The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	High-mobility group box-1 peptide ameliorates bronchopulmonary dysplasia by suppressing inflammation and fibrosis in a mouse model
Author(s)	原, 武也
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/95972
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	原　武也
論文題名 Title	High-mobility group box-1 peptide ameliorates bronchopulmonary dysplasia by suppressing inflammation and fibrosis in a mouse model（HMGB1ペプチドはマウスモデルにおいて、炎症と線維化を抑制することで気管支肺異形成症を改善する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

気管支肺異形成症（BPD: bronchopulmonary dysplasia）は早産児の重大な合併症の一つであり、炎症や酸素毒性により肺胞の拡大、間質部の線維化、肺動脈の肥厚などを引き起こす。現在様々な治療が行われているが、根治療法はない。近年、BPDに対しての間葉系幹細胞（MSC：mesenchymal stem cell）を用いた細胞治療が注目されており、その有効性が示されているが、安定した品質で多数のMSCを調整することが困難であることなど、課題も多い。

我々はHMGB1蛋白の炎症を誘導するB boxを除き、骨髄由来のMSCを誘導するA boxのみのHMGB1ペプチドを作成した。本研究では、BPDモデルマウスに対してHMGB1ペプチド骨髄由来のMSCを障害肺に誘導し、組織修復に寄与するという仮説をたて、検証した。

〔方法(Methods)〕

BPDモデルマウスは出生後12時間以内に90%酸素環境下に移動し、14日間飼育することで作製した。まずC57BL/6の新生児マウスを生後12時間以内に、高濃度酸素飼育+HMGB1ペプチド投与群（O2+HMGB1群）、高濃度酸素飼育+生理食塩水投与群（O2+NS群）、室内気飼育+生理食塩水投与群（RA+NS群）の3群に割り付けた（n=14/群）。出生後、4、8、12日目にHMGB1ペプチド（5mg/kg/day）もしくは同量の生理食塩水を静脈投与した。出生後14日目にsacrificeを行い、生存率、体重増加率、肺胞形態評価のために平均肺胞径（MLI：mean linear intercept）・肺胞分岐数（RAC:radial alveolar count）肺組織の炎症および線維化をELISA（IL-1β、IL-6、soluble collagen）で評価を行った。さらにsingle cell RNA sequencingを行い、HMGB1ペプチドの作用機序の探索を実施した。

〔成績(Results)〕

生存率はO2+NS群はRA+NS群と比較して有意に低下した（75% vs 100%, p=0.015）。O2+HMGB1群は生存率を改善したが、O2+NS群との間で統計学的有意差は認めなかった（89% vs 75%, p=0.438）。体重はO2+NS群はRA+NS群と比較して、有意に低下した（4.71±0.20 vs 6.71±0.07g, p<0.01）が、O2+HMGB1群はO2+NS群と比較して有意に増加した（5.47±0.13 vs 4.71±0.20g, p=0.011）。肺胞形態は、O2+NS群はRA+NS群と比較して、MLIを有意に増加し（64.82±1.39 vs 25.79±0.32 μm, p<0.01）、RACを有意に低下した（3.28±0.10 vs 9.59±0.25, p<0.01）が、O2+HMGB1群はO2+NS群と比較してMLIを有意に低下し（44.34±1.29 vs 64.82±1.39μm, p<0.01）、RACを有意に増加した（5.57±0.09 vs 3.28±0.01, p<0.01）。肺組織の炎症をELISA（IL-1β, IL-6）で評価すると、O2+NS群はRA+NS群と比較して有意に増加した（IL-1β；26.53±4.96 vs 11.65±0.61pg/mg protein, p<0.01, IL-6; 25.30±4.81 vs 13.21±0.46pg/mg protein, p=0.016）が、O2+HMGB1群はO2+NS群と比較して有意に低下した（IL-1β；13.83±1.46 vs 26.53±4.96 pg/mg protein, p=0.032, IL-6; 12.14±0.74 vs 25.30±4.81 pg/mg protein, p<0.01）。肺組織の線維化をELISA（soluble collagen）で評価すると、O2+NS群はRA+NS群と比較して有意に増加した（12.54±0.67 vs 6.60±0.41 μg collagen/mg protein, p<0.01）が、O2+HMGB1群はO2+NS群と比較して有意に低下した（9.14±0.68 vs 12.54±0.67 μg collagen/mg protein, p<0.01）。single cell RNA sequencingでは、O2+NS群で好中球・単球・マクロファージの細胞割合が増加し、O2+HMGB1群でその細胞割合は低下した。また、マクロファージクラスターにおいて、IL-1β・IL-6の遺伝子発現はO2+NS群で増加、O2+HMGB1群で低下した。さらに、筋線維芽細胞のクラスターにおけるGene Ontolgy解析では、発現変動遺伝子が 肺線維化に関連する遺伝子パターンにenrichし、肺線維症との関連が指摘されているSox9の遺伝子発現がO2+HMGB1群で低下した。

〔総　括(Conclusion)〕

HMGB1 ペプチドの全身投与は、BPDモデルマウスにおいて、抗炎症作用と抗線維化作用を示し、BPDを改善した。今後HMGB1ペプチドが臨床応用されることが期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　原　武也

		（職）	氏　　名	
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	木村　正	署名
	副　査	大阪大学教授	奥山宏臣	署名
	副　査	大阪大学准教授	奥野龍禎	署名

論文審査の結果の要旨

肺胞形成不全と間質部の線維化が主病態である気管支肺異形成症は早産児の重大な合併症の1つであり、根治療法がない。本研究では、気管支肺異形成症モデルマウスに対して、骨髄由来の間葉系幹細胞を障害組織へ誘導するHMGB1ペプチドを静脈投与し、有効性を評価した論文である。モデルマウスと比較して治療群では、体重が有意に増加し、HE染色により有意に肺胞形態の改善を示した。また、肺組織のELISAでは抗炎症効果（IL-1β、IL-6の低下）、抗線維化効果（可溶性コラーゲンの低下）を認めた。Single cell RNA sequencingでは、HMGB1ペプチドの投与により炎症細胞の障害肺への誘導を抑制し、筋線維芽細胞のSox9の遺伝子発現の抑制を示した。気管支肺異形成症において、現在の治療に加えて再生誘導医薬であるHMGB1ペプチドという新規の治療戦略が提示されており、学位の授与に値すると考えられる。