

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08329

研究課題名(和文)慢性閉塞性肺疾患における禁煙補助薬バレニクリンの肺保護作用と発現機序

研究課題名(英文)Varenicline, a smoking cessation drug, improves alveolar expansion and inflammation in elastase-induced lung damage

研究代表者

古賀 允久 (Koga, Mitsuhsa)

福岡大学・薬学部・准教授

研究者番号：60570801

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：慢性閉塞性肺疾患(COPD)は根治的な治療法がない。COPDの急性期および進行期における禁煙補助薬バレニクリンの新規作用を検証するため、エラスターゼ(PPE)によるCOPDモデルマウスを用いて、バレニクリンの肺保護効果を評価した。バレニクリンは、COPDの急性期および進行期において、 $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)を介して、PPEによる肺胞径の拡大を抑制した。また $\alpha 7$ nAChRを介したバレニクリンの作用は、気管支洗浄液中の炎症性細胞数を減少させた。したがって、バレニクリンは、抗炎症反応による肺保護効果が示唆され、COPDや肺の急性炎症反応の抑制に有効であるかもしれない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エラスターゼを気管内噴霧したモデルマウスを用いて、禁煙補助薬バレニクリンによる肺保護作用を検討した。バレニクリンは、エラスターゼによる肺胞径拡大を抑制し、また気管支洗浄液中の炎症性細胞の数を抑制した。これらの作用は、 $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体を介した作用であることが示唆された。このようにバレニクリンは、禁煙補助薬としてだけでなく、COPDなどの炎症を介した肺疾患にも有効であるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：Smoking cessation is the most effective treatment in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Varenicline, a selective partial agonist of $\alpha 4 \beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) and full agonist of $\alpha 7$ nAChRs, is a widely used and effective drug for smoking cessation. The aim of the present study was to examine the effect of varenicline on emphysema in porcine pancreatic elastase (PPE)-inhaled mice. PPE-inhaled mice were treated with varenicline and an $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) antagonist, methyllycaconitine (MLA) for 5 and 21 days. varenicline markedly ameliorated PPE-induced alveolar expansion and inflammatory response in bronchoalveolar lavage fluid in PPE-inhaled mice. These blocking effects were blocked by MLA. In conclusion, varenicline likely has an anti-inflammatory property to protect PPE-induced alveolar expansion via $\alpha 7$ nAChR. Varenicline may be useful for patients with COPD and acute-phase inflammatory response of the lung.

研究分野：薬学

キーワード：バレニクリン $\alpha 7$ nAChR COPD

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者は、高齢化に伴い増加しており、特に心・血管疾患の合併率が高く、全身性炎症、糖尿病、骨粗鬆症、消化器疾患などの全身併存症も誘発する。しかし、COPD は治療が困難であり、根治的な治療法がない。我々は、これまでに禁煙補助薬バレニクリンが動脈硬化巣の形成を促進させるという有害作用を明らかにした。一方、elastase 噴霧による COPD モデルマウスにおいて、バレニクリンが肺障害を保護するという知見を得た。そこで本研究では、バレニクリンによる COPD に対する新規治療効果を検証し、安全性および有効性の高い新規 COPD 治療薬の開発へと連結することを企てた。

2. 研究の目的

本研究では、バレニクリンが肺に及ぼす影響を明らかにするために、「COPD 病態下においてバレニクリンは肺保護効果がある」という仮説を検証した。すなわち、ブタ豚エラストラーゼ (PPE) 誘発 COPD モデルマウスにバレニクリンを投与し、肺胞径および浸潤した炎症性細胞数を比較することでバレニクリンの効果を検討した。また骨基質タンパク osteopontin (OPN) は、マクロファージ、活性 T 細胞、上皮細胞などにおいて炎症過程で増加し、炎症を亢進させる。さらに COPD 患者の喀痰中で増加する報告があるため、OPN に着目しバレニクリンによる肺保護作用の機序を検証した。

3. 研究の方法

動物実験：8 週齢の C57BL/6 マウスに PPE 2U を気管内に噴霧した COPD モデルマウスを作成した。

(1) COPD 進行期 (バレニクリン 21 日間投与): COPD モデルマウス (PPE 2U) に、PPE 噴霧した日から、バレニクリン (0.5mg/kg/day、varenicline 群) 又は生理食塩水 (vehicle 群) を 21 日間皮下投与した。また $\alpha 7$ nAChR 拮抗薬である methyllycaonitine (MLA; 5mg/kg/day) を腹腔内投与により同様に併用した。その後、左肺組織を回収し、H&E 染色を行い、肺胞径を測定した。また肺組織中の OPN タンパク発現をウエスタンブロット法で評価した。

(2) COPD 急性期 (バレニクリン 5 日間投与): COPD モデルマウスに、バレニクリン (0.5mg/kg/day、varenicline 群) 又は生理食塩水 (vehicle 群) を 5 日間皮下投与した。5 日後に同様に左肺組織と肺洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) を回収し、肺胞径と炎症性細胞数を評価した。

(3) 肺胞マクロファージ (MH-S) に、①バレニクリン (0-10 μ M) 処理、②バレニクリン (10 μ M) + MLA (10 μ M) 併用処理、をそれぞれ 24 時間行い、western blot 法、リアルタイム PCR 法を用いて OPN タンパクおよび mRNA の発現を比較した。

4. 研究成果

(1) COPD 進行期 (バレニクリン 21 日間投与): COPD 進行期として、PPE 噴霧後、21 日間バレニクリンの投与を行なった。PPE 2U 群における平均肺胞径は約 100 μ m に拡大したのに対して、バレニクリン投与によって、約 60 μ m と有意に PPE による拡大を抑制した。次にバレニクリンによる肺胞径の拡大抑制効果が $\alpha 7$ nAChR を介するかを明らかにするために、PPE 2U を噴霧したマウスに $\alpha 7$ nAChR アンタゴニストである MLA を投与した。その結果、バレニクリンによる肺胞径の拡大抑制効果が阻害された (約 87 μ m) (Fig. 1)。

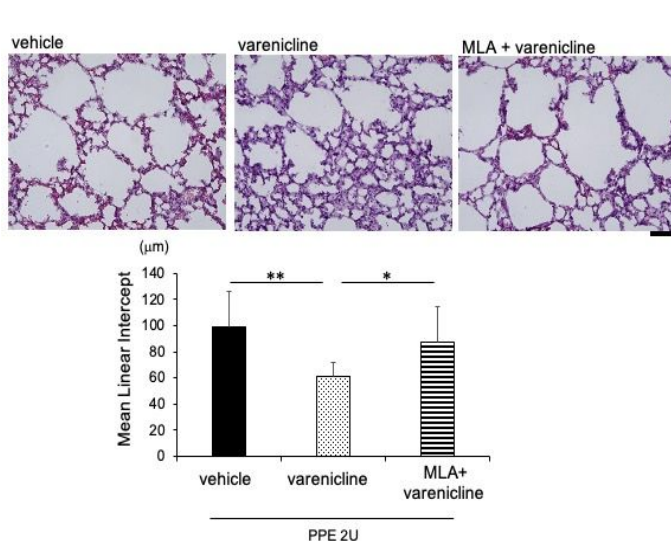


Fig. 1 COPD 進行期における肺胞径拡大に対するバレニクリンの抑制効果

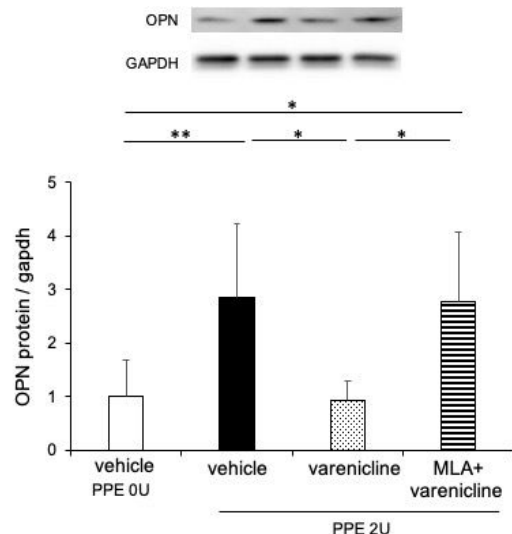


Fig. 2 肺組織における OPN タンパク発現

またこの時の OPN タンパク発現をウエスタンブロット法で比較した。PPE (2U)噴霧により、肺組織における OPN 発現は PPE (0U)噴霧と比較して有意に増加した。またバレニクリンは、肺組織における PPE による OPN タンパク発現増加を有意に抑制した。一方、バレニクリン + MLA 併用により、バレニクリンによる OPN 発現抑制作用は阻害された(Fig.2)。

(2) COPD 急性期 (バレニクリン 5 日間投与) : 急性期として PPE 噴霧後、5 日間のバレニクリン投与し、効果を検討した。PPE 2U 群における平均肺胞径は約 90 μ m であったのに対して、バレニクリン投与によって、約 70 μ m と有意に PPE による拡大を抑制した。また (1) と同様に MLA 併用により、バレニクリンによるその効果は阻害された (Fig3)

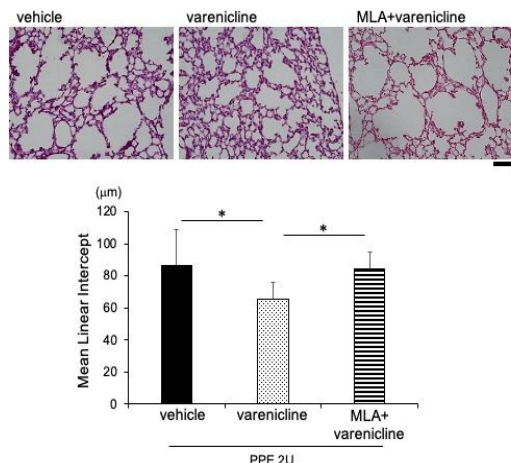


Fig. 3 COPD急性期における肺胞径拡大に対するバレニクリンの抑制効果

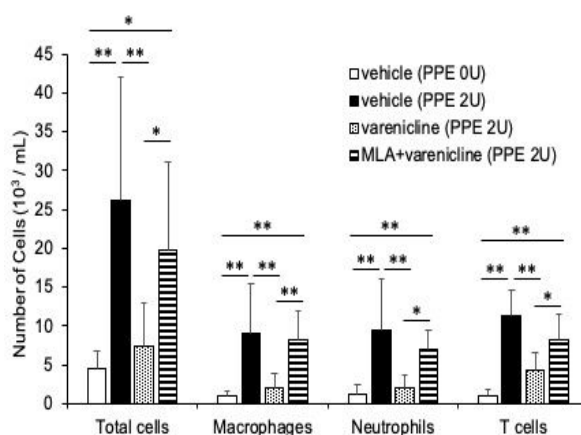


Fig. 4 COPD急性期におけるBALF中の炎症性細胞数

この時の BALF 中のマクロファージ、好中球、T 細胞をカウントしたところ、各細胞において PPE で細胞数が増加し、バレニクリンによって、それらの細胞数は減少した。さらに、MLA によって、バレニクリンによる炎症性細胞の減少は抑制された。(Fig.4)

(3) 肺胞マクロファージ (MH-S)に varenicline (0, 0.1, 1, 10 μ M) を 24 時間処理し、サンプル回収後、OPN のタンパクおよび mRNA を western blot 法、リアルタイム PCR 法で評価した。OPN のタンパク (Fig.5) および mRNA 発現(Fig.6)はともに、バレニクリン濃度依存的に減少し、10 μ M で最も減少した。さらに、MLA を併用したところ、バレニクリンによる OPN のタンパク (Fig.7) および mRNA(Fig.8)発現の減少効果が阻害された。

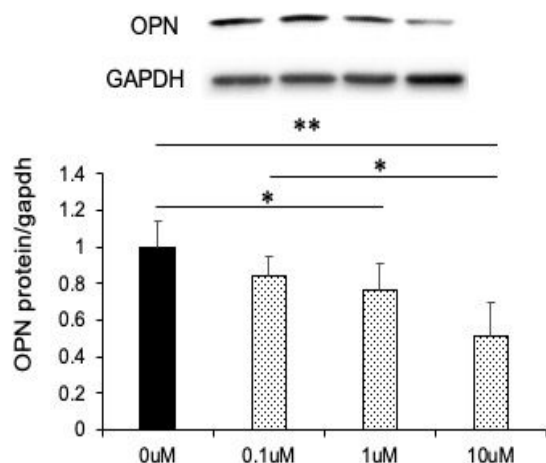


Fig. 5 MH-Sにおけるバレニクリンによる OPNタンパク発現減少

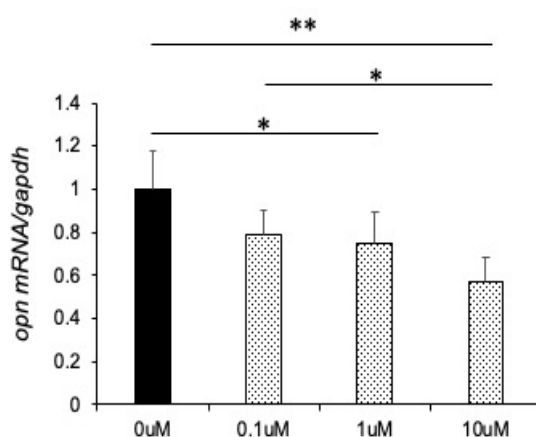


Fig. 6 MH-Sにおけるバレニクリンによる OPN mRNA発現減少

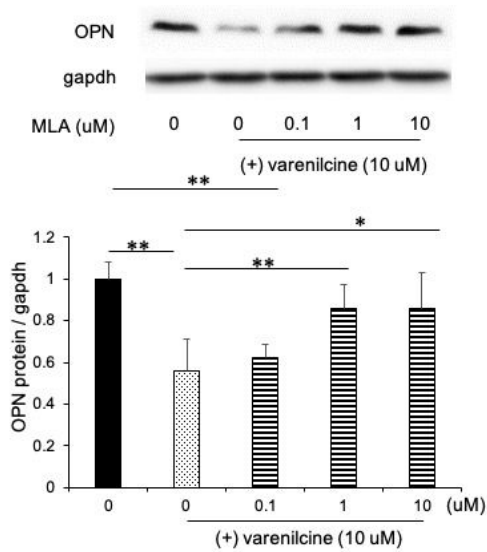


Fig. 7 MH-SにおけるMLAIによる OPNタンパク発現に及ぼす影響

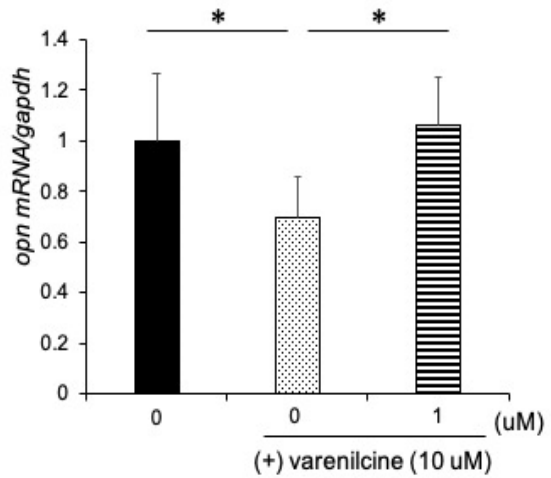


Fig. 8 MH-SにおけるMLAIによる OPN mRNA発現に及ぼす影響

以上より、PPE 誘発 COPD モデルマウスの COPD の進行期および急性期において、 $\alpha 7$ nAChR を介したバレニクリンの作用によって、肺胞径の拡大を抑制し、肺を保護することが示唆される。また、その作用は BALF 中の炎症性細胞（マクロファージ、好中球、T 細胞）の浸潤の抑制、さらに肺組織および肺胞マクロファージにおける OPN 発現の減少によるものかもしれない。このように、バレニクリンは禁煙補助薬としてだけでなく、COPD などの炎症を伴う呼吸器疾患に対する予防、軽減および治療に対しても有用かもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Koga Mitsuhiisa, Kanaoka Yuki, Inada Koshun, Omine Sai, Kataoka Yasufumi, Yamauchi Atsushi	4. 巻 143
2. 論文標題 Hesperidin blocks varenicline-aggravated atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E knockout mice by downregulating net uptake of oxidized low-density lipoprotein in macrophages	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 106 ~ 111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2020.01.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Koga Mitsuhiisa, Kanaoka Yuki, Okamoto Mana, Nakao Yuki, Inada Koshun, Takayama Saki, Kataoka Yasufumi, Yamauchi Atsushi	4. 巻 142
2. 論文標題 Varenicline aggravates atherosclerotic plaque formation in nicotine-pretreated ApoE knockout mice due to enhanced oxLDL uptake by macrophages through downregulation of ABCA1 and ABCG1 expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Pharmacol Sci.	6. 最初と最後の頁 9 ~ 15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2019.11.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Koga M, Kanaoka Y, Tashiro T, Hashidume N, Kataoka Y, Yamauchi A.	4. 巻 137
2. 論文標題 Varenicline is a smoking cessation drug that blocks alveolar expansion in mice intratracheally administrated porcine pancreatic elastase.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Pharmacol Sci.	6. 最初と最後の頁 224-229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2018.06.007.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Koga M, Kanaoka Y, Kobayashi N, Inada K, Eto M, Takagi A, Kataoka Y, Yamauchi A.
2. 発表標題 Smoking cessation drug, varenicline, inhibited alveolar expansion in mice intratracheally administrated porcine pancreatic elastase
3. 学会等名 18th World Congress of basic and clinical pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古賀允久、稲田紘舜、田村茉由、萩原理子、森園好江、片岡泰文、山内淳史
2. 発表標題 バレニクリンは、α7 nAChRを介して肺胞マクロファージにおけるosteopontinの発現を減少させる
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mitsuhisa Koga
2. 発表標題 Varenicline, a smoking cessation drug, inhibited the alveolar expansion in mice intratracheally administrated porcine pancreatic elastase.
3. 学会等名 第91回日本薬理学会年会・第18回国際薬理学・臨床薬理学会議 (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	片岡 泰文 (Kataoka Yasufumi) (70136513)	福岡大学・薬学部・教授 (37111)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	金岡 祐輝 (Kanaoka Yuki) (80761246)	福岡大学・薬学部・助教 (37111)	削除：2018年2月22日