

令和 3 年 4 月 28 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06905

研究課題名(和文) ホメオダイナミクス関連メディエーターを標的にしたニッチ機能改善薬開発の基礎的研究

研究課題名(英文) Basic study of the niche function improvement medicine development that targeted a homeodynamics-related mediator

研究代表者

高橋 英夫 (TAKAHASHI, Hideo)

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：60335627

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)：恒常性維持機構(ホメオスタシス)を経年変化するホメオダイナミクスとして解析した知見を基に、自家組織による再生・修復促進法の開発が期待される。この開発は、様々な医療の分野にに影響を及ぼすのみならず、老年期のQOLの向上といった人類の希求するテーマを解決するものである。一般に、適度な運動負荷が良好な結果をもたらすことは知られているが、これを様々な方法で解析して、根拠あるものとして証明することが大切である。まず、申請者らはそのための実験系を確立できた。適度な運動負荷という曖昧なものではなく、運動の代わりとなる、治療薬候補探索と提案をすることができた。治療薬候補の病態改善効果を検討できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高騰化する医療費の問題を解決するためには、適度な運動負荷についての解析をもとに、ホメオスタシス改善薬の開発が最良の方法と考えられる。これまで申請者が有する知見をもとに、進めてきたホメオスタシス改善薬の働きを、新たな実験系で評価することは、実用化に向けて重要なステップと考えた。本研究の成果はこれらの理由で学術的意義や社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Based on the knowledge obtained by analyzing the homeostasis mechanism as homeodynamics that change over time, it is expected that a method for promoting regeneration and repair by autologous tissue will be developed. This development not only affects various medical fields, but also solves the themes that humankind wants, such as improving the quality of life in old age. In general, it is known that moderate exercise load gives good results, but it is important to analyze this by various methods and prove it as justified. First, the applicants were able to establish an experimental system for that purpose. It was not an ambiguous thing of moderate exercise load, but I was able to search for and propose therapeutic medicine candidates as an alternative to exercise. The effect of improving the pathological condition of the therapeutic medicine candidate could be examined.

研究分野：薬理学

キーワード：マクロファージ 血管新生 HMGB1 脳組織ニッチ 造血幹細胞ニッチ

1. 研究開始当初の背景

(1) 本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ

恒常性維持機構(ホメオスタシス)を経年変化するホメオダイナミクスとして解析した知見を基に、自家組織による再生・修復促進法の開発が期待される。ホメオスタシス影響下において、種々の組織における微小環境のうち、血管内皮細胞やマクロファージ(M₁)などが重要な働きをする。M₁ サブセットには組織障害作用をもつ M1 と組織再生に関与する M2 がある。ホメオスタシス影響下での M2M₁ による組織修復機構が注目される。Damage-associated molecular patterns(DAMPs)の内、ホメオスタシスを担うメディエーターとして知られる high mobility group box1(HMGB1)は、元々クロマチンに結合する構造蛋白あるいは遺伝子の転写・調節に関与する核内蛋白として知られてきたが、組織障害時に壊死組織から受動的放出され、サイトカイン様作用を示す。一方、HMGB1 は血管新生を介して組織再生を誘導することが報告された。申請者らは、血管傷害を抗 HMGB1 抗体で抑制できることを報告したが(<引用文献> Liu, Takahashi et al. FASEB J 2007; Zhang, Takahashi et al. Stroke 2011; Bobik, Takahashi et al. Circulation 2009)、抗体療法として特許成立させた(特許第 3876325 号、特許第 3882090 号)、HMGB1 の血管新生誘導機序への関与について、ホメオダイナミクスの視点からの研究報告はない。

(2) これまでの研究成果を踏まえ着想に至った経緯

申請者らは、ホメオスタシスによる組織傷害・再生の機序の検討を高血圧性脳卒中自然発症ラット(Spontaneously Hypertensive Stroke Prone Rat:SHRSP)を用いて行なった。発症後脳組織障害壊死部周囲に核外 HMGB1 と M1M₁ 系ミクログリアの集簇を認め、再生誘導要素である運動介入によって、HMGB1 と M2M₁ 系細胞の集簇を認めた(<引用文献> Niwa, Takahashi et al. Brain Struct Funct.2016)。検討の上、ホメオスタシス因子 HMGB1 は免疫応答増幅効果を持って、傷害・再生に関与すると考えた。一方、障害局所由来 HMGB1 の血中好中球活性化誘導による内皮細胞傷害のメカニズムを報告した(<引用文献> Wake, Takahashi et al. EBioMedicine 2016)。血漿タンパク質 histidine-rich glycoprotein(HRG)は肝臓で生成され、敗血症モデル実験では循環血中好中球静穏化により、血管内皮細胞を維持することの知見を得た。HRG はホメオスタシス調節機能を有すると考えた。これらの仮説を証明するために、様々な因子により分化した M1/M2 M₁ の血管傷害又は新生促進機序について検討する。さらに、ホメオスタシス調節による血管内皮細胞への影響を検討して、ホメオダイナミクス関連の再生治療薬の開発をする為の基礎的知見を得たいと考えた。

(3) この研究の発展性について

近年注目されるマクロファージと独自に特定した再生誘導因子を標的として血管新生機序を解明する。研究からの知見が、すでに開発した薬物や、新しい創薬研究に繋がると考える。

2. 研究の目的

申請者らは、ホメオスタシスを担う因子として知られる、Interleukin(IL)-18、IL-33、advanced glycation end product(AGE)、HMGB1 などの組織傷害・再生効果を検証してきた。本研究では、M₁ による血管新生効果の機序を明らかにする。また、血管新生効果と DAMPs の相互作用について検討する。細胞培養系と脳組織再生モデルを用いて、M2 polarization を誘導して、

ホメオダイナミクス再生に関与する因子とその機序を解析する。如此くして、組織再生創薬の基礎的研究を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

ホメオダイナミクス影響下の組織修復機構への再生誘導因子の関与について研究した。1) **M2 polarization と血管新生機序の解明**: HMGB1 が M2 polarization 効果を増幅することを証明する。関与受容体を特定する。管腔形成モデルで、M2 polarization による血管新生機序解明を継続する。HRG は HMGB1 の管腔形成効果を調節することを示す。2) **脳組織ニッチ機能活性化機序の解明**: SHRSP の運動群生存例において、上記研究で発見した機序が血管ニッチ増殖や内在性組織幹細胞賦活化に関与することを証明する。HRG の相転移や組織再生機序への関与について検討して、HMGB1 活性緩衝薬としての可能性を評価する。3) **造血幹細胞ニッチ機能活性化機序の解明**: M による血管性ニッチ機能調節と幹細胞の静止状態や分化・増殖能維持効果を究明する。

4. 研究成果

1) 適切な組織環境維持には、適度なホメオスタシスが必要である。血管新生効果が知られる、様々なホメオスタシス因子の作用機序については、未だ十分に解明されていない。血管新生 *in vitro* モデルを用いた検討の結果、血管内皮細胞に発現するスカベンジャー受容体(SR)への親和性のあるホメオスタシス因子の直接的血管新生作用が見られた(査読付学術誌に投稿中)。この機序で、ホメオスタシス因子へ対応する SR は一つとは限らない。ホメオスタシス因子で SR 刺激した M は血管新生には関与しない。SR 作用を阻害する硫酸多糖類を候補薬として同定した(<発表論文> [Nishinaka, Takahashi et al. Diabetes & Vascular Disease Research 2020](#): Hamazaki, [Takahashi et al. Scientific reports 2018](#))。一方、SR との親和性のないホメオスタシス因子は、M2 分化誘導促進を介する血管新生作用が見られた(<引用文献> [Kobori, Takahashi et al. Frontiers in immunology 2018](#))。つまり、Th2 サイトカインなどの M2 分化誘導因子の働きをホメオスタシス因子が増幅することによって働く。如此く、SR との親和性によって、ホメオスタシス因子の作用機序も異なる(図 1)。SR との親和性が確定しないホメオスタシス因子が未だ多く、治療薬開発を困難にしている。

図 1 SR と血管新生

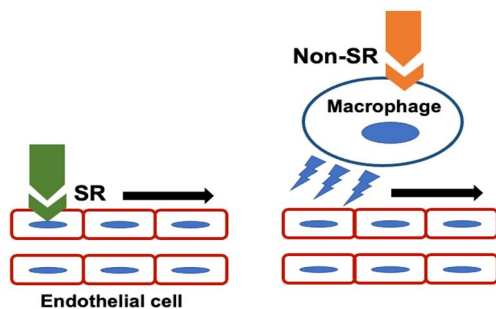
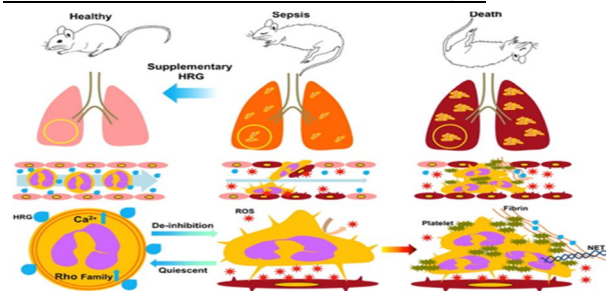


図 2 ARDS における HRG の血管傷害抑制



或いは、SR との親和性にかかわらず、ホメオスタシス因子の生理活性を調節できるものを探索する。過度のホメオスタシスは組織傷害と再生の遅延を意味する。HRG は、ホメオスタシス因子の働きを調節して(図 2)、血管内皮細胞の傷害を抑制し(<発表論文> [Gao, Takahashi et al. British journal of pharmacology 2019](#))、適切な組織環境を復活する。すでに、申請者は、候補薬として HRG のリコンビナント体を開発している(PCT/JP2013/64779)。

(2)ホメオスタシス活性化効果を有する運動介入をした、SHRSP の卒中発症後生存例では、神経

幹細胞や血管新生を認めたと、SHRSPの状態不良にて、その増殖因子の同定は進んでいない。血小板はHRGを含有して、局所輸送の有効な手段となるが、再生開始前に血小板増加が見られた(<発表論文> Nishinaka, Takahashi et al. Biomarkers 2020)ので、HRGが関与するものと考えられる。

(3)運動群では発症以降の経過を見ると、非運動群に比べて著明に、経年変化した骨髄の造血幹細胞の静止期が維持され、ニッチによる恒常性が認められた(査読付学術誌に投稿準備中)。Mは骨髄には散見されるが、ニッチの機能には関与しないと考える。以上のような、基礎的知見を得た。

<引用文献>

Liu K, Takahashi HK, Nishibori M, et al. (代表者 11人中3番目) Anti-high mobility group box 1 Monoclonal antibody ameliorates brain infarction induced by transient ischemia in rats. **FASEB J** 21:3904-3916, 2007.

Zhang J, Takahashi HK, Nishibori M et al. (代表者 12人中2番目、共同筆頭) Anti-high mobility group box-1 monoclonal antibody protects the blood-brain barrier from ischemia-induced disruption in rats. **Stroke**. 42 :1420-28, 2011.

Bobik A, Takahashi HK, Nishibori M, et al. (代表者 10人中8番目) A Proatherogenic Role for HMGB1 in Atherosclerosis. **Circulation**, 120:S1155, 2009.

Niwa A, Nishibori M, Takahashi H., et al. (代表者 10人中10番目)corresponding author)Voluntary exercise induces neurogenesis in the hypothalamus and ependymal lining of the third ventricle. **Brain Struct Funct**. 2016 221(3):1653-66

Wake H, Takahashi H, Nishibori M, et al. (代表者 13人中9番目)Histidine-Rich Glycoprotein Prevents Septic Lethality through Regulation of Immunothrombosis and Inflammation. **EBioMedicine** , 9:180-194,2016

Kobori T, Nishibori M, Takahashi H (代表者 12人中12番目)Interleukin-18 Amplifies Macrophage Polarization and Morphological Alteration, Leading to Excessive Angiogenesis. **Frontiers in immunology** 9:334,2018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11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 3件）

1. 著者名 Kitaura Atsuhiko, Nishinaka Takashi, Hamasaki Shinichi, Hatipoglu Omer Faruk, Wake Hidenori, Nishibori Masahiro, Mori Shuji, Nakao Shinichi, Takahashi Hideo	4. 巻 16
2. 論文標題 Advanced glycation end-products reduce lipopolysaccharide uptake by macrophages	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 0245957 ~ 0245957
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0245957	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 Nishinaka Takashi, Mori Shuji, Yamazaki Yui, Niwa Atsuko, Wake Hidenori, Yoshino Tadashi, Nishibori Masahiro, Takahashi Hideo	4. 巻 17
2. 論文標題 A comparative study of sulphated polysaccharide effects on advanced glycation end-product uptake and scavenger receptor class A level in macrophages	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetes and Vascular Disease Research	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) 10.1177/1479164119896975	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 Gao Shangze, Wake Hidenori, Sakaguchi Masakiyo, Wang Dengli, Takahashi Youhei, Teshigawara Kiyoshi, Zhong Hui, Mori Shuji, Liu Keyue, Takahashi Hideo, Nishibori Masahiro	4. 巻 23
2. 論文標題 Histidine-Rich Glycoprotein Inhibits High-Mobility Group Box-1-Mediated Pathways in Vascular Endothelial Cells through CLEC-1A	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101180 ~ 101180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101180	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 Nishinaka Takashi, Yamazaki Yui, Niwa Atsuko, Wake Hidenori, Mori Shuji, Yoshino Tadashi, Nishibori Masahiro, Takahashi Hideo	4. 巻 25
2. 論文標題 Alterations of lymphocyte count and platelet volume precede cerebrovascular lesions in stroke-prone spontaneously hypertensive rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomarkers	6. 最初と最後の頁 305 ~ 313
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/1354750X.2020.1750703	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 Watanabe Masahiro, Toyomura Takao, Tomiyama Mayuko, Wake Hidenori, Liu Keyue, Teshigawara Kiyoshi, Takahashi Hideo, Nishibori Masahiro, Mori Shuji	4. 巻 47
2. 論文標題 Advanced glycation end products (AGEs) synergistically potentiated the proinflammatory action of lipopolysaccharide (LPS) and high mobility group box-1 (HMGB1) through their direct interactions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Biology Reports	6. 最初と最後の頁 7153 ~ 7159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11033-020-05783-y	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 Gao S, Wake H, Gao Y, Wang D, Mori S, Liu K, Teshigawara K, Takahashi H, Nishibori M	4. 巻 176
2. 論文標題 Histidine-rich glycoprotein ameliorates endothelial barrier dysfunction through regulation of NF- B and MAPK signal pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Br J Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 2808-2824
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bph.14711	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 Nishibori M, Mori S, Takahashi HK	4. 巻 140
2. 論文標題 Anti-HMGB1 monoclonal antibody therapy for a wide range of CNS and PNS diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Pharmacol Sci	6. 最初と最後の頁 94-101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2019.04.006	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 Okuma Y, Wake H, Teshigawara K, Takahashi Y, Hishikawa T, Yasuhara T, Mori S, Takahashi HK, Date I, Nishibori M	4. 巻 122
2. 論文標題 Anti-High Mobility Group Box 1 Antibody Therapy May Prevent Cognitive Dysfunction After Traumatic Brain Injury	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 World neurosurgery	6. 最初と最後の頁 e864-e871
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.wneu.2018.10.164.	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 Terao K, Wake H, Adachi N, Liu K, Teshigawara K, Takahashi H, Mori S, Nishibori M	4. 巻 47
2. 論文標題 Histidine-Rich Glycoprotein Suppresses Hyperinflammatory Responses of Lung in a Severe Acute Pancreatitis Mouse Model	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pancreas	6. 最初と最後の頁 1156-1164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MPA.0000000000001153	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 Hamasaki S, Kobori T, Yamazaki Y, Kitaura A, Niwa A, Nishinaka T, Nishibori M, Mori S, Nakao S, Takahashi H	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of scavenger receptors-1 class A stimulation on macrophage morphology and highly modified advanced glycation end product-protein phagocytosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 5901
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-24325-y	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 Uezono N, Zhu Y, Fujimoto Y, Yasui T, Matsuda T, Nakajo M, Abematsu M, Setoguchi T, Mori S, Takahashi HK, Komiya S, Nishibori M, Nakashima K	4. 巻 9
2. 論文標題 Prior Treatment with Anti-High Mobility Group Box-1 Antibody Boosts Human Neural Stem Cell Transplantation-Mediated Functional Recovery After Spinal Cord Injury	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem cells	6. 最初と最後の頁 334
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/stem.2802	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12件 (うち招待講演 0件/うち国際学会 6件)

1. 発表者名 西中崇、ハティポール オメル ファルク、和氣秀徳、森秀治、西堀正洋、高橋英夫
2. 発表標題 血管内皮細胞におけるAGEスカベンジと血管新生
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takashi Nishinaka, Yui Yamazaki, Atsuko Niwa, Hidenori Wake, Shuji Mori, Tadashi Yoshino, Masahiro Nishibori Hideo Takahashi
2. 発表標題 Enhanced M2 polarization of macrophage and angiogenesis by interleukin-18
3. 学会等名 第9回国際DAMPs とAlarmins シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西中崇、山崎由衣、丹羽淳子、和氣秀徳、森秀治、西堀正洋、高橋英夫
2. 発表標題 Advanced glycation end products の細胞内取り込みによる血管新生の調節機構
3. 学会等名 第136回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西中崇、丹羽淳子、和氣秀徳、森秀治、西堀正洋、高橋英夫
2. 発表標題 脳卒中易発症性高血圧ラットにおいてリンパ球数と血小板容積の変動は脳卒中症状の発現よりも先行する
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎由衣、西中崇、丹羽淳子、森秀治、和氣秀徳、劉克約、西堀正洋、高橋英夫
2. 発表標題 Advanced glycation end products による血管新生促進機序に対するエンドサイトーシスの関与
3. 学会等名 第135回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西中 崇、山崎 由衣、丹羽 淳子、森 秀治、和氣 秀徳、西堀 正洋、高橋 英夫
2. 発表標題 マクロファージによる終末糖化産物の取り込みに対する硫酸化多糖類の影響
3. 学会等名 第134回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山崎 由衣、西中 崇、丹羽 淳子、森 秀治、和氣 秀徳、西堀 正洋、高橋 英夫
2. 発表標題 Advanced glycation end products による血管新生促進機序の解明
3. 学会等名 第134回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Niwa A, Akahoshi Y, Nishinaka T, Takahashi H
2. 発表標題 Exercise intervention improves bone marrow niche and endothelial progenitor cell defects in stroke
3. 学会等名 18th WORLD CONGRESS OF BASIC AND CLINICAL PHARMACOLOGY (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hamasaki S, Kobori T, Kitaura A, Yamazaki Y, Nishinaka T, Niwa A, Nakao S, Nishibori M, Takahashi H
2. 発表標題 Visualization of advanced glycation end-products phagocytosis by macrophages and identification of possible receptor
3. 学会等名 18th WORLD CONGRESS OF BASIC AND CLINICAL PHARMACOLOGY (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Teshigawara K, Niwa A, Wake H, Liu K, Mori S, Takahashi H, Nishibori M
2. 発表標題 Characterization of histidine-rich glycoprotein (HGR) production under the experimental pathological conditions
3. 学会等名 18th WORLD CONGRESS OF BASIC AND CLINICAL PHARMACOLOGY (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nishinaka T, Kobori T, , Hamasaki S, Kitaura A, Niwa A, Mori S, Nishibori M, Takahashi H
2. 発表標題 Screening of sulfated polysaccharide and sugar-related compounds as the regulator of advanced glycation end-products by macrophage
3. 学会等名 18th WORLD CONGRESS OF BASIC AND CLINICAL PHARMACOLOGY (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamazaki Y, Kobori T, Niwa A, Nishinaka T, Mori S, Nishibori M, Takahashi H
2. 発表標題 Interleukin-18 amplifies M2 polarization of macrophage which leads excessive angiogenesis
3. 学会等名 18th WORLD CONGRESS OF BASIC AND CLINICAL PHARMACOLOGY (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

近畿大学医学部薬理学教室
<https://www.med.kindai.ac.jp/pharma/>

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	西堀 正洋 (NISHIBORI Masahiro) (50135943)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	
研究分担者	山崎 由衣 (YAMAZAKI Yui) (50761970)	近畿大学・医学部・助教 (34419)	
研究分担者	西中 崇 (NISHINAKA Takashi) (50786184)	近畿大学・医学部・講師 (34419)	
研究分担者	丹羽 淳子 (NIWA Atsuko) (60122082)	近畿大学・医学部・講師 (34419)	

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