

平成21年4月3日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591251
 研究課題名（和文） 気管支喘息での単球マクロファージのロイコトリエン受容体の
 気道リモデリングへの関与
 研究課題名（英文） Involvement of cysteinyl leukotriene receptor on
 monocytes/macrophages in airway remodeling in bronchial asthma
 研究代表者
 市山高志（ICHIYAMA TAKASHI）
 山口大学・大学院医学系研究科・准教授
 研究者番号：20263767

研究成果の概要：単球/マクロファージにおいて cysteinyl leukotriene (cysLT) 刺激により cysLT1 受容体を介し macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α)、MIP-1 β が産生されることを明らかにした。この MIP-1 α 、MIP-1 β 産生には MAPK 経路のうち extracellular signal-regulated kinase (ERK) 1/2 の関与が示唆された。またヒト単球/マクロファージにおいて cysLT 刺激による monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 産生は cysLT1 受容体を介して MAPK 系の ERK1/2、c-Jun N-terminal kinase (JNK) および NF- κ B 活性化により誘導されることを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,400,000	720,000	3,120,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：小児免疫・アレルギー・膠原病学

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性炎症において単球/マクロファージの関与が示唆されているが、それらに関する報告は少ない。単球/マクロファージには cysteinyl leukotriene 1 (cysLT1) 受容体が存在する。本研究者は cysLT 刺激により単球/マクロファージから cysLT1 受容体を介して monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) が産生されることを明らかにした (Clin Exp Allergy 2005)。さらに cysLT は単球系培養細胞において tumor necrosis factor α (TNF α) による matrix

metalloproteinase-9 (MMP-9：気管支基底膜の攻撃因子で気道リモデリングに関与する酵素) 産生を増強し、気管支喘息における LT の単球/マクロファージに対する作用は気道リモデリングにも関与することを明らかにした (Clin Exp Allergy 2007)。しかし、依然として単球/マクロファージの cysLT1 受容体機能に関する報告は少ない。

2. 研究の目的

気管支喘息患者では末梢血単球/マクロファージ及び肺胞マクロファージの cysLT 受容

体が増加しており、LTC₄、D₄、E₄によりこれらの細胞から気道リモデリング関連メディエーターやケモカイン産生が起こることが予想される。気管支喘息における単球/マクロファージの役割は気道収縮や炎症の促進だけでなく、気道リモデリングに関与する作用機序がさらに詳細に明らかにする。具体的には cysLT 刺激による単球/マクロファージからの macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α)、MIP-1 β 産生を検討する。また cysLT 刺激による単球/マクロファージからの MCP-1、MIP-1 α 、MIP-1 β 産生における細胞内シグナル伝達機構を解析する。

3. 研究の方法

(1) 単球系 THP-1 細胞を cysLT で刺激し MIP-1 α 、MIP-1 β 産生を ELISA で検討した。

(2) THP-1 細胞を用いて cysLT の刺激による MIP-1 α 、MIP-1 β の mRNA 発現を real-time PCR で検討した。

(3) THP-1 細胞を用いて LTD₄ の刺激による MIP-1 α 、MIP-1 β 産生に対する LT 受容体拮抗薬 pranlukast 及び MAPK 阻害剤の抑制効果を検討した。

(4) ヒト末梢血単核球 (PBMC) を用いて LTD₄ の刺激による MIP-1 α 、MIP-1 β 産生と pranlukast の抑制効果を検討した。

(5) THP-1 細胞を用いて LTD₄ の刺激による extracellular signal-regulated kinase (ERK) 1/2、c-Jun N-terminal kinase (JNK)、p38MAPK のリン酸化および NF- κ B 活性化を検討した。

(6) THP-1 細胞を用いて LTD₄ の刺激による MCP-1 産生に対する LT 受容体拮抗薬 pranlukast 及び MAPK 阻害剤の抑制効果を検討した。

4. 研究成果

(1) THP-1 細胞において cysLT 刺激により MIP-1 α 、MIP-1 β が産生された。

(2) cysLT 刺激により MIP-1 α 、MIP-1 β の mRNA 発現が増強した。

(3) cysLT 刺激による MIP-1 α 、MIP-1 β 産生を pranlukast がほぼ完全に、ERK 1/2 阻害剤が部分的に抑制した。(図 1, 2)

(4) PBMC において LTD₄ 刺激により MIP-1 α 、MIP-1 β が産生され、pranlukast は MIP-1 α 、MIP-1 β 産生をほぼ完全に抑制した。

(5) THP-1 細胞において LTD₄ は ERK1/2、JNK のリン酸化を誘導したが、p38MAPK のリン酸化は誘導しなかった。また NF- κ B 活性化を誘導した。

(6) cysLT 刺激による MCP-1 産生を ERK 1/2 阻害剤、JNK 阻害剤、NF- κ B 阻害剤が部分的に抑制した。(図 3, 4)

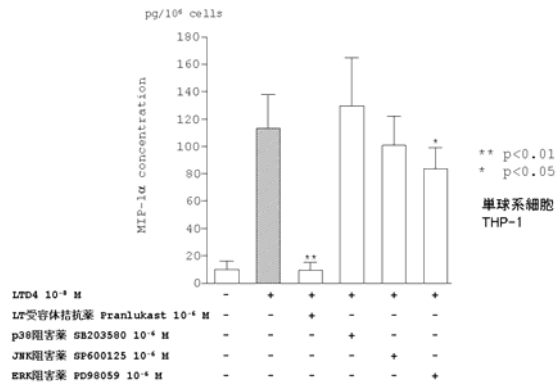


図1. LTD₄によるMIP-1 α 産生に対する各種阻害薬の抑制効果

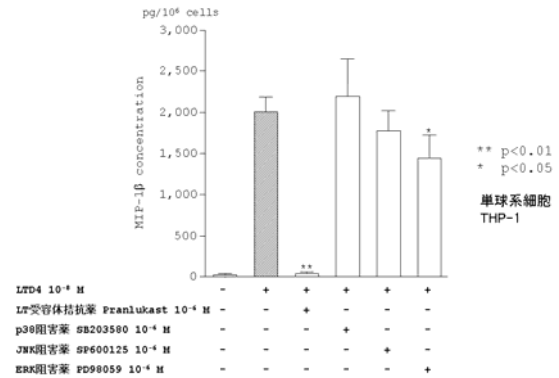


図2. LTD₄によるMIP-1 β 産生に対する各種阻害薬の抑制効果

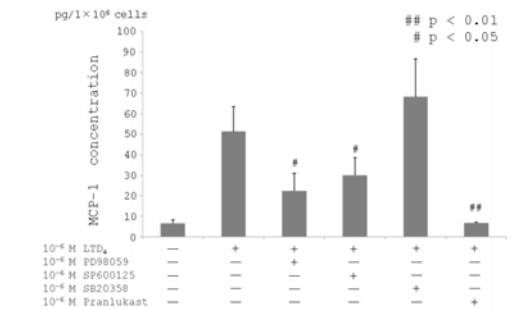


図3. LTD₄によるMCP-1産生系におけるMAPK阻害剤の効果

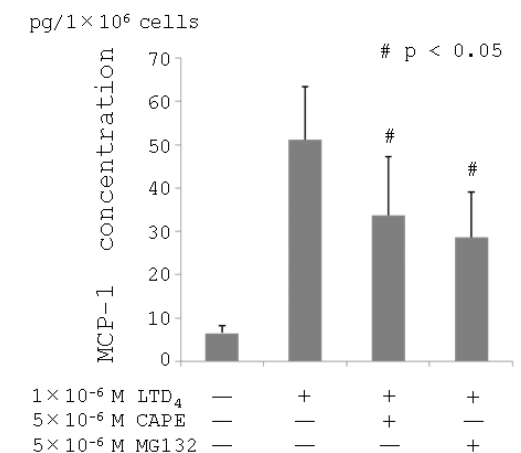


図4. LTD₄によるMCP-1産生系におけるNF- κ B阻害剤の効果

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計34件)

- ① Mimaki M, Hatakeyama H, Ichiyama T, Isumi H, Furukawa S, Akasaka M, Kamei A, Komaki H, Nishino I, Nonaka I, Goto Y. Different effects of novel mtDNA G3242A and G3244A base changes adjacent to a common A3243G mutation in patients with mitochondrial disorders. *Mitochondrion* in press
- ② Takayanagi M, Nishimura H, Matsuzaki Y, Ichiyama T, Umehara N, Watanabe H, Kitamura T, Ohtake M. Acute encephalopathy associated with influenza C virus infection. *Pediatr Infect Dis J* in press
- ③ Kawahara N, Hasegawa S, Hashimoto K, Matsubara T, Ichiyama T, Furukawa S. Characteristics of asthma attack with long-term management for bronchial asthma. *Pediatr Int* in press
- ④ Matsushige T, Ichiyama T, Kajimoto M, Okuda M, Fukunaga S, Furukawa S. Serial cerebrospinal fluid neurofilament concentrations in bacterial meningitis. *J Neurol Sci* in press
- ⑤ Motoyama M, Ichiyama T, Matsushige T, Kajimoto M, Shiraishi M, Furukawa S. Clinical characteristics of benign convulsions with rotavirus gastroenteritis. *J Child Neurol* in press
- ⑥ Sunagawa S, Ichiyama T, Honda R, Fukunaga S, Maeba S, Furukawa S. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in perinatal asphyxia. *Brain Dev* in press
- ⑦ Ichiyama T, Ito Y, Kubota M, Yamazaki T, Nakamura K, Susumu F. Serum and cerebrospinal fluid levels of cytokines in human herpesvirus-6 encephalopathy. *Brain Dev* in press
- ⑧ Tomochika K, Ichiyama T, Shimogori H, Sugahara K, Yamashita H, Furukawa S. Clinical characteristics of respiratory syncytial virus infection-associated acute otitis media. *Pediatr Int* in press
- ⑨ Kajimoto M, Ichiyama T, Ueno Y, Shiraishi M, Hasegawa M, Furukawa S. Enhancement of activated β_1 -integrin expression by prostaglandin E_2 via EP receptors in isolated human coronary arterial endothelial cells: implication for the treatment of Kawasaki disease. *Inflamm Res* 58: 224-228, 2009, 査読有
- ⑩ Fukunaga S, Ichiyama T, Maeba S, Okuda M, Nakata M, Sugino N, Furukawa S. MMP-9 and TIMP-1 in the cord blood of premature infants developing BPD. *Pediatr Pulmonol* 44: 267-272, 2009, 査読有
- ⑪ Hashimoto K, Ichiyama T, Hasegawa M, Hasegawa S, Matsubara T, Furukawa S. Cysteinyl leukotrienes induce monocyte chemoattractant protein-1 in human monocyte/macrophages via mitogen-activated protein kinase and NF- κ B pathways. *Int Arch Allergy Immunol* 149: 275-282, 2009, 査読有
- ⑫ Suzuki Y, Ichiyama T, Ohsaki A, Hasegawa S, Shiraishi M, Furukawa S. Anti-inflammatory effect of $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D_3 in human coronary arterial endothelial cells: implication for treatment of Kawasaki disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2009; 113: 134-138, 2009, 査読有
- ⑬ Ichiyama T, Kajimoto M, Matsushige T, Shiraishi M, Suzuki Y, Furukawa S. Mononuclear cell subpopulations in CSF and blood of children with bacterial meningitis. *J Infect* 58: 28-31, 2009, 査読有
- ⑭ Ichiyama T, Hasegawa M, Hashimoto K, Matsushige T, Hirano R, Furukawa S. Cysteinyl leukotrienes induce macrophage inflammatory protein-1 in human monocytes/macrophages. *Int Arch Allergy Immunol* 148: 147-153, 2009, 査読有
- ⑮ Honda R, Ichiyama T, Sunagawa S, Maeba S, Hasegawa K, Furukawa S. Inhaled corticosteroid therapy reduces cytokine levels in sputum from very preterm infants with chronic lung disease. *Acta Paediatr* 98: 118-122, 2009, 査読有
- ⑯ Fukano R, Matsubara T, Inoue T, Gondo T, Ichiyama T, Furukawa S. Time lag between the increase of IL-6 with fever and NF- κ B activation in the peripheral blood

- in inflammatory myofibroblastic tumor. *Cytokine* 44: 293-297, 2008, 査読有
- ⑰ Ichiyama T, Shoji H, Takahashi Y, Matsushige T, Kajimoto M, Inuzuka T, Furukawa S. Cerebrospinal fluid levels of cytokines in non-herpetic acute limbic encephalitis: comparison with herpes simplex encephalitis. *Cytokine* 44: 149-153, 2008, 査読有
- ⑱ Matsushige T, Ichiyama T, Anlar B, Tohyama J, Nomura K, Yamashita Y, Furukawa S. CSF neurofilament and soluble TNF receptor 1 levels in subacute sclerosing panencephalitis. *J Neuroimmunol* 205:155-159, 2008, 査読有
- ⑲ Nagao T, Morishima T, Kimura H, Yokota S, Yamashita N, Ichiyama T, Kurihara M, Miyazaki C, Okabe N. Prognostic factors in influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Infect Dis J* 27: 384-389, 2008, 査読有
- ⑳ Shiraishi M, Ichiyama T, Matsushige T, Iwaki T, Iyoda K, Fukuda K, Makata H, Matsubara T, Furukawa S. Soluble tumor necrosis factor receptor 1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in hemolytic uremic syndrome with encephalopathy. *J Neuroimmunol* 196: 147-152, 2008, 査読有
- 21 Ichiyama T, Matsushige T, Siba P, Suarkia D, Takasu T, Miki K, Furukawa S. Cerebrospinal fluid levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in subacute sclerosing panencephalitis. *J Infect* 56: 376-380, 2008, 査読有
- 22 Asada K, Ichiyama T, Okuda Y, Okino F, Hashimoto K, Nishikawa M, Furukawa S. Cytokine levels in sputum of patients with tracheostomy and profound multiple disabilities. *Cytokine* 42: 71-76, 2008, 査読有
- 23 Honda R, Ichiyama T, Maeba S, Sunagawa S, Furukawa S. Male siblings with tibia-metacarpal type of chondrodysplasia punctata without maternal factors. *Brain Dev* 2008; 30: 301-304, 2008, 査読有
- 24 Suenaga N, Ichiyama T, Kubota M, Isumi H, Tohyama J, Furukawa S. Roles of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in acute encephalopathy following prolonged febrile seizures. *J Neurol Sci* 266: 126-130, 2008, 査読有
- 25 Ichiyama T, Matsushige T, Kajimoto M, Tomochika K, Matsubara T, Furukawa S. Dexamethasone decreases cerebrospinal fluid soluble tumor necrosis factor receptor 1 levels in bacterial meningitis. *Brain Dev* 30: 95-99, 2008, 査読有
- 26 Kimura A, Sakurai T, Koumura A, Suzuki Y, Tanaka Y, Hozumi I, Nakajima H, Ichiyama T, Inuzuka T. Longitudinal analysis of cytokines and chemokines in the cerebrospinal fluid of a patient with Neuro-Sweet disease presenting with recurrent encephal meningitis. *Intern Med* 47: 135-141, 2008, 査読有
- 27 Yamada K, Yamamoto Y, Uchiyama A, Ito R, Aoki Y, Uchida Y, Nagasawa H, Kimura H, Ichiyama T, Fukao T, Kohno Y. Successful treatment of neonatal herpes simplex-type 1 infection complicated by hemophagocytic lymphohistiocytosis and acute liver failure. *Tohoku J Exp Med* 214: 1-5, 2008, 査読有
- 28 Ichiyama T, Suenaga N, Kajimoto M, Tohyama J, Isumi H, Kubota M, Mori M, Furukawa S. Serum and CSF levels of cytokines in acute encephalopathy following prolonged febrile seizures. *Brain Dev* 30: 47-52, 2008, 査読有
- 29 Hotta N, Ichiyama T, Shiraishi M, Takekawa T, Matsubara T, Furukawa S. Nuclear factor- κ B activation in peripheral blood mononuclear cells in children with sepsis. *Crit Care Med* 35: 2395-2401, 2007, 査読有
- 30 Shiihara T, Watanabe M, Honma A, Kato M, Morita Y, Ichiyama T, Maruyama K. Rotavirus associated acute encephalitis/encephalopathy and concurrent cerebellitis: report of two cases. *Brain Dev* 2007; 29: 670-673, 2007, 査読有
- 31 Ichiyama T, Morishima T, Kajimoto M, Matsushige T, Matsubara T, Furukawa S. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 542-544, 2007, 査読有
- 32 Kajimoto M, Ichiyama T, Akashi A, Suenaga N, Matsufuji H, Furukawa S. West

syndrome associated with mosaic Down syndrome. *Brain Dev* 29: 447-449, 2007, 査読有

- 33 Ichiyama T, Kajimoto M, Hasegawa M, Hashimoto K, Matsubara T, Furukawa S. Cysteinyl leukotrienes enhance tumor necrosis factor- α -induced matrix metalloproteinase-9 in human monocytes/macrophages. *Clin Exp Allergy* 37: 608-614, 2007, 査読有
- 34 Mizuguchi M, Yamanouchi H, Ichiyama T, Shiomi M. Acute encephalopathy associated with influenza and other viral infections. *Acta Neurol Scand* 115: 45-56, 2007, 査読有

[学会発表] (計 17 件)

- ① 市山高志、橋本邦生、長谷川真成、平野玲司、長谷川俊史、古川漸. シンポジウム. 単球/マクロファージにおける cysteinyl leukotriene による MIP-1 α 、MIP-1 β 産生とその制御. 第45回日本小児アレルギー学会. 横浜. 2008. 12. 13-14
- ② 市山高志. 特別講演. 感染症に伴う小児神経疾患トピックス. 第 113 回日本小児科学会山口地方会. 宇部. 2008. 12. 7
- ③ 市山高志、松重武志、梶本まどか、友近喜代子、白石昌弘、古川 漸. 細菌性髄膜炎における髄液および血液中単核球サブセットの解析. 第 40 回日本小児感染症学会. 名古屋. 2008. 11. 15-16
- ④ 市山高志、庄司紘史、高橋幸利、松重武志、梶本まどか、古川漸. 非ヘルペス性辺縁系脳炎の髄液サイトカイン解析: 単純ヘルペス脳炎との比較検討. 第 13 回日本神経感染症学会. 東京. 2008. 10. 10-11
- ⑤ 市山高志、橋本邦生、長谷川真成、前場進治、長谷川俊史、古川漸. 気管支喘息における単球/マクロファージの cysteinyl leukotriene 受容体機能. 第 20 回中国・四国臨床アレルギー研究会. 岡山. 2008. 8. 30
- ⑥ 市山高志、橋本邦生、長谷川真成、平野玲司、長谷川俊史、古川漸. 単球/マクロファージにおける cysLT による MIP-1 α 、 β 産生とその制御. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 東京. 2008. 6. 12-14
- ⑦ 市山高志、松重武志、梶本まどか、伊予田邦昭、古川漸. 溶血性尿毒症症候群 (HUS) 脳症におけるサイトカインおよび MMP-9、TIMP-1 解析. 第 50 回日本小児神経学会. 東京. 2008. 5. 28-31
- ⑧ 市山高志、久保田雅也、伊藤嘉規、梶本まどか、松重武志、古川漸. Human herpesvirus-6 脳症における血清および髄液サイトカイン解析. 第 111 回日本小児科学会学術集会. 東京. 2008. 4. 25-27
- ⑨ Ichiyama T, Makata M, Uchi R, Takekawa T, Matsubara T, Furukawa S. Anti-inflammatory effect of intravenous immunoglobulin in comparison with dexamethasone in vitro: implication for treatment of Kawasaki disease. The 9th International Kawasaki Disease Symposium. Taipei, Taiwan. 2008. 4. 10-12
- ⑩ 市山高志、長谷川真成、橋本邦生、前場進治、松原知代、古川漸. 気管支喘息における単球/マクロファージのロイコトリエン受容体機能. 第 11 回中国地区小児免疫薬物療法研究会. 広島. 2008. 3. 1
- ⑪ 市山高志、末永尚子、久保田雅也、伊住浩史、松重武志、梶本まどか、古川漸. 熱性痙攣重積における血清 MMP-9 および TIMP-1 の検討. 第 2 回日本てんかん学会中国四国地方会. 広島. 2008. 2. 23
- ⑫ 市山高志、松重武志、梶本まどか、友近喜代子、松原知代、古川漸. 細菌性髄膜

炎における dexamethasone 療法時の髄液中 soluble TNF receptor 1 と interleukin-6 の動態. 第 39 回日本小児感染症学会. 横浜. 2007. 11. 9-11

- ⑬ 市山高志. シンポジウム. 臨床免疫からみた SSPE. 第 12 回日本神経感染症学会. 福岡. 2007. 10. 12-13
- ⑭ 市山高志. シンポジウム. 検体検査による発達障害の鑑別診断. 第 42 回日本発達障害学会. 山口. 2007. 8. 4-5
- ⑮ 市山高志. シンポジウム. サイトカインからみたけいれん重積型急性脳症の病態. 第 49 回日本小児神経学会. 大阪. 2007. 7. 5-7
- ⑯ 市山高志. 教育講演. 小児神経疾患とサイトカイン. 第 49 回日本小児神経学会. 大阪. 2007. 7. 5-7
- ⑰ 市山高志, 末永尚子, 梶本まどか, 遠山潤, 伊住浩史, 久保田雅也, 森雅人, 古川漸. 痙攣重積型急性脳症における血清および髄液サイトカイン解析. 第110回日本小児科学会学術集会. 京都. 2007. 4. 20-22

[図書] (計 4 件)

- ① 市山高志, 鮎川浩志. 急性喉頭蓋炎. p21-22. 日経メディカル編. 小児診療のピットフォール. 日経メディカル. 2008
- ② 市山高志. 小児の細菌性髄膜炎. p1042-1043. 山口徹, 北原光夫, 福井次矢編. 今日の治療指針 2008年版-私はこう治療している. 医学書院. 2008
- ③ 市山高志, 古川漸. 単純ヘルペス脳炎における免疫学的知見. p105-109. 庄司紘史, 岩田誠編. ヘルペス脳炎. 中山書店. 2007
- ④ 市山高志. 小児フォローアップ治療. p63-65. 日本神経治療学会, 日本神経学会, 日本神経感染症学会監修. 細菌性髄

膜炎の診療ガイドライン. 医学書院. 2007

[産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

市山 高志 (ICHIYAMA TAKASHI)
山口大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号: 20263767

(2) 研究分担者

長谷川 俊史 (HASEGAWA SHUNJI)
山口大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 90314806

(3) 連携研究者

なし