

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

ヒト敗血症患者の血漿 HRG 動態に関する研究

研究分担者 森 松 博 史 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・教授
平 田 泰 三 岡山大学病院新医療研究開発センター・准教授
橋 本 和 彦 岡山大学知的財産本部・知的財産マネージャー
桐 田 泰 三 岡山大学新医療創造支援本部
・産学官連携コーディネーター

研究要旨

血漿 HRG 測定のための ELISA 法を確立した。抗 HRG ウサギポリクローナル抗体をマイクロタイタープレートに固相化し検体中 HRG を結合した後、HRP 標識した抗 HRG ラット単クローン抗体で検出した。ELISA 法での測定はウェスタンブロット法での測定結果とよく相関した。ICU 内の敗血症患者の血漿 HRG 測定を実施し、敗血症患者では健常人対照の約 25%に低下していることを明らかにした。

A. 研究目的

動物実験で証明された HRG 補充療法の有効性に関する理論的根拠をヒト敗血症でも得ることが重要である。この目的のために、ヒト敗血症患者の血漿 HRG を測定し、敗血症マーカーならびに重篤度・予後判定マーカーとしての意義を検証する必要がある。本研究では、臨床研究についての倫理審査で承認を得た後、上記の測定を実施する。同時に、血漿 HRG を簡便に測定するための ELISA を開発、確立する。

B. 研究方法

1. ウェスタンブロットによる血漿 HRG の測定

ヒト血漿を 100~500 倍希釈し、その適当量を SDS-PAGE 電気泳動と NC 膜に転写後、特異的抗 HRG 抗体を用いて検出し

た。定量の比較対照としてヒト血漿から精製した HRG 標品を用いた。

2. 血漿 HRG 測定のための ELISA の開発

抗 HRG ポリクローナル抗体、単クローン抗体、HRG 親和性の高い Ni-NTA を組み合わせることで、マイクロタイタープレートでの HRG 測定系を確立するための条件検討を実施した。

3. 敗血症患者血漿 HRG の測定

岡山大学病院の ICU に入院する敗血症患者の血漿 HRG を、臨床研究の倫理審査委員会で承認された文書による同意を得た後、ウェスタンブロットあるいは独自に開発した ELISA で測定した。健常人対照ならびに外科手術後の患者についても、同様の手続きを経た後血漿 HRG を測定した。

C. 研究結果

臨床研究倫理審査委員会で承認を得た後、ICU 内の敗血症患者と外科術後患者の血漿 HRG レベルを測定した。現時点での測定患者数は、10 人と 10 人である。

健常人のレベルと比較し、敗血症では約 25%、外科術後では約 40% の値を示し、いずれも有意な低下であった。また敗血症患者と外科術後の患者についても有意差があった。

D. 考察

ICU 内の敗血症患者の血漿 HRG は、健常人のレベルと比較すると約 25%にまで低下していることがわかった。外科術後 1 日目の患者血漿では約 40% であった。現時点では測定患者数が限られているので断定的に結論はできないが、ヒト敗血症患者においても本研究で用いたマウス敗血症モデルと同程度の血漿 HRG 低下が生じている可能性がある。このような敗血症患者の血漿 HRG レベルの報告は世界的に初めてのデータである。ヒト敗血症治療薬として HRG の補充療法を考える上で重要な根拠となるデータである。

E. 結論

ヒト敗血症患者の血漿 HRG 測定で、マウスで観察された血漿 HRG 低下がヒトでも生じることを確認した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Wake H, Mori S, Liu K, Teshigawara K, Sakaguchi M, Takahashi H, Ohtsuka A, Yoshino T, Nishibori M.

Histidine-rich glycoprotein prevents septic lethality through neutrophil regulation.

(submitted)

2. 学会発表

1) 国際学会

該当なし

2) 国内学会

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

好中球活性化に起因する疾患の治療薬、治療方法及び検査方法

特願 2012-129232 (2012.6.6 出願)

PCT/JP2013/64779 (2013.5.28 出願)

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし