

受賞対象論文

Gao S, Wake H, Gao Y, Wang D, Mori S, Liu K, Teshigawara K, Takahashi H, Nishibori M : Histidine-rich glycoprotein ameliorates endothelial barrier dysfunction through regulation of NF- κ B and MAPK signal pathway. *Br J Pharmacol* (2019) 176, 2808-2824.

ハイライト

- ・敗血症におけるヒスチジンリッチ糖タンパク質 (histidine-rich glycoprotein, HRG) の血管内皮バリア機能に対する保護作用及び作用機序の解明.
- ・HRG による血管内皮バリアへの保護作用は主に MAPK ファミリーのリン酸化と RhoA 活性化のシグナル伝達経路の調節に依存する.
- ・この研究は臨床における敗血症の HRG 補充療法に理論的根拠を提供し、さらに敗血症の病態生理学的機序を理解するために新しい観点を提供した.

高 尚 澤

Gao Shangze

清華大学 薬学研究科

School of Pharmaceutical Sciences, Tsinghua University



<プロフィール>

平成24年7月 天津中医薬大学薬学部臨床薬学専攻卒業
 平成24年9月 天津中医薬大学研究院薬理学専攻修士課程入学
 平成27年7月 天津中医薬大学研究院薬理学専攻修士課程卒業
 平成28年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程入学
 令和2年3月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程修了
 令和2年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 客員研究員
 令和2年7月 清華大学 博士研究員
 現在に至る

研究の背景と経緯

私は岡山大学大学院医歯薬学総合研究科薬理学の研究テーマに興味を持ち、2015年から留学生として薬理教室の西堀正洋教授のご指導の下に研究を始めました。敗血症は、感染症の増悪をきっかけとして生じる呼吸不全、ショック、播種性血管内凝固症 (DIC) など最終的に多臓器機能不全に至る重篤な病態である^{1,2)}。敗血症においては、血管内皮細胞のバリア機能不全と毛細血管の透過性亢進、ならびに血管破綻部位の凝固系因子の活性化は、多臓器機能不全の原因となる³⁾。敗血症は、直接の死因として長らく世界的に第一位ですが、この事実はあまり知られていない。現在、世界で年間2,000~3,000万人が新規に発症し、その数十パーセントが敗血症で亡くなっていると推定されている。日本でも年間37万人が発症している。このような状況を受け、「世界敗血症宣言」が出され、敗血症制圧に向けて世界的キャンペーンが展開されている。このキャンペーンの中では、早期の診断と治療開始の重要性が強

調されているが、敗血症に特異的な治療法はないのが現状である。特に、敗血症病態では、血管内皮細胞に無秩序な活性化が起こると考えられているが、その機序の詳細はよくわかっておらず、それを改善する治療法もない。我々の研究グループは、マウスの敗血症モデルにおいて、血漿糖タンパク質 HRG のレベルが急激に低下することを発見した。精製したヒトの血漿 HRG を敗血症マウスに補充投与すると、敗血症マウスの生存率を高めることができた⁴⁻⁶⁾。本研究は敗血症における HRG の血管内皮バリア機能に対する保護作用及び作用機序の解明を目的とした。

研究成果の内容

敗血症の病態では、過剰な血管内皮細胞の活性化があると考えられている。しかし、生体内での血管内皮細胞の恒常性維持のメカニズムはよくわかっていない。本研究では、試験管内の血管内皮細胞培養実験系で、血管内皮細胞の活性化状態を再現し、HRG の効果

を解析した。

1. 血管のバリア機能における HRG の作用

血管のバリア機能は、内皮細胞の収縮力と細胞間の接着力、細胞と基質の接着力のバランスによって維持される。我々は EA.hy 926 血管内皮細胞を用いて、LPS 及び TNF- α 刺激後、血管内皮細胞間の接着分子である VE-cadherin と細胞接着と遺伝子転写の調節に関与する β -catenin を免疫染色した。2 時間、低濃度 LPS (10 ng/ml) の刺激でストレス線維の形成が見られた。12 時間、高濃度 (100 ng/ml) LPS あるいは TNF- α の刺激で著明な細胞形態の変化が観察された (図 1 A)。HRG を刺激物質添加の前に培地に加えておくと、このような内皮細胞の形態変化は抑制された。HRG は LPS/TNF- α により誘導される VE-cadherin, β -catenin, 接着斑キナーゼ FAK の分解を抑制することで、血管内皮細胞バリアの完全性を維持することが示された。ウェスタンブロッティングの結果により、HRG の血管内皮バリアへの保護作用は主に代謝、増殖、分裂、運動、アポトーシスなど細胞のさまざまな機能に関与する MAPK ファミリーのリン酸化及び細胞骨格の制御に関わる RhoA 活性化のシグナル伝達経路の調節に依存することを明らかにした。

2. 炎症性サイトカインにおける HRG の作用

敗血症の病態が進行すると、IL-1 α , IL-8, TNF- α

などの炎症性サイトカインが放出され、高サイトカイン血症の状態となり、血管内皮細胞に異常な活性化が起こり、微小血管機能障害を引き起こす。したがって、炎症性サイトカインの産生、特に血管内皮細胞の異常な活性化を制御することは、敗血症の予防と治療における新しいアプローチと考えられる。エンドトキシン血症の動物モデルを用いて、肺、肝、腎における毛細血管透過性の亢進を観察すると、この亢進状態が血漿タンパク HRG の補充投与によって、抑制されることが分かった。培養内皮細胞の HRG 前処理は、LPS 及び TNF- α 刺激で誘導した内皮細胞からの炎症性サイトカインの放出を強く抑制した。

LPS/TNF- α という炎症因子の刺激によって血管内皮細胞の骨格タンパク質 F-actin の形成と収縮が惹起され、細胞接着タンパク質 VE-cadherin の分解が加わり細胞の基板付着力を低下させ、血管内皮細胞のバリアを破断する。この一連の変化は HRG の添加によって、抑制されることが証明できた (図 1 B)。

研究成果の意義と今後の展望

本研究では、複雑な敗血症病態のカスケード的進行において血管内皮細胞が果たす無秩序な活性化の機序に新しい理解をもたらし、それを回復させる可能性の

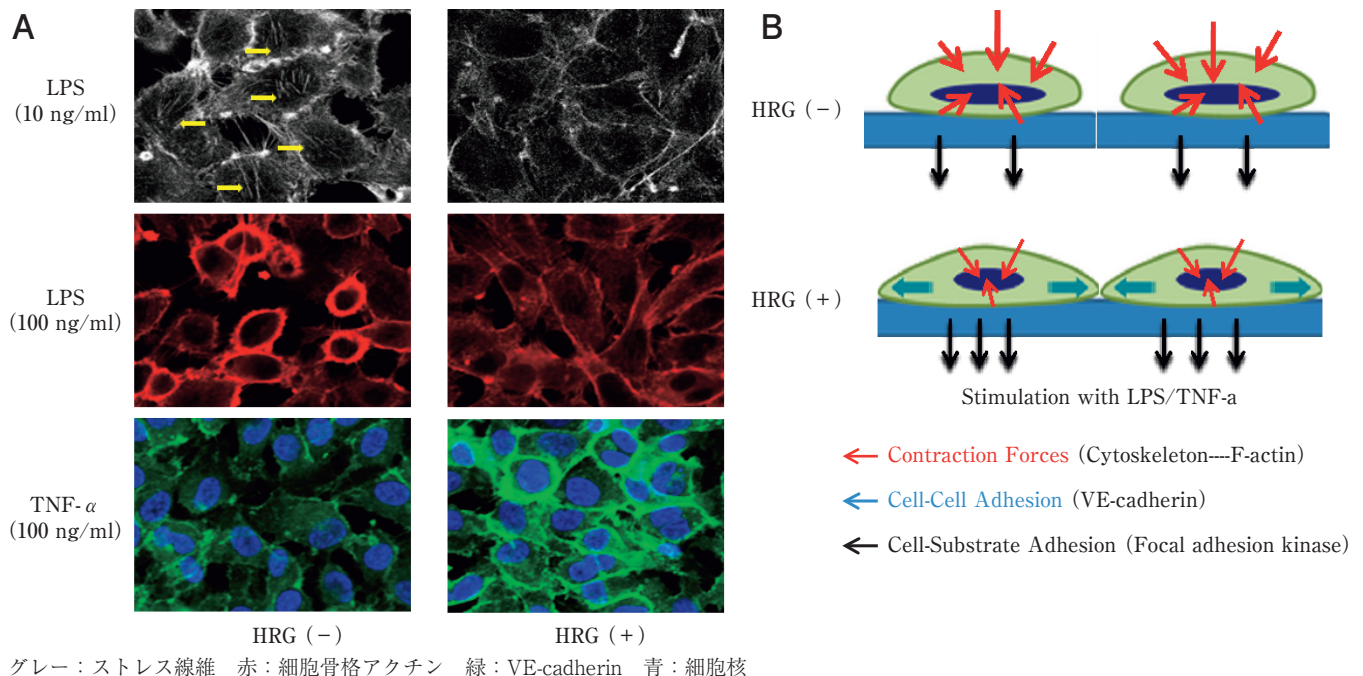


図 1 血管内皮細胞の蛍光染色 (A) (受賞論文より改変して引用) と HRG 作用機序の概念図 (B)

ある HRG の作用を明らかにした。世界的に抗生物質以外の治療薬が存在しない現状から、今後の成果がさらに期待される。敗血症の制圧は、現在世界的キャンペーンが継続され、WHO からその重要性に関する声明が出されている。そのような現状にあって本研究は、HRG の補充療法が血管内皮細胞の重要な機能を回復させることを実験的に証明した研究であり⁷⁾、治療法に対し理論的根拠を与えるものとなった。最近の臨床研究では、敗血症患者の予後を予測する新たなマーカーとして HRG がさらに提案されている。したがって、患者血漿 HRG レベルをマーカーとして検出し(コンパニオン診断)、治療薬としてのヒト血漿 HRG 精製を一方で開発するという大きなプロジェクトに推進力を本研究は与える。現在、世界的な大流行となっている新型コロナウイルス感染による敗血症や ARDS の場合には、急速な病態の悪化が問題になっている。病状の急変の可能性を予め知るために、血漿 HRG 測定が役立つかどうか、今後慎重に検討する必要があると考えられる。今後も、感染症にまつわる諸問題の解決に向けて研究を続けたいと思っている。

文 献

1) Riedemann NC, Guo RF, Ward PA : Novel strategies for

the treatment of sepsis. *Nat Med* (2003) 9, 517-524.

- 2) Vincent JL, Opal SM, Marshall JC, Tracey KJ : Sepsis definitions : Time for change. *Lancet* (2013) 381, 774-775.
- 3) De Backer D, Creteur J, Preiser JC, Dubois MJ, Vincent JL : Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* (2002) 166, 98-104.
- 4) Wake H, Mori S, Liu K, Morioka Y, Teshigawara K, et al. : Histidine-rich glycoprotein prevents septic lethality through regulation of immunothrombosis and inflammation. *EBioMedicine* (2016) 9, 180-194.
- 5) Kuroda K, Wake H, Mori S, Hinotsu S, Nishibori M, et al. : Decrease in histidine-rich glycoprotein as a novel biomarker to predict sepsis among systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med* (2018) 46, 570-576.
- 6) Nishibori M, Wake H, Morimatsu H : Histidine-rich glycoprotein as an excellent biomarker for sepsis and beyond. *Crit Care* (2018) 22, 209.
- 7) Gao S, Wake H, Sakaguchi M, Wang D, Takahashi Y, et al. : Histidine-Rich Glycoprotein Inhibits High-Mobility Group Box-1-Mediated Pathways in Vascular Endothelial Cells through CLEC-1A. *iScience* (2020) 23, 101180.

令和3年1月4日受稿

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 薬理学

電話 : 086-235-7138 FAX : 086-235-7138

E-mail : yakuri@md.okayama-u.ac.jp