

機関番号：32643

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590934

研究課題名（和文） 気道ウイルス感染に対するマスト細胞の生体防衛的役割の解明

研究課題名（英文） The host defensive role of mast cells against airway viral infection.

研究代表者

長瀬 洋之 (NAGASE HIROYUKI)

帝京大学・医学部・准教授

研究者番号：40365945

研究成果の概要（和文）：

白血球の一分画であるマスト細胞は、アレルギー疾患の病態に深く関与している。生体内でのマスト細胞の新たな役割として、細菌感染防御への関与が示されているが、ウイルス感染における役割は不明な点が多かった。ウイルス類似成分 (poly I:C) をマウスに点鼻投与すると、肺に炎症が生ずるが、マスト細胞欠損マウスでは炎症が減弱しており、肺での炎症起因物質の濃度も低下していたが、マスト細胞を移入すると炎症は回復した。このことから、マスト細胞は気道ウイルス防御に寄与している可能性が示唆され、この知見は、喘息などのアレルギー疾患がウイルス感染で悪化する機序の解明にもつながるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：

Mast cells have long been postulated to have a central role in the pathogenesis of allergic disease. In addition, it has been recently reported that mast cells also have a host defensive role against bacterial infection. But the role of mast cells against virus infection has not been clarified. The aim of the present study is to investigate the role of mast cells in host defense against viral infection.

We intranasally inoculated poly I:C, which is an analogue compound of virus double-stranded RNA, into wild type or mast cell deficient W/W^v mice.

Poly I:C induced lung inflammation in wild type mice, but the inflammation was diminished in mast cell deficient mice, and intravenous transfer of mast cells into mast cell deficient mice restored the inflammation. In addition, the local concentration of various chemokines and cytokines decreased in mast cell deficient mice. From those results, it was suggested that mast cells have a host-defensive role against viral infection via up-regulation of local cytokine and chemokine generation. This finding might contribute to clarify the mechanism of virus-induced exacerbation of allergic diseases including asthma.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：マスト細胞、ウイルス、二重鎖 RNA、気道感染、気管支喘息

1. 研究開始当初の背景

マスト細胞は、アレルギー疾患の病態に深く関与していることは、古くから知られている。一方、マスト細胞の正常個体における機能については不明な点が多かったが、近日、マスト細胞が細菌感染防御に関与していることが示されている。一方、ウイルス感染防御における役割は不明な点が多かった。本研究では、気道ウイルス感染に対するマスト細胞の関与を明らかにすることを目的とした。

2. 研究の目的

ウイルス二重鎖RNAのアナログであるpoly I:Cを、野生型マウス (+/+)とマスト細胞欠損マウス (W/W^V)に気道内投与し、気道炎症の差異を検討することで、マスト細胞のウイルス防御への関与を明らかにすることを目的とした。

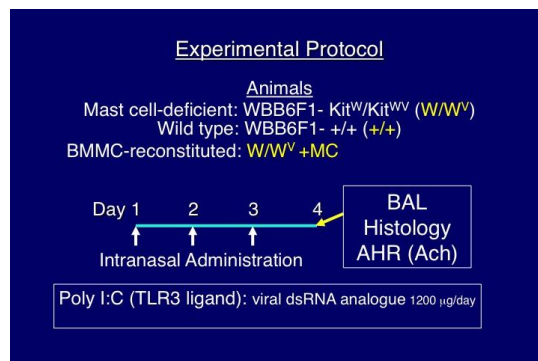
また、その機序の一端を明らかにする目的で、BALF中のサイトカイン・ケモカイン濃度を網羅的に検討した。

3. 研究の方法 (図1)

野生型マウス (+/+)とマスト細胞欠損マウス (W/W^V)に、ウイルス二重鎖 RNA のアナログである poly I:C を 3 日間点鼻後、4 日目に解析した。また、W/W^V への+/+骨髄由来培養マスト細胞の移入実験も行った。また、細菌菌体成分として、グラム陽性球菌リポペプチドのアナログである TLR2 リガンド、Pam₃CSK₄ を気道内に投与して、気道炎症を比較した。

評価項目は、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の細胞成分、サイトカイン・ケモカイン等の液性因子濃度、気道過敏性とした。気管支肺胞洗浄は、留置針より生理食塩水を注入・回収した。気道過敏性は、拘束型呼吸機能解析装置を用いて、アセチルコリン (Ach) 吸入後の気道抵抗を測定した。液性因子は、Luminex システムを用いて、23 種を網羅的に解析した。

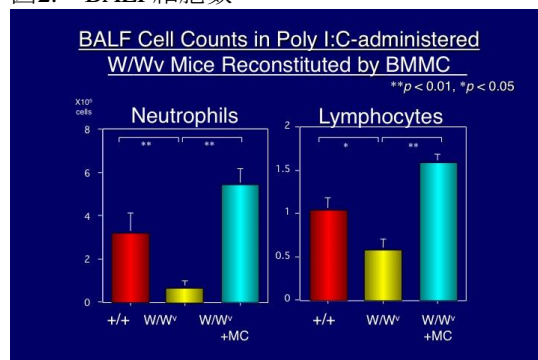
図1. 実験プロトコル



4. 研究成果

[結果] +/+へのpoly I:C点鼻で、BALFリンパ球・好中球数が有意に増加し、炎症細胞浸潤を認めた。W/W^Vでは、BALF細胞数が有意に少なかったが、マスト細胞移入により回復した (図2)。組織学的にも、同様の傾向が認められた (図3)。

図2. BALF細胞数



また、複数のBALF中液性因子が、+/+に対するpoly I:C投与で増加していた。BALF中ケモカイン (MCP-1, RANTES, KC, MIP-2, MIP-1β), サイトカイン (G-CSF, M-CSF, IL-6) 濃度は、+/+で上昇していたが、W/W^Vでは有意に低値であった。また、これらの濃度はマスト細胞の移入で回復した (図4)。

気道過敏性については、いずれの群間でも有意差は認められなかった。

+/+へのPam₃CSK₄点鼻でも、W/W^VではBALF細胞数が有意に低値であった。

図3. 組織学的検討

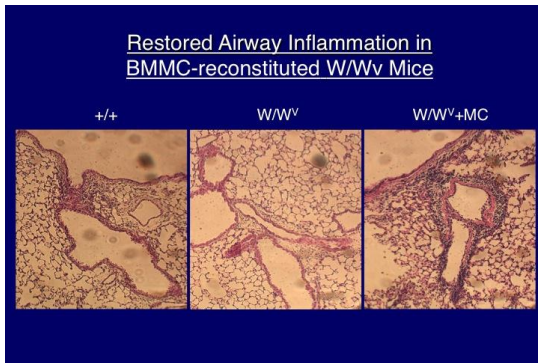
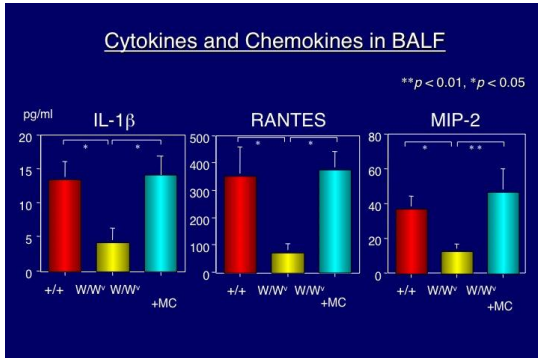


図 4. BALF 中液性因子の検討



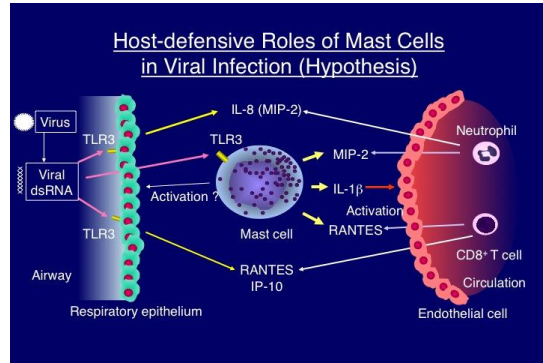
[結論] マスト細胞欠損マウスでは、ウイルス二重鎖 RNA による気道炎症は減弱し、BALF 中のケモカイン・サイトカイン濃度も低値であったが、これらはマスト細胞移入で回復した。

ウイルス二重鎖 RNA 成分に対し、マスト細胞は、リンパ球および好中球指向性の複数のケモカインや、好中球生存延長に關与するサイトカイン産生に關与し、気道におけるウイルス感染防御的な炎症形成に寄与している可能性が示唆された (図 5)。また、グラム陽性球菌に対する気道炎症惹起にもマスト細胞が關与している可能性が示唆された。

[展望] 今後の課題としては、ウイルス二重鎖 RNA の受容体については、TLR3 の他に MDA-5, RIG-1 といった新規細胞内受容体も同定されてきており、マスト細胞のウイルス認識に關与する受容体を明らかにする必要がある。また、気管支喘息をはじめとするアレルギー疾患の増悪の原因の 80% は、ウイルス感染とされている。この増悪には、アレルギー性炎症を形成しているマスト細胞のウイルスによる活性化が關与している可能性が想定される。さらなる機序の検討が新規治療戦略の開発につながる可能性があり、今後の検討課題である。

図 5. マスト細胞のウイルス防御に關する役

割の仮説



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

1. Suzukawa M, Nagase H, Ogahara I, Han K, Tashimo H, Shibui A, Koketsu R, Nakae S, Yamaguchi M, Ohta K. Leptin enhances survival and induces migration, degranulation, and cytokine synthesis of human basophils. *J Immunol*, 査読有, 186 (9), 5254-5260, 2011
2. Matsunaga K, Hirano T, Kawayama T, Tsuburai T, Nagase H, Aizawa H, Akiyama K, Ohta K, Ichinose M. Reference ranges for exhaled nitric oxide fraction in healthy Japanese adult population. *Allergol Int*, 査読有, 59(4), 363-367, 2010
3. Ohta S, Oda N, Yokoe T, Tanaka A, Yamamoto Y, Watanabe Y, Minoguchi K, Ohnishi T, Hirose T, Nagase H, Ohta K, Adachi M. Effect of tiotropium bromide on airway inflammation and remodelling in a mouse model of asthma. *Clin Exp Allergy*, 査読有, 40(8), 1266-1275, 2010
4. Yamamura K, Adachi T, Masuda T, Kojima Y, Hara A, Toda T, Nagase H, Ohta K. Intracellular protein phosphorylation in eosinophils and the functional relevance in cytokine production. *Int Arch Allergy Immunol*, 査読有, 149(S1), 45-50, 2009
5. 原 麻恵, 長瀬洋之, 林 秀敏, 倉持美知雄, 石田博文, 足立哲也, 鈴木直仁, 大田 健. アレルギー性気管支肺アスペルギルス症に続発した肺膿瘍が穿破し膿胸気管支瘻を呈した 1 例. *日本呼吸器学会雑誌*. 査読有. 47, 432-437, 2009
6. 長瀬洋之, 大田 健. 気管支喘息のモニタリングをめぐって 呼気ガス. *臨床免疫・アレルギー科*. 査読無. 52, 194-198,

7. Suzukawa M, Iikura M, Koketsu R, Nagase H, Tamura C, Komiya A, Nakae S, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Yamaguchi M. An IL-1 cytokine member, IL-33, induces human basophil activation via its ST2 receptor. *J Immunol*, 査読有, 181, 5981-5989, 2008

[学会発表] (計 13 件)

1. H Nagase, T Toda, A Kamiyama, Y Nakase, N Sugimoto, H Yoshihara, M Kuramochi, H Tashimo, H Arai, M Yamaguchi, N Suzuki, K Ohta. Usefulness of measuring the level of fractional exhaled nitric oxide (FeNO) in various respiratory diseases. 2011 American Academy of Allergy Asthma & Immunol Annual Meeting (AAAAI) 2011年3月11日, San Francisco, USA
2. 長瀬洋之, 戸田貴子, 杉本直也, 中瀬裕子, 神山麻恵, 吉原久直, 倉持美知雄, 田下浩之, 新井秀宜, 山口正雄, 鈴木直仁, 大田健. 喘息管理・コントロール状態の評価 JGL2009、GINA、EPR3、喘息コントロールテスト(ACT)における喘息コントロール評価の比較. 第60回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2010年11月27日, 東京
3. 戸田貴子, 長瀬洋之, 神山麻恵, 中瀬裕子, 杉本直也, 鈴木真穂, 吉原久直, 倉持美知雄, 田下浩之, 新井秀宜, 中野純一, 山口正雄, 鈴木直仁, 大田健. 非喘息性呼吸器疾患における呼気一酸化窒素濃度(FeNO)測定の意義. 第60回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2010年11月27日, 東京
4. 長瀬洋之, 古賀一郎, 太田康男, 大田健. 新型インフルエンザと喘息について多面的に考える 成人領域における新型インフルエンザの臨床, 第60回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2010年11月27日, 東京
5. 戸田貴子, 長瀬洋之, 原麻恵, 小河原郁子, 鈴木真穂, 小島康弘, 倉持美知雄, 田下浩之, 新井秀宜, 山口正雄, 鈴木直仁, 大田健. 呼気一酸化窒素濃度(FeNO)の疾患特異性の検証. 第50回日本呼吸器学会学術講演会, 2010年4月23日, 京都
6. 原麻恵, 長瀬洋之, 鈴木真穂, 小河原郁子, 戸田貴子, 小島康弘, 倉持美知雄, 田下浩之, 新井秀宜, 山口正雄, 鈴木直仁, 大田健. シリカによる慢性肺線維化モデル確立のための長期検討. 第50回日本呼吸器

7. 戸田貴子, 長瀬洋之, 鈴木真穂, 原麻恵, 小島康弘, 倉持美知雄, 田下浩之, 新井秀宜, 山口正雄, 大田健. Th17系サイトカインが好酸球からのサイトカイン放出に及ぼす影響. 第59回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2009年10月30日, 秋田市
8. 長瀬洋之, 鈴木澤尚実, 原麻恵, 松井永子, 近藤直実, 秋山一男, 大田健. 遺伝子多型と吸入ステロイド(ICS)反応性との関連. 第59回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2009年10月29日, 秋田市
9. 長瀬洋之, 大田健. シンポジウム4 ウイルス・細菌・真菌とアレルギー. S4-5 Innate Immunityとアレルギー. 第59回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2009年10月31日, 秋田市
10. Nagase H, Hirai K, Yamaguchi M, Ohta K. International Symposium Session 3 Activation and signaling in inflammatory cells: Expression and Function of Toll-like Receptors in Allergic Inflammatory Cells. 第59回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2009年10月31日, 秋田市
11. Hara A, Nagase H, Kojima Y, Suzukawa M, Kuramochi M, Ishida H, Adachi T, Suzuki N, Ohta K. The relationships between the levels of cytokines and chemokines in exhaled breath condensate and the control status of asthma. 2009 American Academy of Allergy Asthma & Immunol Annual Meeting (AAAAI), 2009年3月, Washington DC, USA
12. Nagase H, Takano H, Inoue K, Hara A, Kojima Y, Suzukawa M, Kuramochi M, Ishida H, Adachi T, Suzuki N, Ohta K. The Effect of Diesel Exhaust Particles on Pathogen-associated Molecular Patterns-induced Cytokine Generation from Bronchial Epithelial Cells. 2009 American Academy of Allergy Asthma & Immunol Annual Meeting (AAAAI), 2009年3月, Washington DC, USA
13. 小島康弘, 長瀬洋之, 原麻恵, 矢野智湖, 鈴木真穂, 石田博文, 中野純一, 足立哲也, 鈴木直仁, 大田健. 喘息患者におけるピーズアレイシステムを用いた呼気凝縮液の検討. 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2008年6月13日, 東京

〔図書〕（計1件）

1. 長瀬洋之, 大田 健 Annual Review 呼吸器 2008 IGF-1 と呼吸器疾患 40-43. 2008, 中外医学社, 総ページ数 277

6. 研究組織

(1)研究代表者

長瀬 洋之 (NAGASE HIROYUKI)

帝京大学・医学部・准教授

研究者番号：40365945

(2)研究分担者

大田 健 (OHTA KEN)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号：30160500

(3)連携研究者 なし