

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591424

研究課題名(和文)核内蛋白質HMGB1-RAGE経路を介した移植片対宿主病発症機構の解析

研究課題名(英文)role of HMGB-1-RAGE pathway on acute GVHD

研究代表者

前田 嘉信(MAEDA, Yoshinobu)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：60403474

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：移植後早期に起こる生体内の変化“danger signal”として、内的要因(細胞障害など)の分子群はDAMPがある。HMGB-1は、細胞死に伴って受動的に細胞外へ放出される。受容体としては、RAGEが知られている。今回、我々はマウスモデルを使ってDAMPであるHMGB1-RAGE系と同種造血幹細胞移植後合併症の関連について検討した結果、同種移植後にはHMGB1濃度が上昇すること、RAGEを欠損したホストではGVHDの重症度が異なった。さらに抗HMGB1抗体投与により急性GVHDの減弱及び生存率の低下を認めGVHDにおけるHMGB1-RAGE系の関与が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Tissue damage caused by the conditioning regimen leads to the release of exogenous and endogenous “danger signals”. Exogenous danger signals called pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) and endogenous noninfectious molecules known as damage-associated molecular patterns (DAMPs) are responsible for initiating or amplifying acute GVHD by enhancing DC maturation and alloreactive T-cell responses. High mobility group box 1 protein (HMGB1) is expressed ubiquitously and located mostly in cell nuclei. HMGB1 is released on tissue damage as an endogenous DAMP and is actively produced by immune cells. We investigated the effects HMGB1 on a well-defined chronic GVHD mice model. There was a significant difference in GVHD damage between allogeneic recipient control mice and those lacking one of receptor HMGB1, RAGE. Anti HMGB1 Ab reduced GVHD damage in recipient mice.

研究分野：移植免疫

キーワード：GVHD

1. 研究開始当初の背景

同種造血幹細胞移植は、移植片対白血病効果 (GVL) により白血病に治癒をもたらす治療法として確立しているが、致死の合併症である移植片対宿主病 (GVHD) は今日なお克服すべき課題である。近年、移植前治療として行われる大量抗癌剤や放射線を減量することによって、従来では不可能であった高齢者への移植が可能となっている。加えて、HLA 不一致移植の普及に伴い移植件数は年々増加しており、GVHD 制御の重要性はさらに高まっている。

移植前治療により引き起こされる “danger signal” としては、炎症性サイトカインと微生物特有の分子群 PAMP (Pathogen-associated molecular pattern; 病原体関連分子パターン) の役割が明らかにされている。“danger signal” には、外的要因 (微生物) としての PAMP に対し、内的要因 (細胞障害など) の分子群は DAMP (Damage associated molecular pattern; ダメージ関連分子パターン) として大別される。High-mobility group box 1 protein (HMGB-1) は、核内において転写調節に重要な核内蛋白質として知られていたが、免疫担当細胞から能動的に細胞外に分泌、または細胞死に伴って受動的に細胞外へ放出される。受容体としては、receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) や TLR が知られている。

2. 研究の目的

移植後早期に起こる生体内の変化 “danger signal” は、その後の移植合併症を誘発させる可能性がある。今回、我々は、内的要因 (細胞障害など) の分子群 DAMP である High-mobility group box 1 protein (HMGB-1) に注目し、その受容体 receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) と HMGB-1 の同種造血幹細胞移植後合併症における役割を明らかにすることを目的とし

た。マウス GVHD モデルを使い、まず移植前治療および GVHD による組織障害の結果、血液中の HMGB-1 が上昇すること、抗 HMGB-1 抗体により GVHD が軽減されることを明らかにする。次に RAGE 抗体、RAGE 欠損マウス、RAGE を過剰発現するトランスジェニックマウスを用いて HMGB1-RAGE 系が GVHD の病態に関与していることを明らかにする。

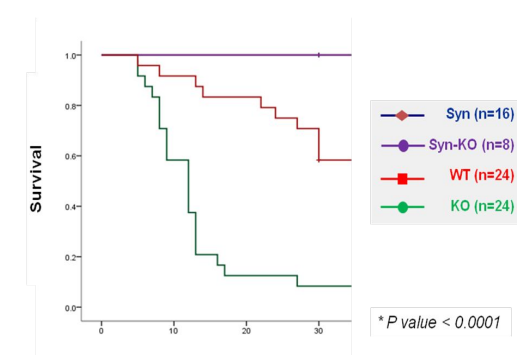
3. 研究の方法

核内蛋白質である HMGB-1、前治療および GVHD 発症時に過剰に血液中に放出されることを明らかにし、抗 HMGB-1 抗体による GVHD 抑制効果の検討することにより HMGB-1 が GVHD の病態に与える影響を明らかにする。次に、HMGB-1 のレセプターである RAGE について、RAGE 抗体、RAGE 欠損マウス、RAGE Tg を過剰発現するトランスジェニックマウスを使い、RAGE と GVHD の関係を明らかにする。

4. 研究成果

血清中の HMGB-1 が移植後の障害により血中に放出されるかを移植後 6 時間、24 時間、7 日目、14 日目、21 日目と経時的に測定した。同種移植後 7 日目には他の群に比べ、有意差をもって HMGB-1 が上昇した。

次に、HMGB-1 の受容体である RAGE を欠損した RAGE KO マウスをレシピエントに使用し急性 GVHD の発症を野生型 WT と比



較した。

RAGE KO マウス群では、移植後 7-10 日の 1 週間前後で多くが早期死亡を認め WT と比

較しても有意に生存率は低い傾向を示した。GVHD スコア、体重減少と合わせて KO 群で WT より強い同種免疫反応が生じている可能性があると考えられた。

さらに抗 HMGB1 抗体投与により急性 GVHD の減弱及び生存率の低下を認めた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

1) Okamoto S, Fujiwara H, Nishimori H, Matsuoka K, Fujii N, Kondo E, Tanaka T, Yoshimura A, Tanimoto M, Maeda Y. Anti-IL-12/23 p40 antibody attenuates experimental chronic graft versus host disease via suppression of IFN- γ /IL-17-producing cells. J Immunol. 査読有 194: 2015, 1357–1363.

doi: 10.4049/jimmunol.1400973.

2) Fujiwara H, Maeda Y, Kobayashi K, Nishimori H, Matsuoka K, Fujii N, Kondo E, Tanaka T, Chen L, Azuma M, Yagita H, Tanimoto M. Programmed Death-1 Pathway in Host Tissues Ameliorates Th17/Th1-Mediated Experimental Chronic Graft-versus-Host Disease. J Immunol. 査読有 193(5): 2014 ;2565-73

doi: 10.4049/jimmunol.1400954

[学会発表](計 4 件)

1) Taiga Kuroi, Sachiyo Okamoto, Kyosuke Saeki, Yujin Kobayashi, Hisakazu Nishimori, Hideaki Fujiwara, Ken-ichi Matsuoka, Nobuharu Fujii, Eisei Kondo, Mitsune Tanimoto, Yoshinobu Maeda Anti-IL-12/23 p40 Antibody Attenuates Chronic Graft Versus Host Disease Via Suppression of IFN- γ /IL-17 -Producing Cells. American Society of

Hematology 56th Annual Meeting, San Francisco USA. December 5, 2014

2) Fujiwara H, Maeda Y, Kobayashi K, Nishimori H, Nishinohara M, Okamoto S, Matsuoka K, Kondo E, Fujii N, Shinagawa K, Tanimoto M. PD-1 pathway of donors and recipients modulate chronic graft-versus-host disease through Th1 and Th17 in mouse model. 日本造血幹細胞移植学会 2014 3/7-9 沖縄

3) H Fujiwara, K Kobayashi, H Nishimori, M Nishinohara, S Okamoto, K Matsuoka, E Kondo, N Fujii, K Shinagawa, M Tanimoto and Y Maeda. Contribution of the PD-1-PD-L pathway to chronic graft-versus-host disease. (BMT Tandem Meetings) 2013 2/15-18 Salt Lake USA.

4) H Fujiwara, Y Maeda, K Kobayashi, H Nishimori, K Matusoka, M Azuma, Y Hideo, L Chen, and M Tanimoto. Host tissue PD-1 pathway contribute to murine chronic graft-versus-host disease via Th1+Th17+ cells. ASH 2013 12/6-10 New Orleans USA.

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前田嘉信 (MAEDA, Yoshinobu)

岡山大学・岡山大学病院・講師

研究者番号：60403474

(2) 研究分担者

谷本光音 (TANIMOTO Mitsune)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：10240805

(3) 連携研究者

()

研究者番号：