

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591875

研究課題名(和文) sRAGEに着目した脳死移植時代のあらたな肝、小腸虚血再灌流障害抑制法の開発

研究課題名(英文) Development of a new effective therapy of ischemia reperfusion injury of liver and small intestine.

研究代表者

篠田 昌宏 (Sinoda, Masahiro)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：50286499

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では国内で2010年より急速に増加している脳死ドナーからの臓器活用拡大を目指し、効果的な肝虚血再灌流障害の治療法開発を目指した。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(sRAGE)に着目し研究・開発を進めた。sRAGEを産生するアデノウイルスベクターの作製に難渋したが、代わりにHMGB1阻害作用を持つ別のタンパクHMGB1 Aboxを産生するアデノウイルスベクターの作成に成功した。このウイルスベクターをラットの門脈に投与することで、ラット急性肝不全モデルの予後が改善することを示した。

研究成果の概要(英文)：It is clear that the development of an effective therapy, which would serve as a bridge to liver transplantation or regeneration, is needed to reduce the morbidity and mortality associated with ALF. We paid attention to High-mobility group box1(HMGB1) and sRAGE. HMGB1 has recently been identified as an important mediator of various kinds of acute and chronic inflammation and sRAGE is the soluble receptor of HMGB1. Although it was difficult to make adenovirus vector which encoded amino acids of sRAGE, we succeeded in making adenovirus vector which encoded amino acids of HMGB1 Box-A protein known to act as a competitive inhibitor of HMGB1. Then, the vector was injected via the portal vein in rats with acute liver failure. Transfected rats showed decreased hepatic enzymes, plasma HMGB1, and histological findings and survival were significantly improved.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：HMGB1 sRAGE 肝虚血再灌流 肝移植

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 (sRAGE) 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、さらには移植モデルにおいて、a) sRAGE の遺伝子導入療法、b) sRAGE 産生性肝細胞の細胞移植、c) sRAGE 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) さらに sRAGE 関連治療の臨床応用を念頭に、生体・脳死の肝・小腸移植レシピエントにおける、HMGB1、sRAGE 動態の検討をする。

平成 24 年度前期にアデノウイルスベクターの作製、sRAGE 産生性肝細胞の作製、体外循環型リアクターの作成など in vitro の実験を行い、平成 24 年度後期～26 年度に肝不全モデル、さらには移植モデルにおいて各種 strategy の有効性の検討を行う。また、24～26 年度を通して生体、脳死移植患者の血清サンプルを収集し、HMGB1、sRAGE 動態の検討を行う。

4. 研究成果

sRAGE を産生するアデノウイルスベクターの作製に難渋していたが、HMGB1 阻害作用を持つ別のタンパク：HMGB1 Abox を産生するアデノ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 タンパクが抑制されることを示した。

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、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。

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。

今後は実臨床応用を目指していく。具体的には今回のラットの研究では肝不全モデル作成前のアデノウイルスベクター導入であったため、今後は肝不全発生後のアデノウイルスベクター導入を検討していく。

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 3 件)

(1) 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

(2) 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

(3) 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) 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, 東京, 2014.03

- (2) 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, 東京, 2013.06
- (3) 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会学術集会, 松本, 2013.02
- (4) 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, 齋藤英胤, 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, 2012.04
- (5) 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, 福永興壺, 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, 東京, 2012.04
- (6) 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, 福永興壺, 八木洋, 林田哲, 松原健太郎, 北郷実, 尾原秀明, 竹内裕也, 板野理, 河地茂行, 丸山征郎, 北川雄光. HMGB1 阻害タンパク A box の遺伝子導入ベクターの確立とラット急性肝不全モデルにおける予後改善効果. 第 48 回日本腹部救急医学会総会, 金沢, 2012.03
- (7) Shinoda M, Tanabe M, Nishiyama R, Takayanagi A, Oshima G, Takano K, Yagi H, Kawachi S, Maruyama I, Kitagawa Y. Gene Transfer of the A box domain of HMGB1 into the Liver in rat acute liver failure model. 97th American College of Surgeons Clinical Congress, San Francisco, 2011.10

- (8) 篠田昌宏, 田邊稔, 高野公德, 大島剛, 西山亮, 海老沼浩利, 山田晋吾, 宮庄拓, 須田康一, 竹内裕也, 板野理, 河地茂行, 齋藤英胤, 丸山征郎, 日比紀文, 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～. 第 47 回日本腹部救急医学会総会, 福岡, 2011.08

〔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

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

(2) 研究分担者

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

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

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

(3)連携研究者
なし