

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591888

研究課題名(和文) sTLRに着目した難病劇症肝不全に対する新治療法の開発と国際研究拠点の構築

研究課題名(英文) Development of a new effective therapy of fulminant hepatitis to focus on sTLR.

研究代表者

田邊 稔 (Tanabe, Minoru)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：50197513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：当グループでは核内タンパクであるHMGB1に着目し、劇症肝不全におけるkey mediatorであることを示してきた。今回HMGB1受容体であるsTLRに着目し、アデノウイルスベクターを用いてsTLRを大小の動物実験モデルへ遺伝子導入することを試みたが、sTLRを産生するアデノウイルスベクターの完成に至らなかった。代わりにHMGB1阻害タンパクA boxのウイルスベクター及び HMGB1の受容体RAGEの可溶性タンパク部分sRAGEのプラスミド作成に成功し、それぞれを用いた遺伝子導入によってラット劇症肝不全モデルの病態改善効果を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：We paid attention to High-mobility group box1(HMGB1) and showed as an important mediator of fulminant hepatitis. We tried to make adenovirus vector which encoded amino acids of sTLR, the receptor of HMGB1. We couldn't make the adenovirus vector, but we succeeded in making adenovirus vector which encoded amino acids of HMGB1 Box-A protein known to act as a competitive inhibitor of HMGB1 and plasmid of sRAGE known as soluble Receptor for advanced glycation endproducts like HMGB1. Transfection these products to rats of fulminant hepatitis showed decreased hepatic enzymes, plasma HMGB1, and histological findings and survival were improved.

研究分野：医歯薬学

キーワード：HMGB1 sTLR 遺伝子治療

1. 研究開始当初の背景

劇症肝不全は、種々の原因によって急速に肝不全に陥る予後不良な疾患で、血漿交換と血液濾過透析を組み合わせた体外循環療法など内科的治療が施行されているがその効果は十分ではない。肝移植により比較的良好な治療成績が得られてきたが、限られた臓器提供を考えると肝移植に代わる新しい治療法の開発が期待されている。新治療法の開発は、内科的治療によって救われない多くの患者の救命につながるばかりか、肝移植までのbridgeとしての役割をも担うであろう。

2. 研究の目的

極めて予後不良といわれる劇症肝不全は、肝移植以外には有効な治療法がない。本研究では、各種炎症性疾患で治療標的として注目されている核内タンパク High mobility group box-1 (以下 HMGB1)とその可溶性受容体 (sTLR) に着目し、遺伝子治療、細胞移植、体外循環治療などの特殊技術に絡め、研究・開発を進める。さらに HMGB1 国際的研究ネットワークの中で先導的拠点の構築を目指す。

3. 研究の方法

(1)小動物を用いた急性肝不全モデルにおいて、a) sTLR の遺伝子導入療法、b) sTLR 産生性肝細胞の細胞移植、c) sTLR 産生性肝細胞内臓リアクターを用いた体外循環治療等の障害改善効果を検討する。(2)前臨床的モデルとして、大動物を用いた急性肝不全モデルにおいて、sTLR の遺伝子導入療法を用いた障害改善を目指す。さらに、(3)sTLR 関連治療の臨床応用を念頭に、生体・脳死の肝移植レシピエントにおける、HMGB1、sTLR 動態の検討をする。

4. 研究成果

アデノウイルスベクターを用いて sTLR を大小の動物実験モデルへ遺伝子導入することを試みたが、sTLR を産生するアデノウイルスベクターの完成に至らなかった。代わりに HMGB1 阻害タンパク A box のウイルスベクターの作成に成功し、ラット初代培養肝細胞への導入に成功した。さらにマクロファージから産生される炎症性サイトカイン TNF を、細胞に感染させることで産生された Abox タンパクが抑制することを示した。そして、ラットの薬剤誘導性急性肝不全モデルにおいて、アデノウイルスベクター A box の導入によりさまざまな採血パラメータや

生存率が改善することを示した。

また、HMGB1 の受容体 RAGE の可溶性タンパク部分 sRAGE のプラスミド作成にも成功し、ラットの薬剤誘導性急性肝不全モデルにおいて、sRAGE プラスミドの導入によりさまざまな採血パラメータが改善することを示した。

以上の成果を以下の論文・学会発表において発表している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

- (1) Tanaka M, Shinoda M, Takayanagi A, Oshima G, Nishiyama R, Fukuda K, Yagi H, Hayashida T, Masugi Y, Suda K, Yamada S, Miyasho T, Hibi T, Abe Y, Kitago M, Obara H, Itano O, Takeuchi H, Sakamoto M, Tanabe M, Maruyama I, Kitagawa Y. Gene transfer of high-mobility group box 1 box-A domain in a rat acute liver failure model. J Surg Res, ahead of print, 2014, 査読有
- (2) Nishiyama R, Shinoda M, Tanabe M, Oshima G, Takano K, Miyasho T, Fuchimoto Y, Yamada S, Inoue T, Shimada K, Suda K, Tanaka M, Hayashida T, Yagi H, Kitago M, Obara H, Itano O, Takeuchi H, Kawachi S, Maruyama I, Kitagawa Y. Hemoadsorption of high-mobility group box chromosomal protein 1 using a column for large animals. Eur Surg Res, 51(3-4): 181-190, 2014, 査読有
- (3) 篠田昌宏, 田邊稔, 大島剛, 高野公德, 西山亮, 田中真之, 林田哲, 八木洋, 阿部雄太, 北郷実, 田中克典, 尾原秀明, 板野理, 須田康一, 竹内裕也, 河地茂行, 北川雄光. HMGB1 制御による急性肝不全に対する新治療の開発 診療に役立つ治療法の研究 . 日本腹部救急医学会雑誌, 33(3): 535-542, 2013, 査読無
- (4) Oshima G, Shinoda M, Tanabe M, Ebinuma H, Nishiyama R, Takano K, Yamada S, Miyasho T, Masugi Y, Matsuda S, Suda K, Fukunaga K, Matsubara K, Hibi T, Yagi H, Hayashida T, Yamagishi Y, Obara H, Itano O, Takeuchi H, Kawachi S, Saito H, Hibi T, Maruyama I, Kitagawa Y. Increased plasma levels of high mobility group box 1 in patients with acute liver failure. Eur Surg Res, 48(3): 154-162, 2012, 査読有

〔学会発表〕(計 8 件)

- (1) 雨宮隆介, 篠田昌宏, 西山亮, 大島剛, 高野公德, 井上武大, 島田薫, 山田晋吾, 宮庄拓, 北郷実, 尾原秀明, 竹内裕也, 板野理, 丸山征郎, 北川雄光. プタ急性肝不全モデルにおける HMGB1 吸着療法の試み. 第 21 回外科侵襲とサイトカイン研究会, 徳島大学藤井節郎記念医科学センター, 徳島県徳島市, 2014.12.13
- (2) 雨宮隆介, 篠田昌宏, 西山亮, 大島剛, 高野公德, 宮庄拓, 瀧本康史, 山田晋吾, 井上武大, 島田薫, 須田康一, 田中真之, 八木洋, 林田哲, 阿部雄太, 日比泰造, 北郷実, 尾原秀明, 竹内裕也, 板野理, 丸山征郎, 北川雄光. プタ急性肝不全モデル・体外循環モデルの確立. 第 5 回癌と炎症と抗酸化研究会, ビーコンプラザ, 大分県別府市, 2014.11.15
- (3) 雨宮隆介, 篠田昌宏, 田中真之, 高柳淳, 西山亮, 大島剛, 山田晋吾, 宮庄拓, 須田康一, 八木洋, 林田哲, 阿部雄太, 日比泰造, 北郷実, 尾原秀明, 竹内裕也, 板野理, 丸山征郎, 田邊稔, 北川雄光. ラット急性肝不全モデルにおける HMGB1 A box 遺伝子導入の病態改善効果. 第 100 回日本消化器病学会総会, 東京国際フォーラム, 東京都千代田区, 2014.4.23
- (4) 篠田昌宏. ラット急性肝不全モデルにおける HMGB1 A box 遺伝子導入の効果. 第 50 回日本腹部救急医学会総会, 京王プラザホテル, 東京新宿区, 2014.3.6
- (5) 篠田昌宏, 田中真之, 西山亮, 大島剛, 高野公德, 海老沼浩利, 高柳淳, 山田晋吾, 宮庄拓, 須田康一, 林田哲, 八木洋, 阿部雄太, 日比泰造, 北郷実, 尾原秀明, 竹内裕也, 板野理, 丸山征郎, 田邊稔, 北川雄光. HMGB1 に着目した急性肝不全の病態理解と治療法の開発. 第 39 回日本急性肝不全研究会, 京王プラザホテル, 東京新宿区, 2013.6.5
- (6) 篠田昌宏, 田邊稔, 田中真之, 西山亮, 大島剛, 高野公德, 海老沼浩利, 高柳淳, 山田晋吾, 宮庄拓, 須田康一, 林田哲, 八木洋, 阿部雄太, 日比泰造, 北郷実, 田中克典, 尾原秀明, 竹内裕也, 板野理, 丸山征郎, 北川雄光.

HMGB1 制御による急性肝不全に対する新治療の開発. 第 40 回日本集中治療医学学会学術集会, キッセイ文化ホール(松本文化会館), 長野県松本市, 2013.02.28

- (7) 篠田昌宏, 田邊稔, 高野公德, 大島剛, 西山亮, 海老沼浩利, 高柳淳, 山田晋吾, 宮庄拓, 松原健太郎, 須田康一, 林田哲, 八木洋, 尾原秀明, 竹内裕也, 板野理, 河地茂行, 斉藤英胤, 日比紀文, 丸山征郎, 北川雄光. 急性肝不全患者における HMGB1 動態と動物モデルにおける HMGB1 制御の効果. 第 112 回日本外科学会定期学術集会, 幕張メッセ, 千葉県美浜区, 2012.04.14
- (8) 篠田昌宏, 田邊稔, 西山亮, 高柳淳, 大島剛, 田中真之, 山田晋吾, 宮庄拓, 須田康一, 松原健太郎, 八木洋, 林田哲, 北郷実, 尾原秀明, 竹内裕也, 板野理, 福永興彦, 河地茂行, 丸山征郎, 北川雄光. HMGB1 A box 遺伝子導入ベクターの樹立とラット急性肝不全モデルにおける予後改善効果. 第 98 回日本消化器病学会総会, 京王プラザホテル, 東京新宿区, 2012.04.19

〔図書〕(計 1 件)

- (1) 篠田昌宏, 田邊稔, 板野理, 尾原秀明, 北郷実, 田中克典, 阿部雄太, 八木洋, 日比泰造, 藤野明浩, 下島直樹, 星野健, 黒田達夫, 北川雄光. 慶應義塾大学における急性肝不全に対する成人 ABO 血液型不適合生体肝移植. ABO 血液型不適合移植の新戦略 2013, In: 高橋公太, 田中紘一 Eds, 1Ed. pp.63-68, 日本医学館, 東京, 2013.07

〔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:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田邊 稔 (Tanabe Minoru)
慶應義塾大学・医学部・講師(非常勤)
研究者番号: 50197513

(2) 研究分担者

田中 真之 (Tanaka Masayuki)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号: 30573414

篠田 昌宏 (Shinoda Masahiro)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号: 50286499

西山 亮 (Nishiyama Ryo)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号: 70528322

高柳 淳 (Takayanagi Atsushi)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号: 80245464