

機関番号：13101

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20390230

研究課題名（和文）

特発性肺胞蛋白症における免疫変容の体系的研究

研究課題名（英文）

A systematic research on immunomodulation in autoimmune pulmonary alveolar proteinosis.

研究代表者 中田 光（ Nakata Koh ）

新潟大学・医歯学総合病院・教授

研究者番号：80207802

研究成果の概要（和文）：IgG 型の高親和性 GM-CSF 自己抗体が、自己免疫性肺胞蛋白症の原因と考えられる。IgG 型及び IgM 型の抗体濃度は患者で圧倒的に高く存在し、患者及び健常者の IgM 型抗 GM-CSF 自己抗体産生細胞の頻度は、有意差がなかった。しかし、IgG 自己抗体は患者の B 細胞から圧倒的に多く産生される。IgM 型抗体産生 B 細胞から class switch により、IgG 型に分化する過程が患者で亢進することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：High avidity GM-CSF autoantibodies (GMAb) with IgG isotype are now considered to be the etiology for autoimmune pulmonary alveolar proteinosis (aPAP). We detected low concentrations of IgM-GMAb in more than 80% of 71 aPAP patients and 22% of 23 healthy subjects. The frequencies and concentrations of IgM type in culture supernatants were even between aPAP and controls. In contrast, the frequency of IgG-GMAb producing B cells was higher in aPAP than those in controls. The present results suggest that the isotype switch from IgM to IgG is accelerated in patients with aPAP.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	10,600,000	3,180,000	13,780,000
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：呼吸器内科学

キーワード：非閉塞性肺疾患癌、肺線維症、呼吸器感染症、その他

1. 研究開始当初の背景

肺胞蛋白症は、肺胞や終末気管支にサーファクタントの老廃物が貯留し、呼吸不全が進行する希少疾患である。長年原因が不明であったが、申請者は、肺胞蛋白症の患者の肺や血

清中に抗 GM-CSF 自己抗体が高濃度に存在することを発見し(*J. Exp. Med.*1999)、血清診断法を開発した(*Am. J. Respir. Med. Crit. Care Med.*2000, 特許 4372904 号)。GM-CSF やその受容体欠損マウスが肺胞蛋白症を発症するこ

とや、同症の自己抗体の質的量的研究(申請者ら、*BLOOD*,2004)から、自己抗体が肺の GM-CSF 活性を中和し、肺胞マクロファージの分化を障害し、発症に至らしめることを提唱してきた(申請者ら、*New Engl.J.Med.* 2003)。最近、米国のグループがカニクイザルに患者自己抗体を投与し、発症させることに成功し、自己抗体説を裏付けた。抗 GM-CSF 自己抗体は、IgG 製剤や健常血清に微量存在し、生理的に好中球の機能調節に関与している(Uchida,申請者ら、*BLOOD*, 2009)が、ある閾値を越えて過剰に産生されると肺胞蛋白症を発症すると考えられる。その後、抗サイトカイン自己抗体が病因に関係する疾患として、真性赤芽球癆(抗 EPO 抗体)、Felty 症候群(抗 G-CSF 抗体)播種性非定型抗酸菌症(抗 IFN-γ 抗体)が報告されたが、何れにおいても抗体過剰産生の機序は不明である。

2. 研究の目的

患者血液を用いて抗 GM-CSF 自己抗体の産生機序の解明を行う。

2. 研究の目的

患者血液を用いて抗 GM-CSF 自己抗体の産生機序の解明を行う。

3. 研究の方法

in vitro の抗体産生測定方法として ELISA 法、ELISPOT 法を用いた。また memory B 細胞の分離のため、抗体 magnet beads による磁気ソーティングを行った。抗体による中和能の測定にバイオアッセイ法のほか、独自に無細胞系のアッセイ法を開発した。

4. 研究成果

英文学術論文を4報報告した他、無細胞アッセイシステムを特許申請した。また、国際学会の招請講演で3度報告した。今後は、抗 GM-CSF 自己抗体産生の機序として class switch が患者で盛んに起こっていることを分子レベルで証明したい。

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 16 件)

① Ishii H, Tazawa R (10 人略), Nakata K. Clinical features of secondary pulmonary alveolar proteinosis: pre-mortem cases in Japan. *European Respir. J.* 査読有, Vol. 37, No.2, 2011 年, 465-468

② Tanaka T, Motoi N, Tsuchihashi Y, Tazawa R, (8 人略) Nakata K, Morimoto K. Adult-onset hereditary pulmonar

y alveolar proteinosis caused by a single-base deletion in CSF2RB. *J. Med. Genetics*, 査読有, 10 巻, 2010 年, 1136-1141

③ 中田 光 大規模臨床試験の現状と展望 呼吸と循環, 査読有, Vol. 58, No. 12, 2010 年, 1233-1240

④ Sakagami T,(6人略)Nakata K, (5人略), Trapnell BC. GM-CSF Autoantibodies Reproduce Pulmonary Alveolar Proteinosis in Non-human Primates. *Am J Respir Crit Care Med.* 査読有, 182(1)巻, 2010 年, 49-61

⑤ 中田 光, 田澤 立之 稀少疾患をどう克服するか?—国際コンソーシアムの試み—*THE LUNG perspectives* 別冊, 査読有, Vol. 1.18, No.2, 2010 年, 129-132

⑥ Tazawa R, Trapnell BC, (23人略), Nakata K(corresponding author). Inhaled Granulocyte/Macrophage-Colony Stimulating Factor as Therapy of Pulmonary Alveolar Proteinosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 査読有, 181(12)巻, 2010 年, 1345-54

⑦ 田澤 立之, 中田 光 XI. 肺胞蛋白症 GM-CSF 製剤 日本内科学会雑誌, 査読有, 99(7)巻, 1623-1627

⑧ 田澤 立之, 中田 光 呼吸器疾患感受性 — 遺伝的背景 — 肺胞蛋白症 日本胸部臨床, 査読有, 69(8)巻, 2010 年, 735-740

⑨ Urano S, (8 人略), Nakata K(corresponding author). A cell free assay to estimate the neutralizing capacity of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor autoantibodies. *J Immunol. Methods.* 査読有, 360(1-2)巻, 2010 年, 141-8

⑩ Watanabe M, Uchida K, Nakagaki K, Trapnell BC, Nakata K. High avidity

cytokine autoantibodies in health and disease: Pathogenesis and Mechanisms. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 査読有, Volume 21, Issue 4, 2010年, 263-273

⑪ Costabel U, Nakata K. Pulmonary alveolar proteinosis associated with dust inhalation: not secondary but autoimmune? *Am J Respir Crit Care Med*. 査読有, 2010年, 180巻, 427-8

⑫ Ishii H, Trapnell BC, Tazawa R, Inoue Y, Akira M, Kogure Y, Tomii K, Takada T, Hojo M, Ichihata T, Goto H, Nakata K. Comparative Study of High-Resolution CT Findings Between Autoimmune and Secondary Pulmonary Alveolar Proteinosis. *Chest*. 査読有, 136巻, 2009年, 1348-55

⑬ Hata M, Takahara S, Tsuzaki H, Ishii Y, Nakata K, Akagawa KS, Satoh K. Expression of Th2-skewed pathology mediators in monocyte-derived type 2 of dendritic cells (DC2). *Immunol Lett*. 査読有, 126巻, 2009年, 29-36

⑭ Uchiyama M, Nagao T, Hattori A, Fujii T, Ichihata T, Nakata K, Tani K, Hayashi T. Pulmonary alveolar proteinosis in a patient with Behcet's disease. *Respirology*. 査読有, 14巻, 2009年, 305-308

⑮ Uchida K, Nakata K, Suzuki T, Luisetti M, Watanabe M, Koch DE, Stevens CA, Beck DC, Denson LA, Carey BC, Keicho N, Krischer JP, Yamada Y, Trapnell BC. Granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor autoantibodies and myeloid cell immune functions in healthy subjects. *Blood*. 査読有, 113巻, 2008, 2547-2556

⑯ Yamamoto H, Yamaguchi E, Agata H, Kandatsu N, Komatsu T, Kawai S, Baba K, Awaya T, Nishikomori R, Tsurusawa M, Nakata K. A combination ther

apy of whole lung lavage and GM-CSF inhalation in pulmonary alveolar proteinosis. *Pediatric Pneumocology*, 査読有, 43巻, 2008年, 828-830

[学会発表] (計 8 件)

① Koh Nakata. Pulmonary alveolar proteinosis: Historical Perspective. 3rd International Congress. Progress in Respiratory Medicine. 2011年3月31日, Cascina Scova (Italy)

② 中田 光 肺胞蛋白症: 発症メカニズムと GM-CSF 吸入療法 ヒューマンサイエンス総合研究セミナー 2010年11月17日, 全社協・灘尾ホール (東京都)

③ 中田 光 肺胞マクロファージが教えてくれた呼吸器病研究のおもしろさ・すばらしさ 第104回呼吸器疾患懇話会 2010年10月27日, 京葉銀行文化プラザ (千葉県)

④ 中田 光 肺胞蛋白症では何故抗 GM-CSF 自己抗体が過剰に産生されるのか? 日本リンパ網内系学会 2010年6月18日, 朱鷺メッセ 新潟コンベンションセンター (新潟県)

⑤ Nei T, Urano S, Kaneko C, Motoi N, Takizawa J, Tazawa R, Nakagaki K, Akagawa K, Trapnell BC, Nakata K. Mechanisms for Excessive Production of GM-CSF Autoantibody in Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis. American Thoracic Society International Conference. 2010年5月17日, New Orleans Morial Convention Center (U.S.A.)

⑥ 根井貴仁、金子千夏、浦野真也、元井奈都紀、田澤立之、中田光 自己免疫性肺胞蛋白症における抗GM-CSF抗体産生機序 第50回日本呼吸器学会学術講演会 2010年4月24日, 国立京都国際会館 (京都府)

⑦ 根井貴仁、三須莉恵、金子千夏、浦野真也、元井奈都紀、田澤立之、中田光

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 肺胞蛋白症の難治化要因の解明と診断、治療、管理の標準化と指針の確立に関する研究班 第2回班会議 2010年1月9日, 千里ライフサイエンスセンタービル (大阪府)

⑧ Nakata K, Kanazawa H, Nei T. T AND B LYMPHOCYTE SUBSETS ARE ACTIVATED IN THE PERIPHERAL BLOOD FROM PATIENTS WITH AUTOIMMUNE PULMONARY ALVEOLAR PROTEINOSIS. American Thoracic Society International Conference. 2008年5月17日, Metro Toronto Convention Center (Canada)

〔図書〕(計 5 件)

① 垣下榮三, (34人略) 中田 光, (72人略) 吉矢和久. 南江堂 疾病と治療 I 2010年, 366 (96)

② Trapnell BC, Nakata K, Kavuru M. ELSEVIER Textbook of Respiratory Medicine. 2010年, 2400 (1516-36)

③ 安保徹, (18人略) 中田 光, (5人略) 渡辺雅人. 医学書院 病態のしくみがわかる免疫学 2010年, 296 (176-178)

④ 藤田次郎, 久保恵嗣, (69人略) 中田光, (3人略) 岸本卓巳. 南江堂 間質性肺疾患 診療マニュアル 2010年, 344(309-311)

⑤ 中田 光 他. 医学書院 新臨床内科学 第9版 2008年, 1920 (55-58)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: 抗 GM-CSF 自己抗体及びその測定試薬

発明者: 中田 光 富田正浩

権利者: 新潟大学、ネオシルク

種類: 試薬

番号: 000012DP 特願2009-119320 (Proof)

出願年月日: 平成 21 年 5 月 15 日 【国際特許分類】 C 0 7 K 1 6 / 2 4

国内外の別: 国際

○取得状況 (計 1 件)

名称: 抗 GM-CSF 自己抗体及びその測定試薬

発明者: 中田 光

権利者: 中田 光

種類: 試薬

番号: 特許第 4 3 7 2 9 0 4 号

取得年月日: 平成 2 1 年 9 月 1 1 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pap-guide.jp/index.html>

<http://www.jove.com/index/Details.stp?ID=2742>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中田 光 (Nakata Koh)

新潟大学・医歯学総合病院・教授

研究者番号: 8 0 2 0 7 8 0 2

(2) 研究分担者

田澤 立之 (Tazawa Ryushi)

新潟大学・医歯学総合病院・講師

研究者番号: 7 0 3 0 1 0 4 1

瀧澤 淳 (Takizawa Jun)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号: 7 0 4 6 3 9 9 0