

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：17701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25670763

研究課題名(和文) 心筋傷害分子としての細胞外ヒストンの基礎研究と臨床展開

研究課題名(英文) Extracellular histones as a myocardial depressant factor

研究代表者

伊藤 隆史 (Ito, Takashi)

鹿児島大学・医歯(薬)学総合研究科・特任講師

研究者番号：20381171

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：敗血症患者の血中ヒストン濃度を測定したところ、健常人と比べて有意に高かった。マウスの血中にヒストンを投与して、重症敗血症患者と同程度まで血中ヒストン濃度を上昇させると、心電図検査、心エコー検査、血液検査にて、心筋傷害の所見を認めた。敗血症に伴う血液凝固異常の治療薬として臨床応用されている遺伝子組換え型トロンボモジュリン製剤をマウスに投与すると、ヒストンによる心筋傷害を軽減し、生存率を改善することができた。以上のことから、敗血症の際に血中濃度が上昇するヒストンは、心筋傷害因子として作用する可能性が示唆され、遺伝子組換え型トロンボモジュリン製剤によってそれを軽減しうる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Extracellular histone H3 was not detectable in plasma of healthy volunteers, but significant levels were observed in patients with sepsis and DIC. Histone injection caused cardiac damage in mice as evidenced by ST-segment depression in electrocardiogram, CK elevation in blood exam, and contractile dysfunction in echocardiogram. Recombinant thrombomodulin bound to extracellular histones, reduced histone-induced cardiac damage, and rescued mice from histone-induced death. These results suggest that extracellular histones might be a myocardial depressant factor in sepsis, and that recombinant thrombomodulin might be effective in neutralizing histone's toxicity.

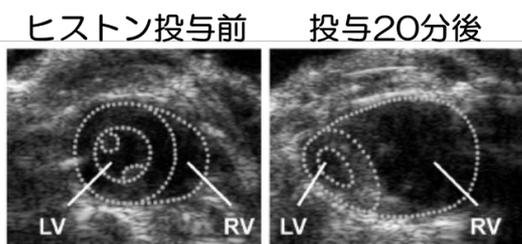
研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

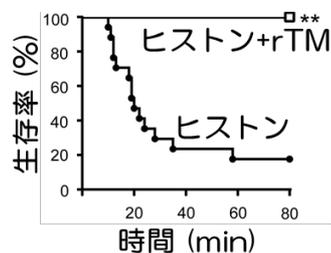
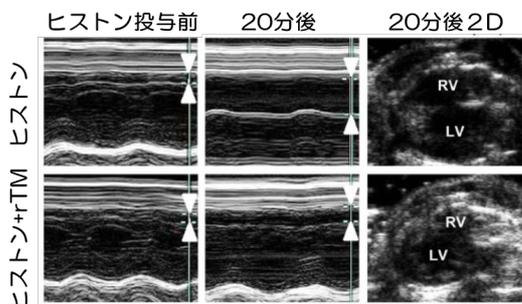
キーワード：敗血症 免疫学 病理学 ヒストン



上記検討において、敗血症の病態では、約 1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  くらいまで血漿ヒストン H3 濃度が上昇していることが明らかになったため、次にマウスの尾静脈からヒストンを投与し、10 分後の血清ヒストン濃度を測定したところ、20  $\mu\text{g}/\text{g}$  (BW) のヒストンを投与すると、血漿ヒストン H3 濃度がおよそ 1-2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  になることが判明した。20  $\mu\text{g}/\text{g}$  (BW) のヒストンを投与した場合、循環血小板数の有意な減少を認めしたが、死亡には至らなかった。一方、この 4 倍量である 80  $\mu\text{g}/\text{g}$  (BW) のヒストンを投与すると、血漿ヒストン濃度はおよそ 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  に達し、全例が死亡した。この過程においては、心電図では ST 低下、ショートランなどが出現し、最終的には心停止に至った。心エコー検査では、右室の拡張と左室の収縮不全の所見を認めた(下図)。血液生化学検査では CK の上昇を認めた。



昨年度までの研究成果で、我々は遺伝子組換え型トロンボモジュリン製剤 (rTM) がヒストンと結合することを確認していたが、今回我々は、rTM が *in vivo* においてもヒストンの毒性を中和できるかどうか検討した。下図に示すように、rTM はヒストンによる右室の拡張を有意に抑制し、ヒストンによる個体死も有意に抑制した。



また、培養細胞 ARPE19 に対するヒストンの細胞毒性を、抗ヒストン H3 抗体ならびに抗ヒストン H4 抗体で中和できるかどうかを検討したところ、ヒストンによる細胞死を抗体の濃度依存性に抑制することができ、ヒストンを分子標的とした治療法の開発につながる可能性が示唆された。

## 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)

Kawano H, Ito T, Yamada S, Hashiguchi T, Maruyama J, Hisatomi T, Nakamura M, Sakamoto T. Toxic effects of extracellular histones and their neutralization by vitreous in retinal detachment. **Lab Invest.** 94(5) 569-85 (2014) 査読あり

伊藤隆史 トロンボモジュリンの基礎 **日本血栓止血学会誌** 25(1) 55-60 (2014) 査読無

Nakahara M, Ito T, Kawahara K, Yamamoto M, Nagasato T, Shrestha B, Yamada S, Miyauchi T, Higuchi K, Takenaka T, Yasuda T, Matsunaga A, Kakihana Y, Hashiguchi T, Kanmura Y, Maruyama J. Recombinant Thrombomodulin Protects Mice against Histone-Induced Lethal Thromboembolism. **PLoS One.** 8(9) e75961 (2013) 査読あり

[学会発表](計3件)

伊藤隆史, 血栓と免疫、そして、その制御, 第 41 回日本集中治療医学会学術集会, 2014 年

2月(京都)

Takashi Ito, Mayumi Nakahara, and Ikuro Maruyama, Massive thrombosis evoked by extracellular histones: Is it DIC?, 59th Scientific and Standardization Committee Meeting of the ISTH 2013, 2013年6月(オランダ).

伊藤隆史, 炎症に起因する血栓症の病態解明 ~ 新規メディエーターとしての PAMPs・DAMPs ~, 第35回日本血栓止血学会学術集会, 2013年5月(山形).

[図書](計0件)

[産業財産権](計0件)

## 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  
特任講師  
研究者番号: 20381171

### (2) 研究分担者

丸山 征郎 (MARUYAMA IKURO)  
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科  
特任教授  
研究者番号: 20082282

### (3) 連携研究者

中原 真由美 (NAKAHARA MAYUMI)  
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科  
特任助教  
研究者番号: 90707514

川原 幸一 (KAWAHARA KO-ICHI)  
大阪工業大学工学部生命工学科  
特任教授  
研究者番号: 10381170

### (4) 研究協力者

永里 朋香 (NAGASATO TOMOKA)  
藤森工業株式会社

山田 晋吾 (YAMADA SHINGO)  
株式会社シノテスト