

Title	フェントン反応による好中球細胞外捕捉現象制御機構の解明と難治性血管炎治療への応用
Sub Title	Regulation of neutrophil extracellular traps via fenton reaction and its application to the treatment of refractory autoimmune vasculitis
Author	平橋, 淳一(Hirahashi, Junichi) 浦野, 泰照(Urano, Yasuteru) 大久保, 光修(Okubo, Koshu) 神谷, 真子(Kamiya, Mako) 川上, 浩(Kawakami, Hiroshi)
Publisher	
Publication year	2015
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2014.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>好中球細胞外トラップ(NETs)は外来微生物を捕捉して生体を防御する一方, 自己免疫性疾患や炎症性疾患に深く関与する。我々はNETs構成成分である生体内蛋白ラクトフェリンが自らの陽性荷電により陰性荷電を有するNETsを凝集させてその放出を抑制することを見出した。また, ラクトフェリンが自己免疫性血管炎におけるNETs形成を抑制し病態を改善させることからNETs関連疾患を制御する新たな治療法の候補となるものである。</p> <p>Neutrophil extracellular traps (NETs) are associated with the development of autoimmune and/or inflammatory diseases. We found that lactoferrin translocates from the cytoplasm to the plasma membrane of neutrophils upon stimulation and strongly suppresses NETs without effects on oxygen radicals generation. Exogenous lactoferrin significantly shrunk the chromatin fibers in the released NETs. The results that lactoferrin removed positive charge failed to inhibit NET formation suggested that charge-charge interaction between lactoferrin and NETs are required in the function. Lactoferrin suppressed development of autoimmune small-vessel vasculitis and NETs release into the circulation. These observations suggest that lactoferrin serves as an intrinsic inhibitor of NETs and subsequent DNA release into the circulation. Taken together, our data indicate that lactoferrin may represent a therapeutic lead for controlling NET release in autoimmune and/or inflammatory diseases.</p>
Notes	<p>研究種目 : 基盤研究(C)</p> <p>研究期間 : 2012 ~ 2014</p> <p>課題番号 : 24591461</p> <p>研究分野 : inflammation</p>
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_24591461seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591461

研究課題名(和文) フェントン反応による好中球細胞外捕捉現象制御機構の解明と難治性血管炎治療への応用

研究課題名(英文) Regulation of neutrophil extracellular traps via fenton reaction and its application to the treatment of refractory autoimmune vasculitis

研究代表者

平橋 淳一 (Hirahashi, Junichi)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：70296573

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000 円

研究成果の概要(和文)：好中球細胞外トラップ(NETs)は外来微生物を捕捉して生体を防御する一方、自己免疫性疾患や炎症性疾患に深く関与する。我々はNETs構成成分である生体内蛋白ラクトフェリンが自らの陽性荷電により陰性荷電を有するNETsを凝集させてその放出を抑制することを見出した。また、ラクトフェリンが自己免疫性血管炎におけるNETs形成を抑制し病態を改善させることからNETs関連疾患を制御する新たな治療法の候補となるものである。

研究成果の概要(英文)：Neutrophil extracellular traps (NETs) are associated with the development of autoimmune and/or inflammatory diseases. We found that lactoferrin translocates from the cytoplasm to the plasma membrane of neutrophils upon stimulation and strongly suppresses NETs without effects on oxygen radicals generation. Exogenous lactoferrin significantly shrunk the chromatin fibers in the released NETs. The results that lactoferrin removed positive charge failed to inhibit NET formation suggested that charge-charge interaction between lactoferrin and NETs are required in the function. Lactoferrin suppressed development of autoimmune small-vessel vasculitis and NETs release into the circulation. These observations suggest that lactoferrin serves as an intrinsic inhibitor of NETs and subsequent DNA release into the circulation. Taken together, our data indicate that lactoferrin may represent a therapeutic lead for controlling NET release in autoimmune and/or inflammatory diseases.

研究分野：inflammation

キーワード：neutrophil inflammation lactoferrin autoimmune vasculitis

1. 研究開始当初の背景

抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連血管炎は急速進行性の多臓器障害を来す予後不良の自己免疫疾患である。特に欧米と比して本邦での特徴は、70歳前後の高齢者に多く自己抗体として好中球の myeloperoxidase (MPO) に対する自己抗体 MPO-ANCA が検出される顕微鏡的多発血管炎の頻度が高いことであり、全身性疾患としての生命予後は1年後の生存率が約70%と不良であり難治性血管炎に分類される。本疾患は急速進行性の血管炎、特に急速進行性糸球体腎炎と肺血管炎が生命予後を左右する。現状では、ステロイドや免疫抑制薬を中心とした治療プロトコルが採用されている結果、感染症や発癌などの副作用により致命的な転帰をとる場合も多く、自己免疫制御メカニズムの解明による安全な治療法の開発が求められている。

2004年 Brinkmann らは、細菌感染に対し好中球が顆粒状蛋白分解酵素(MPO、エラスターゼ、ラクトフェリンなど)とクロマチン(DNA とヒストン)からなる線維網を細胞外に放出して細菌をからめとって死滅させる好中球細胞外捕捉(Neutrophil Extracellular Traps: NETs) という現象を報告し、好中球による生体防御機構に関しての理解が大きく変換した。さらに ANCA 血管炎においても NETs 形成が腎臓などの炎症の激しい組織に検出されることが報告された。さらに、NETs は血小板と好中球が相互作用したときに著しく増幅されることが分かってきた。全身性エリテマトーデスにおいては DNase の活性が低下して NETs の分解が抑制されていることが報告された。以上のように、自己免疫性血管炎においては NETs 産生、炎症、自己免疫異常の間に増幅回路が存在することから、NETs 産生を制御することによりこの悪循環を遮断するという戦略が新たな血管炎治療法につながるのではないかと考えた。

研究代表者の平橋は、これまで好中球の細胞機能と血管炎のメカニズムを中心に研究を行ってきた。特に白血球接着因子 Mac-1(CD11b/CD18)が細胞の外から内へ送る Outside-in シグナルを介して細胞障害性のプロテアーゼ(特に好中球エラスターゼ)の脱顆粒を促進して血管炎の病態形成に関与することを *in vivo* の系で示した(Hirahashi J et al. *Immunity*, 2006)。さらに、Mac-1 が好中球と血小板の相互作用の橋渡しをして炎症による腎糸球体内血栓形成をもたらす主要因子であることを明らかにし、自己免疫性腎炎による腎不全治療の標的として報告した(Hirahashi J et al. *Circulation* 2009)。以上の一連の研究を進展させ、NETs の産生制御における活性酸素種(Reactive Oxygen Species: ROS)の役割を解析し、特に鉄イオン(Fe^{2+})や銅イオン(Cu^{1+})を触媒とするフェントン反応の制御による血管炎治療法を探索するという着想に至った。

2. 研究の目的

本研究は自己免疫性血管炎における慢性炎症メカニズムを、好中球細胞外捕捉現象(NETs)と活性酸素種(ROS)に焦点を当てて解析する。我々は、ROS の産生経路の中でも、細胞中の鉄イオン(Fe^{2+})や銅イオン(Cu^{1+})を触媒として過酸化水素(H_2O_2)をヒドロキシルラジカル($\text{OH}\cdot$)に変換するフェントン反応の役割に着目した。フェントン反応を制御する薬剤が NETs 産生を抑制し自己免疫性血管炎の新しい治療法となりうるかを *in vitro* および *in vivo* の系で検証する。

(1) 好中球における NETs 産生に関わる活性酸素種の同定とフェントン反応阻害薬による効果

NETs の産生には ROS 産生が必須であることに注目し、好中球における ROS 産生を NETs の産生と同期して蛍光プローブで可視化することにより、各種の ROS が NETs 産生にいかに関与するかを解析する。東京大学医学部生体物理医学の浦野教授らが開発した各種 ROS を種選択的に検出可能な蛍光プローブ群 (HPF, HySOx, NiSPYs) を用いた生細胞イメージングを行う。まず、解析する金属イオンが触媒として関与するフェントン反応に着目する。フェントン反応とは、過酸化水素が、細胞中の鉄イオン(Fe^{2+})や銅イオン(Cu^{1+})などの触媒作用で、極めて活性が高いため生体にとって有害とされるヒドロキシルラジカル($\text{HO}\cdot$)に変化する反応である。 $(\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^- + \text{HO}\cdot)$ このヒドロキシルラジカルを検出を HPF 蛍光プローブで行う。また、過酸化水素から MPO (ミエロペルオキシターゼ)の作用で産生される次亜塩素酸イオンの検出を HySOx という蛍光プローブで行う。さらに、NO と $\text{O}_2^{\cdot-}$ の反応によって形成されるパーオキシナイトライト (ONOO^-) などのニトロ化ストレスを NiSPYs という蛍光プローブで検出する。これらのプローブを用いて PMA, LPS 刺激および血管内皮との共培養系における活性酸素種を NETs 形成(SYTOX Green)と共に検出する。フェントン反応阻害薬(鉄キレート剤: デフェロキサミン、銅キレート剤: トリエチン、鉄、銅キレート剤: ラクトフェリン)存在下に NETs 形成と ROS の生成を同時測定し経時的変化を追うことにより、NETs におけるフェントン反応およびその他の活性酸素種の役割を解析することができる。

(2) フェントン反応阻害薬の PAD4 およびヒストン H3 シトルリン化への影響

タンパク質アルギニン脱イミノ化酵素(PAD)およびヒストン H3 シトルリン化は NETs 形成刺激シグナルの要所である。PAD4 は、アミジノ基転移酵素スーパーファミリーに属するグアニジン修飾酵素である。PAD1~4 および 6 のうち PAD4 のみが核に局在し、他は細胞質に分布する。PAD4 活性によりヒストン H3 のアルギニン残基がシトルリン残基へカルシウム依存的に変換されることが

NETs 形成において必須であるとされる。関節リウマチ患者においては PAD4 活性が亢進することにより、自己免疫反応による組織障害が誘導される。上記のフェントン反応阻害薬が PAD4 活性および H3 シトルリン化にどのような影響を及ぼすかをウェスタン解析により検証する。

(3) フェントン反応阻害薬の自己免疫性血管炎モデルへの効果

自己免疫性血管炎の中でも ANCA 血管炎/腎炎の自然発症型モデルである spontaneous crescentic glomerulonephritis forming mice/Kinjoh (SCG/Kj マウス) は、血清 MPO-ANCA 陽性で半月体形成性糸球体腎炎を呈するモデルとして、Kinjoh らにより報告された。このモデルに対して、細胞実験で NETs 阻害作用の確認できたフェントン反応阻害薬を投与し、生存曲線および半月体形成性糸球体腎炎の評価を行う。

3. 研究の方法

(1) NETs 形成過程の好中球生細胞イメージング

好中球分離；ヒト末梢血 14ml を注射器とシリリングで採取しモノポリ分離溶液 (DS PHARMA BIOMEDICAL®) を用いて好中球を分離する。採取後 PBS(-) で洗浄、蒸留水 5ml (30 秒間) により赤血球を溶血し DMEM+0.5% FBS(Ca, Mg free) 中に好中球を浮遊し細胞濃度 1×10^6 個/ml の好中球液 4ml を得る。8 チャンバースライドに好中球を 1×10^5 個/well で分注し、SYTOX Green 500nM (最終濃度)、NETs 刺激薬 (phorbol 12-myristate 13-acetate ; PMA 25 nM) および各種 ROS 検出に応じて下記プローブを注入する。乾燥対策として最後にシリコンオイル 200 μ l/well を注入し観察を開始する。

連携研究者である東京大学大学院医学研究科生体物理医学 浦野教授らが新規に開発した、各活性酸素種を特異的に検出する以下の蛍光プローブを用いて好中球の生細胞イメージングを行う。

HPF: OH ラジカルなどの高い活性をもつ ROS 特異的な化学反応としてジアリルエーテル類の ipso 置換反応を利用した蛍光プローブ。

NiSPYs: パーオキシナイトライト (ONOO-) などのニトロ化ストレス検出蛍光プローブ

HySOx: 過酸化水素から MPO(ミエロペルオキシターゼ) の作用で産生される次亜塩素酸イオン検出蛍光プローブ

また NETs を細胞外に DNA が放出された時点で検出する目的で SYTOX Green を採用する。

(2) NETs 産生に対するフェントン反応阻害薬 (鉄、銅イオンキレート剤) の影響

上記の OH ラジカルなどの高い活性をもつ ROS を特異的に検出可能な蛍光プローブ

(HPF) を主に用いて、フェントン反応阻害薬 (鉄キレート剤: デフェロキサミン、銅キレート剤: トリエンチン、鉄、銅キレート剤: ラクトフェリン) の投与下に NETs 産生細胞数を目視下に経時的に刺激後 7 時間まで測定する。また、同時にフェントン反応阻害薬が他の ROS 産生に影響するかどうか NiSPYs および HySOx プローブを用いた蛍光染色生細胞イメージングを行う。デフェロキサミン最終濃度 2 mM、トリエンチン最終濃度 0.1 mM-10 mM、ラクトフェリン最終濃度 200 μ g/ml とし、いずれも PMA による刺激 30 分前に投与する。

(3) NETs 形成刺激シグナルにおける PAD4 およびヒストン H3 シトルリン化への影響

細胞内の PAD4 と呼ばれる酵素の活性によりヒストン H3 のシトルリン化が誘導され DNA がほどかれて核膜が崩壊することが NETs 形成に必須であることがわかっている。そこで、NETs 産生刺激である PMA による好中球の PAD4 発現およびヒストン H3 のシトルリン化が、フェントン反応阻害薬 (鉄、銅イオンキレート剤) によっていかなる制御を受けるかについて、抗 PAD4 抗体および抗ヒストン H3 シトルリン抗体を用いてウェスタン解析での検討を行う。

(4) 好中球の血管内皮細胞および血小板との共培養による NETs の解析

生体における NETs 形成機序として好中球の血小板との相互作用が中心的な役割を果たすと報告されており、好中球単独の解析に加えて、血小板 (Platelet-Rich Plasma ; PRP) を用いた共培養系を確立する。8 チャンバースライドに分離した好中球および PRP を加えて 37 °C にて培養する。この系ではフェントン反応阻害薬が血小板へも効果を及ぼす可能性も考慮する。

(5) フェントン反応阻害薬の自己免疫性血管炎モデルマウスへの効果の検討

SCG/Kj マウス) に対しフェントン反応阻害薬を 8 週令より投与し、生存曲線および半月体形成性糸球体腎炎の評価を行う。

4. 研究成果

我々は in vitro の実験系において薬理的刺激物質として PMA を用いてヒト末梢血由来好中球を刺激し NETs 形成を惹起し共焦点顕微鏡を用いて観察した。NETs 形成がフェントン反応によって制御されているという仮説に基づいて、フェントン反応阻害薬の効果を検証したところ、デフェロキサミン (鉄キレート剤) およびトリエンチン (銅キレート剤) の効果は認めず、鉄および銅イオンキレート剤であるラクトフェリンの前処置により濃度依存性に NETs 産生が顕著に抑制されることを見出した。また、ラクトフェリン処置によって上記のプローブを用いた測定では予想に反し好中球の ROS 産生は抑制されなかったことから、ラクトフェリンの NETs 抑制効果はフェントン反応を介するものではない

いと判断した。NETs 形成を惹起する刺激として PMA の他に ANCA、活性化血小板が知られているが、いづれの刺激の場合でもラクトフェリン前処置が濃度依存性に NETs 形成を抑制することを in vitro の実験系において示した。以上の結果をもとに、当初の仮説であったフェントン反応阻害というメカニズムには焦点を当てず、「ラクトフェリンの NETs 抑制メカニズム」を新たに探索する方針へ転換した。

また電子顕微鏡を用い PMA 刺激によりヒト好中球から放出された NETs を観察したところ、ラクトフェリン非存在下では NETs 線維一本一本が網目状に拡散していることが観察されたのに対し、ラクトフェリン存在下では NETs 線維が一塊に凝集したように集簇した像が観察された。

内因性ラクトフェリンの NETs 形成における役割を検証するために、ヒト骨髓球系白血病細胞株 (neutrophil-like human myeloid leukemia cell line ; HL-60) に対してラクトフェリン siRNA 処置を用いてラクトフェリン mRNA のノックダウンを行った。ヒト末梢血由来好中球は終末分化細胞であり寿命が短いと遺伝的操作が困難であるため、これまでに好中球同様に NETs 形成を起こすことが知られている HL-60 細胞を実験に使用した。ラクトフェリン mRNA 発現、ラクトフェリン蛋白発現は siRNA 処置によって低下したことをそれぞれ real time PCR、western blotting により確認した。siRNA 処置により内因性ラクトフェリンをノックダウンした HL-60 細胞が PMA 刺激により形成する NETs は、negative control siRNA 処置を施行した HL-60 細胞と比較して増強することが示された。このデータからラクトフェリンが内因性の NETs 抑制物質であることが示唆された。

NETs 形成におけるラクトフェリンの局在を検証するためにヒト由来好中球を PMA により刺激し免疫蛍光染色を施行、共焦点顕微鏡を用いて観察した。無刺激の好中球において好中球細胞質に存在していた内因性ラクトフェリンが、PMA 刺激により細胞膜へ移行することが確認された。外因性にラクトフェリンを投与した場合、細胞膜上へのラクトフェリンの集積がより顕著となった。

これまでの報告からラクトフェリンは強い陽性荷電物質であり、陰性荷電をもつ DNA と結合することが知られている。我々はラクトフェリンが NETs 形成を抑制するメカニズムは陽性荷電による NETs への結合および NETs を縮合させることによる NET-DNA 拡散の抑制であると考えた。PMA によりヒト由来好中球に NETs 形成を惹起、NET-DNA を抽出した。NET-DNA にラクトフェリンを投与し電気泳動で観察したところバンドの上方へのシフトが観察された。陰性荷電物質として知られるヘパリンおよび LPS を前処置することによりバンドの上方へのシフトが解除された。この結果はラクトフェリンが

NET-DNA と電荷的に結合したことを示唆する。

これまでに NETs 形成において必須の細胞内現象として活性酸素種(ROS)の産生が重要な役割を持つことが知られている。さらに好中球内での ROS 産生亢進に引き続いて起こるエラスターゼの核内移行によるヒストン消失、ROS により活性化するカルシウム依存性の酵素である peptidylarginine deiminase 4 (PAD 4)が触媒するヒストンシトルリン化等の細胞内現象もまた NETs 形成においては重要な役割をもつことが報告されている。我々は、これらの細胞内現象に対するラクトフェリンの影響を検証した。

ヒト由来好中球を PMA により刺激し NETosis を惹起した。好中球細胞内で産生される次亜塩素酸、ヒドロキシラジカルをそれぞれ見目、瀬月内らが開発した HySOx、HPF の蛍光プローブにより検出しフローサイトメトリーを用いて蛍光強度を測定した。NADPH oxidase inhibitor である DPI がこれらの蛍光強度を有意に抑制する一方で、ラクトフェリンは蛍光強度を抑制することはなかった。また、ヒストン H3 シトルリン化を抗ヒストン H3 シトルリン化抗体を用いた western blotting により検出した。PMA 刺激により惹起されたヒストン H3 シトルリン化を DPI が抑制する一方でラクトフェリンはこれを抑制しなかった。次にエラスターゼの核への移行を免疫染色により共焦点顕微鏡を用いて観察した。刺激によりエラスターゼの核移行をラクトフェリンは抑制しなかった。また、無細胞系でエラスターゼが引き起こすヒストン蛋白の分解をそれぞれのヒストンに対する抗体を用いた western blotting によって検出したが、ラクトフェリンはエラスターゼが媒介するヒストン消失を抑制することはなかった。

SCG/kj マウスに 2% 混餌ラクトフェリンを 8 週より経口投与することにより、生存が顕著に改善され、NETs の指標である血中 DNA 濃度や自己抗体である MPO-ANCA の産生が低下した。主たる臓器障害である、病理組織においては半月体形成性糸球体腎炎を有意に抑制した。

本研究によって、我々は以下のことを見出した。好中球二次顆粒成分の一つであるラクトフェリンが、無刺激の好中球においては細胞質に分布していたものが、MPO やエラスターゼとは異なり刺激により細胞膜へ移行すること、外因性に投与されたラクトフェリンは、好中球細胞膜に集積しクロマチン膨張に続いて起こる細胞膜の破裂を抑制した。電子顕微鏡で観察した NETs 形成は、ラクトフェリン非存在下では一本一本の線維が蜘蛛巣状に拡散しているのに対し、ラクトフェリン存在下では一塊に凝集したような形態の特徴を呈していた。ラクトフェリンは NET-DNA と電荷的に結合し、電氣的結合によって NETs 形成を抑制するという仮説

が支持された。予想に反してラクトフェリンは NETs 形成に必須とされている細胞内現象、すなわち ROS の産生、それに引き続くエラストラーゼの核移行および核内でのヒストン消失、また ROS により活性化される酵素 PAD4 が触媒するヒストンのシトルリン化などに影響を及ぼすことなく NETs 形成を抑制していた。自己免疫性血管炎自然発症モデルにラクトフェリンを経口投与することにより、生存が顕著に改善され、NETs の指標である血中 DNA 濃度や自己抗体である MPO-ANCA の産生が低下したことからラクトフェリンが in vivo においても NETs 形成を抑制することにより自己免疫性血管炎の病態を改善する可能性が示された。

これまでにいくつかの NETs 形成抑制物質が報告されている。NADPH oxidase の上流である Raf-MEK-ERK の遮断が NETs 形成を抑制するという報告や、活性化血小板が引き起こす NETs に対してアスピリンが抑制的に機能するという報告等がある。しかし、安全に NETs 抑制作用を発揮する内因性物質はこれまでに報告がない。我々はラクトフェリンが NETs 形成を抑制する内因性物質であることを見出した。最近の研究で NETs は自己免疫疾患のみならず血栓性疾患や心血管疾患においても主要な役割を持っていることが示されてきている。このように、我々の研究結果は、ラクトフェリンが分野横断的に NETs が関連する様々な疾患に対する安全な治療選択肢となる可能性を示している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. 日本ラクトフェリン学会ニュースレター 第 12 号 3 頁 2014 年 10 月 平橋淳一
ラクトフェリン 好中球細胞外トラップ (NETs) 抑制薬: 炎症性および血栓性疾患に対する新たな治療薬としての可能性
査読無

〔学会発表〕(計 14 件)

- (1) 平橋淳一 教育講演 ANCA 血管炎の病態メカニズムと新たな治療法への展望 腎臓血管加齢機構 血管炎をもっと知ろう(第 2 回) 2014 年 11 月 23 日東京都健康長寿医療センター、東京
- (2) 大久保光修、平橋淳一「ラクトフェリンの電荷的相互作用による好中球細胞外トラップ放出抑制機能」日本ラクトフェリン学会第 6 回学術集会、2014 年 11 月 8 日、エポカルつくば(茨城県・つくば市)
- (3) 平橋 淳一 ラクトフェリン: 炎症性および血栓性疾患に対する新たな治療薬としての可能性 日本ラクトフェリン学会第 6 回学術集会 【シンポジウム】「ラクトフェリンの医薬品としての利用を考える」2014 年 11 月 8 日 エポカルつくば(茨城県・つくば市)

- (4) 平橋淳一 日本血管病理研究会シンポジウム 好中球細胞外トラップ (NETs) を制御する物質: ラクトフェリン 2014 年 10 月 4 日、両国 KFC ビル、東京
- (5) 大久保光修、平橋淳一「好中球細胞外トラップ (NETs) 抑制物質ラクトフェリンの機能解析」第 5 回分子腎臓フォーラム、2014 年 9 月 6 日、ベルサール八重洲、東京
- (6) 大久保光修、平橋淳一「好中球細胞外トラップ (NETs) 抑制物質ラクトフェリンの機能解析」第 57 回日本腎臓学会学術総会、2014 年 7 月 4 日、パシフィコ横浜、横浜
- (7) 大久保光修、平橋淳一「好中球細胞外トラップ (NETs) 抑制物質としてのラクトフェリンの機能解析」第 57 回 Blood Vessel Club、2014 年 5 月 26 日、東京大学、東京
- (8) 平橋淳一 日本ラクトフェリン学会セミナー シンポジウム ラクトフェリンー好中球細胞外トラップ (NETs) 抑制薬ー: 炎症性および血栓性疾患に対する新たな治療薬としての可能性 2014 年 5 月 21 日、東京ビッグサイト、東京
- (9) 大久保光修、平橋淳一 Lactoferrin is a suppressor of neutrophil extracellular traps in inflammation, American Society of Nephrology (ASN)、2013 年 11 月 7 日、アトランタ (アメリカ)
- (10) 大久保光修、平橋淳一 Lactoferrin is a suppressor of neutrophil extracellular traps in inflammation, XI International conference on lactoferrin structure, function & application、2013 年 10 月 7 日、ローマ (イタリア)
- (11) 大久保光修、平橋淳一「炎症性疾患における好中球細胞外トラップ (NETs) 抑制物質 多機能蛋白ラクトフェリン - の発見」日本 Cell Death 学会、2013 年 7 月 20 日、京都大学医学部 芝蘭会館、京都
- (12) 大久保光修、平橋淳一「炎症性疾患における好中球細胞外トラップ (NETs) 抑制物質 多機能蛋白ラクトフェリン - の発見」日本炎症再生医学会、2013 年 7 月 2 日、国立京都国際会館、京都
- (13) 大久保光修、平橋淳一 Lactoferrin inhibits formation of neutrophil extracellular traps in inflammation, ANCA workshop in Paris、2013 年 4 月 15 日、パリ (フランス)
- (14) 平橋淳一 教育講演「いま血管炎の発症機序はどのように考えられているか」腎臓血管加齢機構 血管炎をもっと知ろう(第 1 回) 2013 年 11 月 23 日、東京都健康長寿医療センター、東京

〔図書〕(計 2 件)

- (1) 大久保光修、平橋淳一、医学書院、

- 「medicina これだけは知っておきたい検査のポイント第9集 抗好中球細胞質抗体(ANCA)」_Ⓜ、2015年438-439頁
- (2) 田中基嗣、大久保光修、平橋淳一、日本臨床社、「血管炎-基礎と臨床のクロストーク」_Ⓜ、2013年、250-257頁

〔産業財産権〕

○出願状況(計 2 件)

1.

名称：白血球の細胞外トラップ形成の阻害剤
発明者：平橋 淳一、浦野 泰照、大久保 光修、神谷 真子、加賀谷 伸治
権利者：同上

種類：特許

番号：PCT/JP2014/060561

出願年月日 2014.4.8

国外

2.

名称：白血球の細胞外トラップ形成の阻害剤
発明者：平橋 淳一、大久保 光修、川上浩、加賀谷 伸治
権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2014-207415 号

出願年月日： 2014.10.8

国内

〔その他〕

1. 平橋淳一・大久保光修 ラジオ NIKKEI (旧ラジオたんぱ) 第一放送第2回放送
2014年11月27日(木) 21:15-21:30
2014.11.27「日本ラクトフェリン学会・第6回学術集会から」学会賞受賞研究「ラクトフェリンの電荷的相互作用による好中球細胞外トラップ放出抑制機能」の紹介

6. 研究組織

(1)研究代表者

平橋 淳一(HIRAHASHI, Junichi)

慶應義塾大学医学部 講師

研究者番号：70296573

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

浦野 泰照(URANO, Yasuteru)

東京大学 大学院医学系研究科 生体物理医学専攻医用生体工学講座 生体情報学分野 教授

研究者番号：20292956

(3) 研究協力者

大久保 光修(OKUBO, Koshu)

慶應義塾大学医学部 助教

研究者番号：60749125

神谷 真子 (KAMIYA, Mako)、東京大学

大学院医学系研究科 生体物理医学専攻 助教

研究者番号：90596462

川上 浩 (KAWAKAMI, Hiroshi) 共立女子大学 家政学部 教授

研究者番号：90458860