

Title	IL-1受容体antagonist遺伝子導入による劇症肝不全治療法の開発
Sub Title	Establishment of an effective therapy for fulminant hepatic failure using IL-1 receptor antagonist
Author	高野, 公德(TAKANO, KIMINORI)
Publisher	
Publication year	2009
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2008. )
Abstract	IL-1制御が劇症肝不全治療に有用であるか否か検証するためにD-ガラクトサミン誘導性劇症肝不全ラットの肝臓にヒトIL-1受容体拮抗物質（以下IL-1Ra）遺伝子をadenovirus vectorを用いて導入し、肝障害の抑制効果を見た。また、同病態における核内タンパクHigh mobility group box-1（以下HMGB-1）の役割に注目、同様のブタ劇症肝不全モデルにおける血清中HMGB-1動態について検討し、劇症肝不全におけるHMGB-1の上昇を確認した。
Notes	研究種目：若手研究(B) 研究期間：2007～2008 課題番号：19790957 研究分野：医歯薬学 科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学
Genre	Research Paper
URL	<a href="http://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_19790957seika">http://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_19790957seika</a>

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19790957  
 研究課題名（和文） IL-1 受容体 antagonist 遺伝子導入による劇症肝不全治療法の開発  
 研究課題名（英文） Establishment of an effective therapy for fulminant hepatic failure using IL-1 receptor antagonist

研究代表者  
 高野 公德 (TAKANO KIMINORI)  
 慶應義塾大学・医学部・助教  
 研究者番号：90445213

研究成果の概要：IL-1制御が劇症肝不全治療に有用であるか否か検証するためにD-ガラクトサミン誘導性劇症肝不全ラットの肝臓にヒトIL-1受容体拮抗物質（以下IL-1Ra）遺伝子をadenovirus vectorを用いて導入し、肝障害の抑制効果を見た。また、同病態における核内タンパクHigh mobility group box -1（以下HMGB -1）の役割に注目、同様のブタ劇症肝不全モデルにおける血清中HMGB -1動態について検討し、劇症肝不全におけるHMGB -1の上昇を確認した。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	0	1,600,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	480,000	3,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：肝臓外科学

## 1. 研究開始当初の背景

実験経過の中で当初の計画から治療方法に若干の変更を生じることとなった。すなわち、IL-1 制御が劇症肝不全治療に有用であることが確認されたが、核内タンパク High mobility group box -1 (HMGB -1) の役割が重要であることが明らかとなってきたため、実験を追加した。近年、敗血症、ショック、全身性炎症反応症候群などの病態で血清中 HMGB -1 が上昇することが報告され、新たな炎症性メディエーターとして注目されている。一方、劇症肝不全は広範な肝細胞壊死を伴う病態であり、肝移植が有効な治療法であるが、

本邦の深刻な臓器不足を考えれば、新たな治療法の開発が重要な課題とされる。これまでに劇症肝不全と HMGB -1 について検討された研究の報告はない。

## 2. 研究の目的

今回われわれは、IL-1 制御が劇症肝不全治療に有用であることを検証し、さらに劇症肝不全における血清中の HMGB -1 動態を検討し、劇症肝不全の病態生理の解明及び新治療法の開発を目指し本研究に取り組んだ。

## 3. 研究の方法

< IL-1制御による劇症肝不全の病態改善効果の検討 >

D-ガラクトサミン誘導性劇症肝不全ラットの肝臓にヒトIL-1Ra遺伝子をadenovirus vectorを用いて導入し、肝障害の抑制効果を見た。

< 劇症肝不全におけるHMGB-1動態の検討 >

雄性ブタ(体重20kg前後、埼玉動物実験)を使用。ミダゾラム+ドミトール筋注によって鎮静をかける。薬剤投与及び採血用として、頸静脈にカテーテルを留置、3日間安静を計った後D-ガラクトサミン(0, 0.2, 0.6, 1.0 g/Kg)を静脈内投与して劇症肝不全を誘発し、経時的に、下記の各種パラメータを測定・評価する。

- a) 生存率
- b) 血清中AST, ALT, LDH, ALP, TB, NH3
- c) 血清中 IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  (ELISA)
- d) 肝組織HE染色

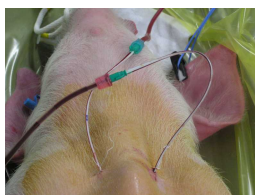
肝組織は0.0、0.6 g/kg投与群においては168時間後のsacrifice、0.6、1.0 g/kg投与群においては死亡時のautopsyで採取した。

また、現在進行中ではあるが同ブタ劇症肝不全モデルに対し、体外循環にHMGB-1吸着カラムを組み合わせたHMGB-1吸着療法の病態改善効果を検討している。

0.6g/kgのD-ガラクトサミンを加え、両側の頸静脈にカテーテルを挿入し1本は脱血用、1本は返血用とし、透析ポンプを用いて体外循環を行いHMGB-1吸着療法の実験を行い、同様のパラメータを評価する。これまでにコントロールカラムを用いたコントロール群のデータを得ている(図1)。



図1  
ブタ劇症肝不全モデルに対する体外循環を組み合わせたHMGB-1吸着療法:2本のカテーテルを頸静脈に挿入し体外循環を行う。



#### 4. 研究成果

劇症肝への遺伝子導入実験において、IL-1Ra遺伝子導入群では、コントロール遺伝子導入群に比べ血中肝逸脱酵素やIL-6の上昇が抑制されていた(図2)。

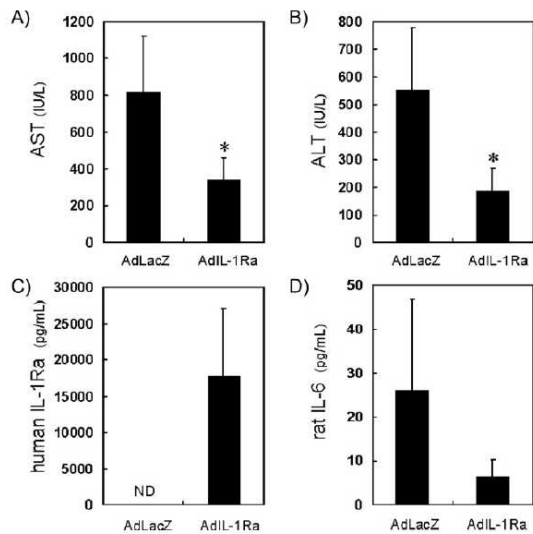


図2: IL-1Ra遺伝子導入による効果

a) D-ガラクトサミン0.0、0.2 g/Kg投与群の生存率は薬剤投与後168時間(7日目)でも100%だった。0.6 g/kg投与群では同72時間で67%、同96時間で0%だった。1.0 g/kg投与群では同24時間で0%だった(図3)。

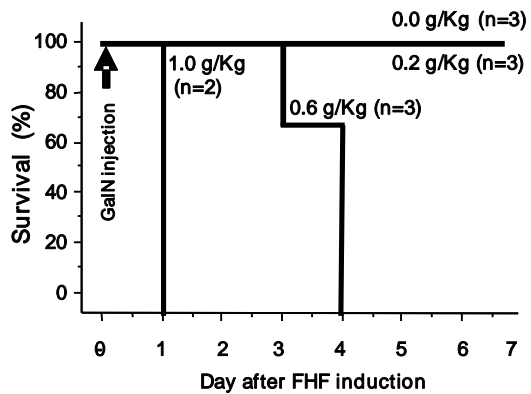


図3: ブタ劇症肝不全モデルにおける生存曲線

b) 0.6、1.0 g/kg投与群では血清中TB、AST、ALT、LDH、ALP、NH3は薬剤投与後いずれも著明に上昇した(図4)。

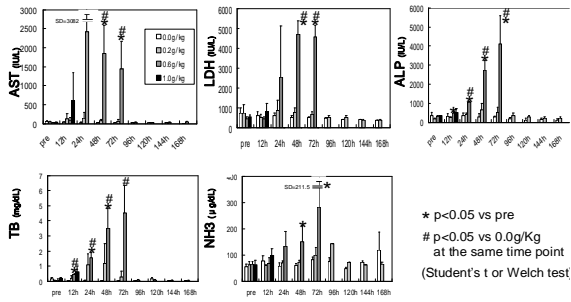


図 4 : プタ劇症肝不全モデルにおける肝機能生化学検査

c) 0.6、 1.0 g/kg 投与群では血清中 HMGB-1 は薬剤投与後いずれも著明に上昇した(図 5)。

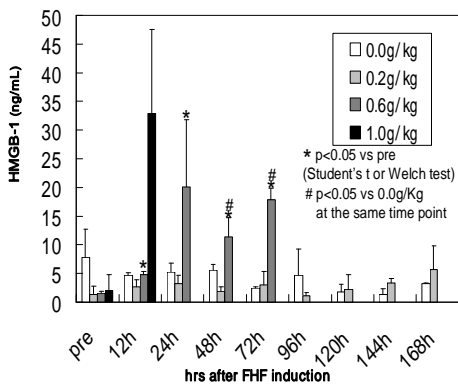


図 5 : プタ劇症肝不全モデルにおける血清 HMGB-1 動態

d) 肝組織 HE 所見は、0.0 g/kg 投与群の検体ではほぼ正常であったが、0.2 g/kg 投与群の検体では軽度の脂肪変性及び線維化を認め軽度の肝障害を認めた。また 0.6 g/kg 投与群では著明な出血、壊死、脂肪変成を認め、高度な肝障害、劇症肝不全の所見として矛盾しなかった。1.0 g/kg 投与群ではわずかな出血を認めるのみで大きな変化を認めなかった(図 6)。

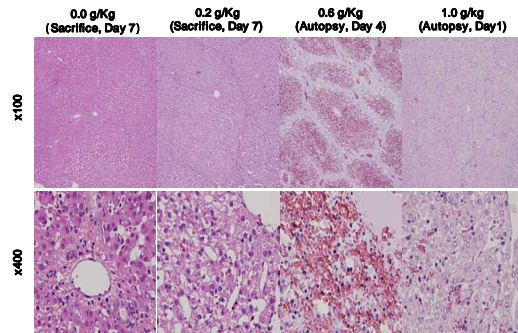


図 6 : プタ劇症肝不全モデルにおける肝組織 H.E.染色

これまでの研究で当劇症肝不全モデルにおいて、血清 HMGB-1 濃度の上昇が確認された。

また、小動物モデルに対する抗 HMGB-1 抗体投与による HMGB-1 制御により肝障害と予後に改善効果を認めたため、大動物モデルに対する HMGB-1 吸着カラムを用いた体外循環療法による HMGB-1 制御が劇症肝不全の病態を改善するかどうか検討中である。実際の臨床現場においては劇症肝不全の治療は血漿交換と持続的血液濾過透析療法が標準化されており、既存のこの治療法に HMGB-1 吸着カラムを組み合わせるだけで、実際の臨床に応用が可能であると考えている。現在、コントロール群の実験はほぼ終了しており、今後実際の HMGB-1 吸着カラムを用いた体外循環療法を行う予定である。

## 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 0 件 )

[ 学会発表 ] ( 計 6 件 )

高野公德、篠田昌宏、田辺稔、北川雄光ら . ラット劇症肝不全モデルに対する抗 HMGB-1 抗体投与の予後改善効果 . 第 15 回外科侵襲とサイトカイン研究会 岩手 , 2008.12.13

高野公德、篠田昌宏、田辺稔、北川雄光ら . プタ劇症肝不全モデルにおける血清中 HMGB-1 動態の検討 . 第 63 回日本消化器外科学会総会 北海道 , 2008.07.17

Takano K、Shinoda M、Tanabe M、Kitagawa Y、et al. Increased serum level of high mobility group box-1 in the pig fulminant hepatic failure model. 2008 Digestive Disease Week (AASLD) San Diego, 2008.05.20

高野公德, 篠田昌宏, 田辺稔, 北川雄光  
ら. プタ劇症肝不全モデルにおける血清中  
HMGB-1動態の検討. 第108回日本外科学会定  
期学術集会 長崎, 2008.05.17

高野公德, 篠田昌宏, 田辺稔, 北川雄光  
ら. プタ劇症肝不全モデルにおける血清中  
HMGB-1動態の検討. 第94回日本消化器病学  
会, 福岡, 日本, 2008年5月8日

Takano K, Shinoda M, Tanabe M, Kitagawa  
Y, et al. Increased serum level of high  
mobility group box-1 in the pig fulminant  
hepatic failure model. 2008 American  
Society of Transplantation 12th Winter  
Symposium Palm Springs, 2008.03.14

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高野 公德 (TAKANO KIMINORI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号: 90445213

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者