

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月25日現在

機関番号：17701

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011 ～ 2011

課題番号：23890166

研究課題名（和文）：DIC治療の新規分子標的としてのDAMPs群

研究課題名（英文）：DAMPs: novel molecular targets for DIC therapy

研究代表者：伊藤 隆史 (Ito Takashi)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・特任講師

研究者番号：20381171

研究成果の概要（和文）：

敗血症の際には、核内タンパク質ヒストンが細胞外に放出され、血中のヒストン値が上昇することが報告されているが、今回我々はマウスを用い、血中のヒストン値が上昇すると、肺に血栓が形成され、末梢血小板数が減少し、凝固時間が延長し、出血傾向を示すようになり、播種性血管内凝固症候群 (DIC) とよく似た病態に陥ることを明らかにした。さらには、近年、DIC 治療薬として認可されたリコンビナントトロンボモジュリン製剤はヒストンと結合し、ヒストンによる DIC 様の病態を改善しうることを見いだした。

研究成果の概要（英文）：

Histones, abundant proteins in the nucleus, are released into the extracellular space during sepsis. In this study we found that extracellular histones triggered platelet aggregation, leading to thrombotic occlusion of pulmonary capillaries in mice. These mice displayed signs of disseminated intravascular coagulation (DIC), including thrombocytopenia, prolonged prothrombin time, decreased fibrinogen, fibrin deposition in capillaries, and bleeding symptoms. Recombinant thrombomodulin, a newly approved drug for DIC in Japan, prevented histone-mediated platelet aggregation and protected mice against histone-induced fatal thromboembolism.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
総計	1,300,000	390,000	1,690,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：救急医学

キーワード：DAMPs, 血栓形成, 敗血症, DIC, ヒストン, トロンボモジュリン

1. 研究開始当初の背景

外傷などにより細胞が損傷を受けると、細胞内成分が細胞外に逸脱する。これらの細胞内成分 (Damage Associated Molecular Patterns: DAMPs) は生理活性を有し、炎症や組織修復を促すため、近年注目を集めている。一方、我々は DAMPs の代表的分子である High Mobility Group Box 1 (HMGB1) が Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) を促進すること、抗血栓性分子 トロンボモジュリン (TM) が HMGB1 の分解、不活化を促進することを報告してきた。これらの結果から導かれるコンセプトは、「DAMPs は侵襲局所においては生体防衛的役割を發揮するが、全身を循環すると全身性の凝固・炎症反応を惹起し、DIC/SIRS のメディエーターとして働く」ということである。近年、HMGB1 以外にも DAMPs が複数報告されるようになり、これまで HMGB1 にターゲットを絞って行ってきた研究を DAMPs 全般に拡張、生理的止血や病的血栓症の病態への DAMPs の関与を幅広く検討する必要があると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、これまでに DAMPs として報告されている分子が血栓形成に及ぼす影響を *in vitro* ならびに *in vivo* で検討し、DIC や血栓症における DAMPs の役割を明らかにするとともに、これらを分子標的とした新規 DIC 治療の可能性を探る。

3. 研究の方法

- (1) リアルタイム血栓モニタリングシステムを用いた DAMPs の血栓形成能のスクリーニング：血液凝固系と血

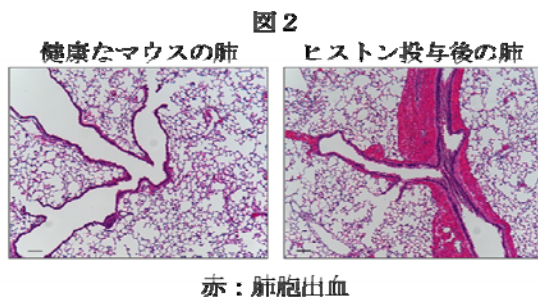
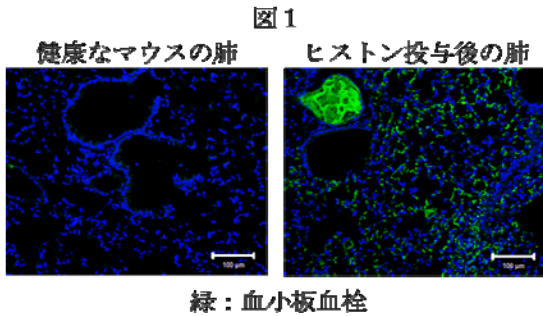
小板系の両者の影響を反映した血栓モニタリングシステムを用い、DAMPs の血栓形成能を *in vitro* でスクリーニングする。

- (2) 患者血中での DAMPs の動態の検討：①で同定された血栓形成能の強い DAMPs について、SIRS 患者や DIC 患者の血中での動態を調べる。
- (3) DAMPs が DIC の病態に及ぼす影響についての検討：①で同定された血栓形成能の強い DAMPs について、マウスに投与した際の病態を検討する。
- (4) DAMPs を標的とした治療戦略の検討：①②③で同定された DAMPs に対する中和抗体を、SIRS モデルマウスや DIC モデルマウスに投与した場合の治療効果を検討する。また、既存の薬剤（遺伝子組換え型トロンボモジュリン製剤など）による治療可能性についても併せて検討する。

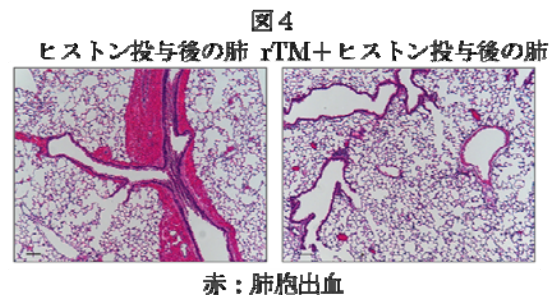
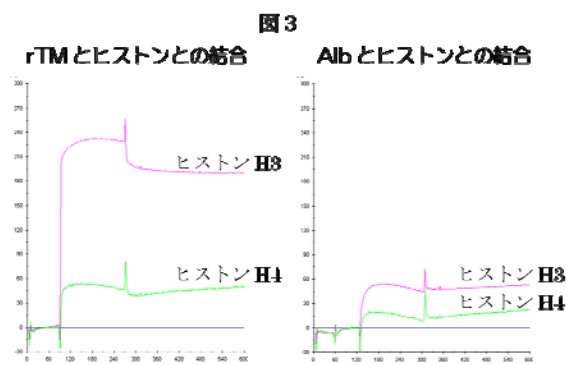
4. 研究成果

リアルタイム血栓モニタリングシステムを用い、DAMPs として報告されている分子の血栓形成能を横断的にスクリーニングした結果、核内タンパク質ヒストンが、血小板を活性化して血栓形成を促進し、流路を閉塞させることを見いだした。その一方で、ヒストンは凝固因子に対しては相反する作用を及ぼし、フィブリン形成を抑制し、強固な血栓形成を阻害する可能性が示唆された。血中のヒストン値が上昇すると、マウスにおいて、肺に

血栓が形成され、末梢血血小板数は減少し、凝固時間が延長し、出血傾向を示すようになり、播種性血管内凝固症候群 (disseminated intravascular coagulation: DIC) とよく似た病態を引き起こした (図 1, 2)。



さらには、近年、DIC 治療薬として認可されたリコンビナントトロンボモジュリン製剤 (rTM) はヒストンと結合し (図 3)、ヒストンによる DIC 様の病態を改善しうることを見いだした (図 4)。



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 4 件)

- (1) HMGB1 とトロンボモジュリン
Thrombosis Medicine 2 18-22 2012
伊藤隆史 査読なし
- (2) Thrombomodulin: protectorate
God of the vasculature in
thrombosis and inflammation
J Thromb Haemost. 2011;9 (Suppl 1):168-173.
Ito T, Maruyama I 査読有
- (3) 新規 DIC 治療薬トロンボモジュリン
製剤の作用機序
臨床血液 第 5 2 巻 6 号 356-360
2011
伊藤隆史・丸山征郎 査読有
- (4) DAMPs/PAMPs と血栓形成
Thrombosis Medicine 1 182-185
2011
伊藤隆史 査読なし

〔学会発表〕（計2件）

- (1) 第39回日本集中治療医学会学術集会（イブニングセミナー3 第2回HMGB1シンポジウム）平成24年2月28日 千葉市
DAMPsによる血栓形成とトロンボモジュリンによるその制御
伊藤隆史

- (2) American Heart Association Scientific Sessions 2011 (Cardiovascular Seminar CVS. 705)
2011年11月13日 米国オーランド
Recombinant thrombomodulin and HMGB1
Ito T., and Maruyama I

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤隆史 (ITO TAKASHI)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科システム血栓制御学（メディポリス連携医学）講座・特任講師
研究者番号：20381171

(2) 連携研究者

丸山征郎 (MARUYAMA IKURO)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科システム血栓制御学（メディポリス連携医学）講座・特任教授
研究者番号：20082282

川原幸一 (KAWAHARAA KO-ICHI)
大阪工業大学・工学部生命工学科
機能性食品研究室・特任教授
研究者番号：10381170

(3) 研究協力者

中原真由美 (NAKAHARAA MAYUMI)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科
救急・集中治療医学分野・医員

永里朋香 (NAGASATO TOMOKA)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科
システム血栓制御学（メディポリス連携医学）講座