

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461947

研究課題名(和文) DAMP複合体をターゲットとした外科侵襲時の新たな臓器障害制御システムの開発

研究課題名(英文) New regulation system for liver injury after surgery via immunological reaction against DAMPs

研究代表者

篠浦 先 (Shinoura, Susumu)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：40379772

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：外科侵襲に伴う臓器障害は時に致死的になる。この一因として外科侵襲に対する過剰な免疫応答が挙げられている。本研究ではこの免疫応答システムの解析を行い、その制御によって臓器障害の抑制、ひいては予後の改善を目的として研究を行った。外科侵襲による免疫応答の原因物質であるDAMPsの中のHMGB1に注目した。HMGB1はマクロファージを介して血管新生の制御に関与していると考えられた。このHMGB1の制御により、肝阻血再灌流モデルの予後改善を認めた。これは、肝再生が肝細胞の肥大変化ではなく、肝細胞増殖にシフトすることによるものと考えられた。HMGB1の制御は術後の阻血再灌流障害を改善させると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Organ failure after surgery sometimes becomes a cause of death. We think hyper immunological response is one of this causes. I analyzed this immunoresponse system and studied for prognostic improvement of organ failure via immunological control. I paid attention to HMGB1 in DAMPs which was a causative agent of the immunoresponse by the surgery. It was thought that HMGB1 participated in angiogenetic control via macrophage. The anti-HMGB1 mAb significantly ameliorated the degree of ischemia/reperfusion injury of the liver. We think this depends on hepatocellular proliferation. HMGB1 control may enable improvement of ischemia/reperfusion injury of the liver.

研究分野：外科侵襲

キーワード：DAMPs 肝障害 HMGB1 外科侵襲

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病は、high mobility group box-1(HMGB-1)などの damage associated molecular pattern molecules(DAMPs)を原因とした慢性炎症が病態生理の本質と考えられている。また、DAMPs は術後の臓器障害や免疫応答の原因因子として提唱されている。我々は手術侵襲時において HMGB-1 が複合体を形成し、過剰な免疫応答や臓器障害を誘発すると共に、修復過程においては、臓器再生に関与するデータを得た。DAMPs の制御による術後合併症の抑制を目的とした戦略的治療の確立は危急の課題であると考えられた。

2. 研究の目的

HMGB1 を主体とした DAMPs 複合体が手術侵襲時の免疫応答に及ぼす影響を解析し、これを制御することによる、外科侵襲時における新たな臓器障害制御システムの確立を目指す

3. 研究の方法

肥満・糖尿病および動脈硬化症のラットをもちいた肝阻血再灌流 + 肝切除モデルを作成し、肝再生や手術成績におよぼす影響の解析を行う。また、高齢マウスや生活習慣病の動物モデルでの肝切除において、PAMPs を投与し、TLRs や RAGE を介した自然免疫機構が肝再生や手術成績に及ぼす影響の解析を行った。検討項目は、蛍光染色、flow cytometry、Western blot、mRNA 解析を用い、HMGB1 TLRs RAGE の発現、肝臓の IL-6 TNF Ki67 燐酸化 STAT3 の発現の検討を行った。

また、免疫担当細胞を FACS にて抽出し、HMGB1 や PAMPs による活性化を行った上で、flow cytometry ELISA proliferation assay を用いて、単球、マクロファージ上の接着因子 (ICAM-1 B7.1 B7.2 CD40) の発現および各種サイトカイン (TNF IFN- IL-10 IL-12 IL-18) の産生能および T リンパ球の増殖反応を解析する。その反応制御について、TM RAGE 阻害剤 mTOR 阻害剤 合成 CRP を検討した。

4. 研究成果

ラット肝臓の虚血再灌流傷害 + 肝切除モデルにおいて、HMGB1 を主体とした DAMPs 複合体に対する抗体療法 (抗 HMGB1 抗体) の投与によって虚血再灌流直後から術後 24 時間にかけての肝細胞内外での HMGB1 の発現が抑制され、温阻血再灌流障害が軽減された。また、肝再生については、温阻血再灌流障害時には

肝細胞肥大が主体であった様式が、抗体療法によって、肝細胞増殖主体へとシフトする所見を得た。細胞内シグナル伝達解析にて燐酸化 STAT 3 の発現増強とともに p21 の抑制が認められ、これらを介しての反応と考えられた。また、この抗体療法により、生存率の改善をみた。

免疫担当細胞反応の解析では、HMGB1 がマクロファージを M1 または M2 への分化を増強させることで、血管新生調節効果を持つことが示唆された。

DAMPs のひとつである HMGB1 の抗体による制御は、マクロファージを介した血管新生調節や、燐酸化 STAT3 発現増強、p21 の抑制により、肝再生の様式を細胞肥大から細胞増殖へシフトすることにより、肝阻血再灌流傷害を改善させ、ひいては予後改善にも寄与すると考えられた。

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 5 件)

Sugihara M, Sadamori H, Nishibori M, Sato Y, Tazawa H, Shinoura S, Umeda Y, Yoshida R, Nobuoka D, Utsumi M, Ohno K, Nagasaka T, Yoshino T, Takahashi HK, Yagi T, Fujiwara T

Anti-high mobility group box 1 monoclonal antibody improves ischemia/reperfusion injury and mode of liver regeneration after partial hepatectomy

American J of Surgery Jan;211(1) 179-188 2016

査読あり

Kobori T, Fujiwara S, Miyagi K, Harada S, Nakamoto K, Nakagawa T, Takahashi H, Narita M, Tokuyama S

Involvement of Moesin in the Development of Morphine Analgesic Tolerance through P-glycoprotein at the Blood-Brain Barrier

Drug Metab Pharmacokinet Dec25;29(6) 482-489 2014

査読あり

Okuma Y, Liu K, Wake R, Nishimura Y, Hui Z, Teshigawara K, Haruma J, Yamamoto Y, Yamamoto H, Date I, Takahashi HK, Mori S, Nishibori M.

Glycyrrhizin inhibits traumatic brain injury by reducing HMGB1-RAGE interaction

Neuropharmacology Oct;85 18-26 2014
査読あり

Takahashi H, Sadamori H, Teshigawara K, Niwa A, Liu K, Wake H, Mori S, Yoshino T, Nishibori M.

Histamine inhibits high mobility group box-1 induced adhesion molecule expression on human monocyte

Eur J Pharmacol. 718(1-3) 305-313 2013
査読あり

貞森裕 佐藤康晴 西堀正洋 佐藤太祐 信岡大輔 杉原正大 八木孝仁 藤原俊義

生体肝移植における high mobility group box-1 の動態解析

日本消化器外科学会雑誌 46(3) 232-235 2013
査読あり

〔学会発表〕(計 5件)

杉原正大 貞森裕 西堀正洋 佐藤康晴 田澤大 吉田龍一 榎田祐三 篠浦先 永坂岳司 八木孝仁 藤原俊義

温阻血再灌流 + 肝切除モデルにおけ HMGB1 制御による再灌流障害および肝再生への影響解析

第114回日本外科学会定期学術集会 2014年 4月3 - 5日 京都

Sugihara M, Sadamori H, Nishibori M, Sato Y, Tazawa H, Shinoura S, Umeda Y, Yoshida R, Nobuoka D, Utsumi M, Yoshino T, Yagi T, Fujiwara T

Anti-HMGB1 Mnoclonal Atibody improve Ischemia/Reperfusion Injury and the Model of Liver Rereneration in Rat Partial Hepatectomy

HMGB1 World Congress 2013 Oct . 9th-11th 2013 New York USA

杉原正大 貞森裕 篠浦先 榎田祐三 吉田龍一 信岡大輔 内海方嗣 谷口文崇 田村周太 高木弘誠 藤原俊義 八木孝仁

肝臓の虚血再灌流傷害 + 肝切除モデルにお

ける HMGB- 1 の動態・機能解析と制御

第 49 回日本移植学会総会 2013 年 9 月 5 - 7 日 京都

杉原正大 貞森裕 佐藤太祐 吉田龍一 榎田祐三 篠浦先 田澤大 永坂岳司 八木孝仁 藤原俊義

温阻血再灌流 + 70% 肝切除における H M B B 1 の動態解析と制御

第 68 回日本消化器外科学会総会 2013 年 7 月 1 7 - 1 9 日 宮崎

杉原正大 貞森裕 篠浦先 榎田祐三 吉田龍一 信岡大輔 内海方嗣 高木弘誠 藤原俊義 八木孝仁

HMGB1 制御による阻血再灌流傷害の軽減効果と肝再生機序への影響解析

第 31 回日本肝移植研究会 2013 年 7 月 4・5 日 熊本

〔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：
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
篠浦 先 (Susumu Shinoura)
岡山大学病院 助教
研究者番号：40379772

(2)研究分担者
高橋 英夫 (Hideo Takahashi)

近畿大学・医学部 教授
研究者番号：60335627

(3)連携研究者

貞森 裕 (Hiroshi Sadamori)
岡山大学医歯薬学総合研究科 准教授
研究者番号：30362974