤の機能異常による胎児の発育不全を認め、母児双方の予後に大きく影響する。(図 1)

PE の病理機序は子宮壁内血管系の再構築不全に起因した胎盤機能障害による胎児の発育障害と胎盤由来の因子による母体の高血圧と臓器障害であるとされている。しかし、母体の降圧薬による対症的対応では母児の予後の改善にはつながらず、現在新規治療法の開発が切望されている。

High-mobility group box 1 (HMGB1)は多彩な働きを有するタンパク質である。正常状態では核内に存在して DNA 結合蛋白質として遺伝子の転写調節や DNA 修復に関わる。一方で、障害を受けた細胞では、核内から細胞質さらに細胞外へ受動的に放出され、細胞質内ではオートファジーの誘導に寄与し、細胞外では、receptor for advanced glycation end products (RAGE) や toll-like receptors (TLR)の細胞表面受容体を介して組織炎症を誘発する danger signal 蛋白の一つとして機能する。近年、敗血症や感染症、動脈硬化の病態背景にある血管内皮障害に深く関与することが注目されてきた。

本研究は、PE 発症機序の中心的要因となっている母体の全身臓器および胎盤の血管内皮障害に対する HMGB1 の関与について解明することを目的とする。それにより、血管内皮障害の背景機序の探索による PE 病態の統合的な理解を進めて、HMGB1 の作用拮抗のアプローチによる PE に対する新たな視点からの治療法の開発につながる基盤的な知見の集積を目指す。

図1. 研究仮説: 妊娠高血圧腎症発症における HMGB1の関与



2. 研究の目的

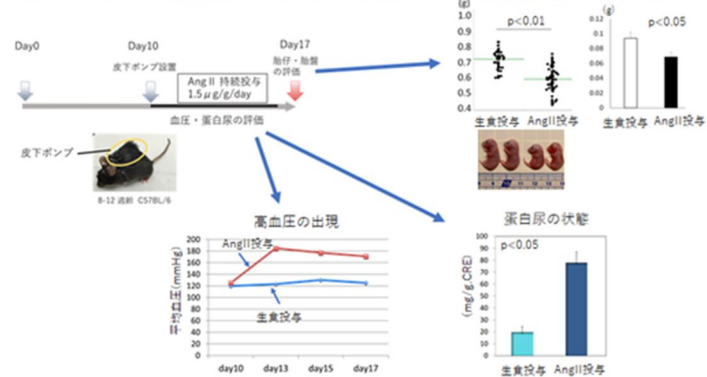
本研究は、PE 発症機序の中心的要因となっている母体の全身臓器および胎盤の血管内皮障害に対する HMGB1 の関与について解明することを目的とする。それにより、血管内皮障害の背景機序の探索による PE 病態の統合的な理解を進めて、HMGB1 の作用拮抗のアプローチによる PE に対する新たな視点からの治療法の開発につながる基盤的な知見の集積を目指す。

3. 研究の方法

1) 疾患モデルマウスを用いた HMGB1 の PE 発症への関与および拮抗する薬剤の効果に関するの検証

マウスにおける PE 発症の方法として、皮下埋め込みポンプを利用してアンジオテンシン II (Ang II) を持続放出するモデル(右下図 2 参照)を用いた検討を最初に行った。このモデルでは、高血圧のみならず蛋白尿、胎盤組織障害による胎児発育不全などのヒト PE と共通した症状が生じる。この PE モデルを用いて、絨毛細胞における HMGB1 の細胞内分布の動態を経時的に観察し、同時に末梢血中濃度の変化を見ることで HMGB1 の胎盤からの放出と PE 発症の関係性を探った。HMGB1 に対する拮抗作用があるトロンボモジュリン(TM) 投与による胎盤組織障害の改善への効果を見ることで HMGB1 の疾患発症への直接的影響を確認した。さらに、胎盤から放出された HMGB1 が母体全身臓器や胎盤機能の障害を引き起こす背景機序を探索する。PE 胎盤での産生異常が知られ soluble Flt-1(sFlt-1)、placental growth factor(PlGF)などの血管新生関連因子の末梢血中濃度変化および各臓器における炎症性サイトカイン発現、補体系の活性化と胎盤の HMGB1 の放出状態との関係を解析することで慢性炎症、血管内皮障害などの従来 PE 発症の要因として知られている現象と HMGB1 の関係性を明らかにする。

図2. アンジオテンシンII誘発性のPEマウスモデルの様子



課題2. 絨毛細胞培養系、臨床サンプルを用いた PE における HMGB1 および TM の疾患発症機序への関与の確認

PE を発症した妊婦および正常妊婦のそれぞれから末梢血、胎盤組織を収集して、胎盤における免疫染色 HMGB1 の濃度末梢血中に検出される HMGB1 の由来を同定した。

また、初代絨毛細胞を胎盤から抽出して in-vitro での HMGB1 の放出の誘因となる細胞刺激の探索を行い、HMGB1 の添加の実験を行った。そして HMGB1 シグナル刺激に伴う、炎症性サイトカインの発現変化や血管新生関連因子(sFlt-1、PlGF)の産生能への影響を見ることで絨毛細胞機能に対する HMGB1 の影響を検討する。これにより、in vivo と in vitro の双方の視点から PE の病態形成の鍵となっている胎盤機能障害と HMGB1 の因果関係の検証を進め

た。

4. 研究成果

HMGB1 は、ストレス負荷を受けた細胞から放出されて組織炎症を誘発する danger signal 蛋白である。アンジオテンシン II (AngII) 誘導性 PE マウスモデルを用いて胎盤から放出された HMGB1 が、従来 PE 発症の主要な要因とされている胎盤絨毛細胞からの sFlt-1 産生の増加および、炎症性サイトカインの増加を誘導して母体の全身的症状の原因となっていることを確認した。細胞培養実験から、in-vivo と一致して HMGB1 刺激に反応して絨毛細胞は TNF- α 、IL-6 を放出し、sFlt-1 発現を増加することを確認した。さらに、臨床検体を用いた検討により、PE 妊婦においては HMGB1 が妊娠後期に顕著に増加しており、PE 胎盤からは絨毛細胞からの核外漏出が生じていた。また、絨毛細胞からマウスモデルおよびヒト臨床検体の双方の結果から胎盤から放出される HMGB1 が PE における母体の臓器障害のみならず胎盤自体の機能障害を増悪させる因子となっていることが示唆された。

HMGB1 から誘導される母体血管および全身臓器の炎症が PE の発症に関与するという知見を得て、HMGB1 を拮抗する作用のある薬剤による治療効果の検討を進めた。治療薬の候補としてトロンボモジュリン(TM)について研究を行い、AngII 誘導性 PE マウスモデルにおいて TM の投与が発症抑制効果を示し、絨毛細胞を用いた in-vitro での検証により TM による HMGB1 の吸着効果が抗炎症作用を介して PE における高血圧および腎障害の抑制さらには胎児発育の改善に寄与することを確認した。そして、TM の投与量に依存して効果が生じていた。(図 3)

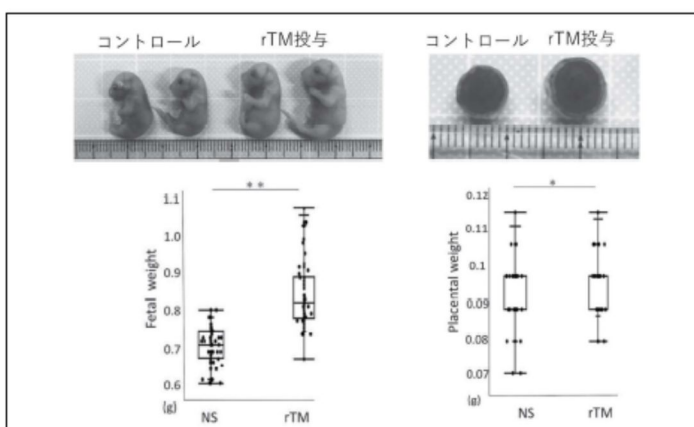
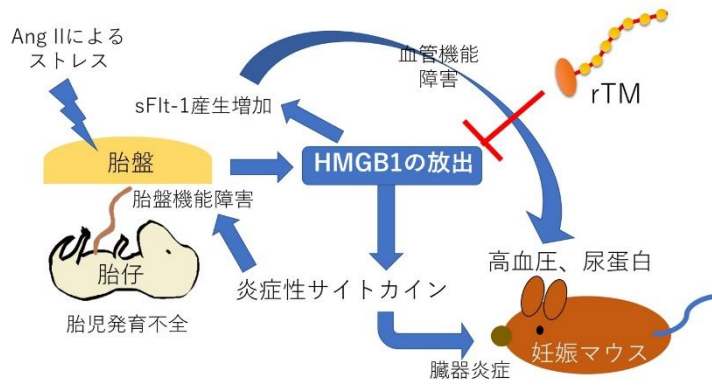


図 3. トロンボモジュリンによる胎児発育促進作用

その上で、TM と HMGB1 の関係性について臨床検体を用いた解析を行った。正常妊娠と PE 発症の妊婦の血清および胎盤検体をそれぞれ収集して、TM の動態と HMGB1 との関係性を探求した。正常妊娠では自由絨毛表面に均一な TM の表面発現があるのに対して、PE 胎盤ではこの発現が部分的に欠損しており、絨毛細胞表面から TM が遊離して母体血液中に流出 (shedding) していることが観察された。また、PE 妊婦の血清中の TM 濃度は正常妊婦よりも高値を示しており、胎盤局所での結果を裏付ける結果であった。胎盤内では、おけるさらに、トロンボモジュリン(TM)と HMGB1 の血清中の濃度比 (HMGB1/TM 比) が出生週数における児の標準偏差と負の相関を示し、母体の拡張期血圧および母体年齢とは正の相関を示すことを確認し、HMGB1 と TM のバランスは PE 発症に関わる中心的な分子機構であることが推

測された。(図4)

図4. HMGB1によるPEの病態進展とrTMによるその抑制効果



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7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 Oda Hiroko, Nagamatsu Takeshi, Osuga Yutaka	4. 巻 20
2. 論文標題 Thrombomodulin and pregnancy in the limelight: Insights into the therapeutic aspect of thrombomodulin in pregnancy complications	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Thrombosis and Haemostasis	6. 最初と最後の頁 1040 ~ 1055
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jth.15680	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 Nakanishi Megumi, Iriyama Takayuki, Sayama Seisuke, Hanaoka Shouhei, Toshimitsu Masatake, Seyama Takahiro, Sone Kenbun, Kumasawa Keiichi, Nagamatsu Takeshi, Osuga Yutaka	4. 巻 48
2. 論文標題 Pregnancy induced hemorrhagic degeneration of adenomyosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 1265 ~ 1270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.15195	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 Mimura Nobuko, Nagamatsu Takeshi, Morita Kazuki, Taguchi Ayumi, Toya Takashi, Kumasawa Keiichi, Iriyama Takayuki, Kawana Kei, Inoue Naoki, Fujii Tomoyuki, Osuga Yutaka	4. 巻 117
2. 論文標題 Suppression of human trophoblast syncytialization by human cytomegalovirus infection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Placenta	6. 最初と最後の頁 200 ~ 208
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.placenta.2021.12.011	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 Sasagawa Tadashi, Nagamatsu Takeshi, Yanagisawa Manami, Fujii Tomoyuki, Shibuya Masabumi	4. 巻 27
2. 論文標題 Hypoxia-inducible factor-1 is essential for upregulation of the hypoxia-induced FLT1 gene in placental trophoblasts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Human Reproduction	6. 最初と最後の頁 gaab065
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/molehr/gaab065	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 Oda Hiroko, Nagamatsu Takeshi, Iriyama Takayuki, Osuga Yutaka	4. 巻 148
2. 論文標題 Altered release of thrombomodulin and HMGB1 in the placenta complicated with preeclampsia	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Placenta	6. 最初と最後の頁 12 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.placenta.2024.01.016	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 Sayama Seisuke, Iriyama Takayuki, Takeiri Yotaro, Hashimoto Ayako, Toshimitsu Masatake, Ichinose Mari, Seyama Takahiro, Sone Kenbun, Kumasawa Keiichi, Nagamatsu Takeshi, Koga Kaori, Osuga Yutaka	4. 巻 52
2. 論文標題 Clinical characteristics and outcomes of women with adenomyosis pain during pregnancy: a retrospective study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Perinatal Medicine	6. 最初と最後の頁 186 ~ 191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1515/jpm-2023-0263	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 Yanagisawa Manami, Nagamatsu Takeshi, Kurano Makoto, Misumi Fumi, Taguchi Ayumi, Akiba Naoya, Ichinose Mari, Kumasawa Keiichi, Iriyama Takayuki, Fujii Tomoyuki, Yatomi Yutaka, Osuga Yutaka	4. 巻 160
2. 論文標題 Upregulation of autotaxin by oxidative stress via Nrf2 activation: A novel insight into the compensation mechanism in preeclamptic placenta	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Reproductive Immunology	6. 最初と最後の頁 104153 ~ 104153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jri.2023.104153	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4件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 永松 健
2. 発表標題 トロンボモジュリンの作用に着目した 妊娠高血圧腎症への新規治療戦略
3. 学会等名 第37回日本生殖免疫学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takeshi Nagamatsu
2. 発表標題 Molecular Mechanisms Behind Placental Dysfunction in Preeclampsia - Insight Into Novel Therapeutic Approach-
3. 学会等名 The 11th The Singapore International Congress of Obstetrics & Gynaecology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永松 健
2. 発表標題 Obstetrics APSの免疫学的病理機序と治療法における課題 -抗血小板/抗凝固療法先へ
3. 学会等名 第49回日本臨床免疫学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takeshi Nagamatsu
2. 発表標題 Exploration of hidden factor X behind placental dysfunction in preeclampsia -insight into novel therapy
3. 学会等名 Korean Society of Reproductive Immunology 2023 (招待講演) (国際学会)
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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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