

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09613

研究課題名(和文)臨床応用に向けた喘息におけるアクアポリン3の役割の解析

研究課題名(英文)Analysis of the role of AQP-3 in asthma towards clinical application

研究代表者

小賀 徹(Oga, Toru)

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号：90378670

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：喘息は、吸入ステロイド薬の普及により喘息死は減少したものの、完治は困難で、長期的な薬物治療が必要である。私たちはアクアポリン3(AQP3)欠損マウスを喘息モデルに適応し、AQP3がT細胞の気道へのtraffickingや肺胞マクロファージにおけるケモカイン制御を通して、喘息に促進性に働くことを発表した。私たちは、基礎研究の結果をもとにヒトへの応用を考え、AQP3を新規喘息治療薬の標的と捉え、まずヒト喘息患者でのAQP3の役割を検討することを目的とした。そこで、ヒト健常人や喘息患者の誘発痰上清中のAQP3濃度を測定し、他のサイトカイン・メディエーターや臨床指標との関係性を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、遺伝子改変マウスを用いて喘息モデルに適応して得られた基礎的知見を、臨床の喘息患者での応用を検討して、新規治療薬やバイオマーカーを構築する、トランスレーショナルリサーチの一環として行われた重要なものである。細胞膜表面にある水チャンネルの一つであるAQP3を標的とし、健常人や喘息患者において、誘発痰上清をサンプルとして、喘息のサイトカインや臨床指標との関係性に関して考察した。AQP3濃度の測定系はでき、部分的にAQP3と臨床指標との関係性が見られたが、マウスほどの単純な関係性ではなく、基礎研究から臨床応用への困難さもあり、今後のさらなる検討を要すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The spread of inhaled corticosteroids has reduced death due to asthma. However, it is impossible to cure asthma completely, and long-term drug treatment is needed. We applied aquaporin-3 (AQP-3) deficient mice to a murine asthma model, and reported that AQP-3 facilitated asthma through mediating T cell trafficking and chemokine production from alveolar macrophages. Based on these basic findings, we hypothesized that AQP-3 would be a novel therapeutic target for patients with asthma. Then, we aimed to analyze the role of AQP-3 in human asthma. So, we examined the concentrations of AQP-3 in sputum of healthy controls and patients with asthma, and analyzed their relationships with other cytokine mediators and clinical parameters to reveal the clinical role of AQP-3.

研究分野：Respiratory Medicine

キーワード：asthma AQP-3

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

喘息は、咳、喘鳴、息切れなどを主症状とし、世界でも約3億人以上が罹病していると推定され、日本での有症率も約3-9%で年々増加している。吸入ステロイド薬の普及により喘息死は減少したものの、完治は困難で、長期的な薬物治療が必要である。今後の喘息治療は、吸入ステロイド薬や気管支拡張薬のみに依存しない新規の抗炎症、さらに抗リモデリングを視野に入れた創薬が必要であるし、適切な病態評価ができるようなバイオマーカーの出現も望まれた。

私たちは、細胞膜に存在する水チャネルであるアクアポリン(AQP)に注目してきた。AQPは細胞膜に存在する水チャネルであり、哺乳類には13種類が知られている。その中で私たちは、アクアポリン3(AQP3)を標的にした。私たちは、AQP3欠損マウスを喘息モデルに適用することにより、AQP3欠損マウスでは野生型マウスに比べて、好酸球性の気道炎症や気道過敏性が著明に抑制され、発表した(*Sci Rep* 2016)。その機序として、卵白アルブミン(OVA)感作した脾臓細胞の移入実験を通して、AQP3欠損喘息マウスではCD4+T細胞の遊走能が低下しており、また、AQP3欠損喘息マウスでは、肺胞マクロファージが、強力な好酸球遊走作用をもつCCL24 (eotaxin2)、CCL2、CCL22など一連のケモカイン群の産生が抑制されている事を見出し、AQP3が複数の細胞に多面的に関与していることは、難治性患者の治療薬開発につながり、また、マクロファージ活性とステロイド抵抗性喘息との関連性が指摘されていることから、従来と異なる効果の期待がもてると思った。さらに、AQP3欠損喘息マウスの肺胞マクロファージのマイクロアレイ解析をすると、組織リモデリングに関わる遺伝子群(*MMP9*, *Timp1*, *Vegfa*, *Igf1*など)の発現やBALF中のタンパク量も抑制されており、AQP3は気道の線維化・リモデリングにも関わっている可能性がある。

このように、いろいろな側面から、AQP3の喘息モデルマウスでの役割を解析し得られた知見を、いかに臨床に生かしていくかが次の課題となった。

2. 研究の目的

私たちは、AQP3欠損マウスを喘息モデルに適用し、AQP3がT細胞の気道へのtraffickingや肺胞マクロファージにおけるケモカイン制御を通して喘息に促進性に働くことを発表した。AQP3を新規喘息治療薬の標的と捉え、本研究では、ヒト喘息患者でのAQP3の役割を検討し、創薬の基盤となる研究を展開することを目的とした。

3. 研究の方法

まず、誘発喀痰上清中のAQP3濃度の測定系を確立した。その上で、大別して次の2つの課題に関する検討を行った。

(1) 健常人、非重症喘息、重症アトピー型喘息例の誘発喀痰上清中のAQP3と各種サイトカイン・メディエーターについて網羅的な解析を行う。

(2) アトピー型重症喘息例の誘発喀痰上清中のAQP3と血清中のIL-18、喀痰中の細菌

検出との関係に着目して検討した。

4 . 研究成果

健常人、非重症喘息、重症アトピー型喘息例の誘発喀痰上清中の AQP3 と各種サイトカイン・メディエーターについて網羅的な解析を行った。喀痰中の AQP3 濃度については、3 群間で有意な差は認めなかったが、AQP3 と各種サイトカイン・メディエーター濃度との関係は各群で特徴的なパターンを認めた。全体解析で AQP3 と関連の強いサイトカインは IL-7, IL-12, IP-10 ($\rho=0.54 \sim 0.41$, $p<0.0001$)であった。健常人では IP-10, IL-12, G-CSF, IL-8 ($\rho=0.67 \sim 0.54$, $p < 0.03$)、非重症喘息例では IP-10, IL-7, MIP-1b, IL-9, MCP-1, IL-12 ($\rho=0.56 \sim 0.39$, $p<0.005$)、重症アトピー型喘息例では IL-12, IL-13, IL-10, IL-7, VEGF, Eotaxin, MCP-1 ($\rho=0.59 \sim 0.37$, $p<0.03$)の各濃度が AQP3 濃度と関連した。生理的環境下・非重症喘息例では AQP3 と 2 型炎症との関係は乏しいが、重症アトピー型喘息例では IL-13 や eotaxin などとの関係が認められ、2 型炎症への関与も示唆された。

引き続き、アトピー型重症喘息例の誘発喀痰上清中の AQP3 と血清中の IL-18、喀痰中の細菌検出との関係に着目して検討した。IL-18 は Th1・Th2 系炎症の双方に関わるサイトカインとしてアトピー型重症喘息でも重要とされるが、IL-18 の最大の役割は、T 細胞や NK 細胞からの IFN- γ の産生を誘導し、抗微生物作用を発揮する点である。また喀痰中のグラム陰性(GN)桿菌の存在は喘息において好中球性気道炎症の惹起に関与する。AQP は皮膚などでは保湿機能から抗微生物活性を有する可能性が示されているため、今回 AQP3 の防御的作用の可能性について解析を行なった。結果、アトピー型重症喘息例において喀痰 AQP3 は血清 IL-18 と有意に正に相関した ($\rho = 0.42$, $p = 0.039$)。喀痰 AQP3 濃度や血清 IL-18 値と喀痰での病原細菌や GN 桿菌の検出頻度に関連はなかったが、血清 IL-18 値により層別解析を行なったところ、IL-18 高値群において、GN 桿菌検出例では非検出例に比し有意に喀痰 AQP3 濃度が低かった ($p < 0.0001$)。この結果は GN 桿菌検出に対する血清 IL-18 と喀痰 AQP3 濃度との交互作用の解析でも確認された。即ち IL-18 と AQP3 が共に高い例では下気道の GN 桿菌定着を抑制しうる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究協力者	松本 久子 (Matsumoto Hisako)	京都大学大学院医学研究科・呼吸器内科学・准教授	