

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612  
 研究種目：基盤研究(C)  
 研究期間：2009～2011  
 課題番号：21590971  
 研究課題名（和文） 難治性炎症性肺疾患の病態における PGD2/CRTH2 経路を介した免疫制御機構  
 研究課題名（英文） Immunomodulatory role of PGD2/CRTH2 pathway in the pathophysiology of refractory lung diseases  
 研究代表者  
 浅野 浩一郎（ASANO KOICHIRO）  
 慶應義塾大学・医学部・准教授  
 研究者番号：60192944

## 研究成果の概要（和文）：

プロスタグランジン D2 (PGD2) の受容体 CRTH2 は好酸球や Th2 リンパ球に発現していることが知られており、以前の研究において我々は喘息急性増悪の病態においても重要な意義を持つことを報告した。今回の研究では、CRTH2 はガンマデルタ T 細胞や好中球などに対する免疫調節作用を持っていること、これらの細胞を介して喘息や肺線維症、敗血症の病態を修飾することを明らかにした。

## 研究成果の概要（英文）：

Previous studies by us and other researchers have clarified the role of PGD2 receptor, CRTH2, on allergic diseases including asthma by the activities on eosinophils and Th2 lymphocytes. In the present study, we have demonstrated that PGD2/CRTH2 pathway plays an essential role in the pathophysiology of chronic asthma, pulmonary fibrosis, and sepsis by modulating gamma delta T cells and neutrophils.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

## 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：気管支喘息、肺線維症、敗血症

## 1. 研究開始当初の背景

平成 19-20 年度の研究課題「難治性炎症性肺疾患の病態形成におけるプロスタグランジン D2 とその受容体の関与」により、われわれは PGD2/CRTH2 経路が気道感染に伴う喘息の増悪と肺線維症の病態を修飾していることを明らかにした。

まず、2 本鎖 RNA による自然免疫系活性化は、喘息気道において PGD2/CRTH2 経路を介して好酸球性気道炎症と気道過敏性の増悪をもたらすことを報告した。これは好酸球上の

CRTH2 受容体に PGD2 が作用することによって生じる現象と考えられる。

一方、PGD2/CRTH2 経路が遮断されると肺線維症モデルにおいて炎症が遷延し、結果的に線維化が促進されることも見出した。これは何らかの炎症抑制性分子あるいは細胞の機能調節に PGD2/CRTH2 経路が重要な役割を果たしていることを示唆しているが、その本態は不明のままであった。

本研究は以上のように平成 19-20 年度の研究課題をさらに発展させ、炎症性肺疾患の

病態において重要な「PGD2/CRTH2 経路による気道の免疫制御機構」を明らかにしようとする試みである。

## 2. 研究の目的

喘息、肺線維症、敗血症などの炎症性肺疾患における、PGD2 受容体 CRTH2 を介した免疫制御機構の本態を解明する。

## 3. 研究の方法

6 週齢の雄性 CRTH2 ノックアウトマウス (Balb/c) 及び野生型マウスを下記の 3 つの実験モデルに用いた。

### 1) 喘息リモデリングモデル

卵白アルブミンを抗原としてアラムとともに腹腔内感作した後、6 週間にわたって OVA 吸入曝露を行った。

### 2) 肺線維症モデル

プレオマイシン (5-10 mg/kg) を気道内注入し、21 日後に線維化を評価する系を用いた。

### 3) 敗血症モデル

盲腸結紮・穿孔により、腹膜炎モデルを作成した。

それぞれの系において、体重、生存率、肺機能、気管支肺胞洗浄 (BAL) 液および組織所見、肺総蛋白量、肺コラーゲン量などについて評価した。

## 4. 研究成果

### 1) 喘息リモデリングに及ぼす影響

急性曝露モデルにおいて CRTH2 の欠損は気道炎症には影響を及ぼさなかったが (図 1 a, c)、6 週間の慢性抗原曝露モデルでは CRTH2 欠損により有意な気道炎症の減弱が観察された (図 1 b, d)。

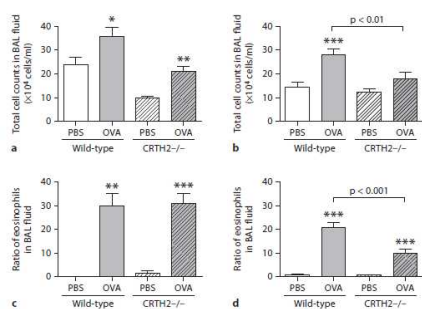


図 1 急性・慢性喘息モデルにおける CRTH2 と好酸球性気道炎症との関係

気管支肺胞洗浄液中の Th2 サイトカイン濃度は急性モデルでは CRTH2 ノックアウトマウスでかえって上昇していたが、この現象は慢性モデルでは認められなかった。気道過敏性や気道上皮杯細胞化生については、急性・慢性モデルとも、野生型マウスと CRTH2 ノック

アウトマウスとの間に違いは観察されなかった。

以上のことから、急性モデルにおける CRTH2 は好酸球への直接作用を介した炎症促進作用と何らかのシグナルを介した炎症抑制作用に關与するが、慢性モデルではその抑制シグナルは病態に關与しないことが示唆された。

### 2) ガンマデルタ T 細胞を介した肺線維症病態の修飾

CRTH2 ノックアウトマウスではプレオマイシンによる肺の炎症と線維化が亢進していることを報告していたが、CRTH2 ノックアウトマウスに野生型マウスの脾細胞を移入するとこの炎症・線維化が軽減することが明らかとなった (図 2)。

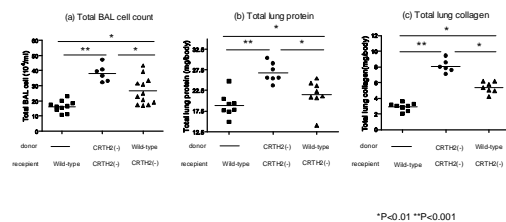


図 2 プレオマイシン肺臓炎モデルにおける脾細胞移入の作用

CRTH2 ノックアウトマウスにプレオマイシンを投与すると気管支肺胞洗浄液中の細胞数 (a)、肺蛋白量 (b)、肺コラーゲン量 (c) が増加するが、これに野生型マウス由来の脾細胞を移入すると上記反応が減弱する。

その後の検討により、これが脾細胞中に存在し、CRTH2 を発現しているガンマデルタ T 細胞依存性であることを見いだした。

ガンマデルタ T 細胞が肺の線維化に抑制的に作用していることは最近、いくつかの報告があるが、今回の検討によりそれが CRTH2 経路を介していることが明らかとなった。

### 3) 好中球を介した敗血症の病態修飾

CRTH2 ノックアウトマウスでは腹膜炎・敗血症モデルにおける生存率が高まるが、驚いたことにこれは好中球の集積増加を伴っていた。さらに好中球遊走性ケモカインに対する受容体 CXCR2 の発現が好中球上で増加していた (図 3)。

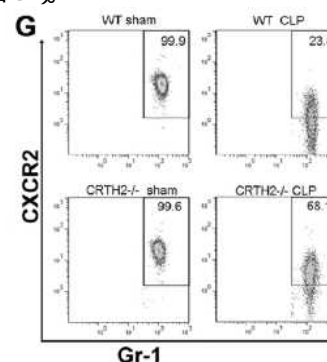


図3 腹膜炎モデルにおける CRTH2 と好中球上 CXCR2 発現  
盲腸結紮・穿刺 (CLP) を行うと好中球 (Gr-1 陽性細胞) 上の CXCR2 発現が低下するが、CRTH2 ノックアウトマウスではその低下が軽度である。

CXCR2 を阻害すると CRTH2 ノックアウトマウスにおける生存延長効果は消失した。  
さらに、CXCR2 発現がヒストン H3 のアセチル化によってエピジェネティックに制御されていることを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計6件)

1. M. Ishii, K. Asano, H. Namkoong, S. Tasaka, K. Mizoguchi, T. Asami, H. Kamata, Y. Kimizuka, H. Fujiwara, Y. Funatsu, S. Kagawa, J. Miyata, K. Ishii, M. Nakamura, H. Hirai, K. Nagata, S. L. Kunkel, N. Hasegawa, and T. Betsuyaku. CRTH2 Is A Critical Regulator of Neutrophil Migration and Resistance to Polymicrobial Sepsis. **J Immunol** (in press)2012 (査読有)
2. S. Kagawa, K. Fukunaga, Y. Shiraishi, T. Oguma, Y. Suzuki, T. Shiomi, K. Sayama, N. Kimura, H. Hirai, K. Nagata, M. Nakamura, K. Asano. Role of prostaglandin D2 receptor, CRTH2, in sustained eosinophil accumulation in the airways of mice with chronic asthma. **Int Arch Allergy Immunol** 155 Suppl1: 6-11, 2011 (査読有)
3. T. Oguma, K. Asano, K. Tomomatsu, M. Kodama, K. Fukunaga, T. Shiomi, N. Ohmori, S. Ueda, T. Takihara, Y. Shiraishi, K. Sayama, S. Kagawa, Y. Natori, C. M. Lilly, K. Satoh, K. Makimura, and A. Ishizaka. Induction of mucin and MUC5AC expression by the protease activity of *Aspergillus fumigatus* in airway epithelial cells. **J Immunol** 187(2):999-1005, 2011 (査読有)
4. 宮田純、福永興壺、浅野浩一郎 「脂質メディエーター最前線」 抗炎症性脂質メディエーター  
**喘息** 24 (2), 164-171, 2011 (査読無)
5. 浅野浩一郎 「アレルギー疾患と脂質メディエーター」 プロスタグランジン D2 と受容体

臨床免疫・アレルギー科 54(1)、44-50、2010 (査読無)

6. S. Tokudome, M. Sano, K. Shinmura, T. Matsuhashi, S. Morizane, H. Moriyama, K. Tamaki, K. Hayashida, H. Nakanishi, N. Yoshikawa, N. Shimizu, J. Endo, T. Katayama, M. Murata, S. Yuwasa, R. Kaneda, K. Tomita, N. Eguchi, Y. Urade, K. Asano, Y. Utsunomiya, T. Suzuki, R. Taguchi, H. Tanaka, and K. Fukuda. Glucocorticoid protects rodent hearts from ischemia/reperfusion injury by activating lipocalin-type prostaglandin D synthase-derived PGD2 biosynthesis. **J Clin Invest** 119: 1477-1488, 2009 (査読有)

[学会発表] (計12件)

1. K. Asano, S. Ueda, M. Ishii, Y. Suzuki, K. Fukunaga, T. Oguma, M. Nakamura, K. Nagata, H. Hirai. Prostaglandin D2 receptor, CRTH2, is critical for gamma-delta T cell-mediated suppression of pulmonary inflammation/fibrosis induced by bleomycin. 12th International Conference on Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases, Seattle, USA, 2011. 9. 20.
2. K. Asano, S. Ueda, M. Ishii, Y. Suzuki, K. Fukunaga, T. Oguma, M. Nakamura, K. Nagata, H. Hirai. Prostaglandin D<sub>2</sub> receptor, CRTH2, is critical for gamma-delta T cell-mediated suppression of pulmonary inflammation/fibrosis induced by bleomycin. ATS 2011 International Conference, Denver, USA, 2011. 5. 18.
3. M. Ishii, N. Hasegawa, K. Mizoguchi, H. Namkoong, S. Kagawa, M. Nakamura, H. Hirai, K. Nagata, S. Tasaka, K. Asano. Critical Roles of prostaglandin D<sub>2</sub> receptor CRTH2 in a mice model of polymicrobial sepsis. ATS 2011 International Conference, Denver, USA, 2011. 5. 17.
4. M. Ishii, N. Hasegawa, H. Namkoong, S. Kagawa, M. Nakamura, H. Hirai, K. Nagata, S. Tasaka, K. Asano. Prostaglandin D<sub>2</sub> receptor CRTH2 is a critical regulator in a mice model of polymicrobial sepsis 第51回日本呼吸器学会学術講演会 東京, 2011. 4. 22.
5. 上田壮一郎, 浅野浩一郎, 加川志津子, 田中希布人, 滝原崇久, 福永興壺, 小熊剛,

佐山宏一 PGD2受容体CRTH2を介する肺臓炎・線維化抑制の分子機序 第51回日本呼吸器学会学術講演会 東京, 2011. 4.22.

6. 加川志津子、浅野浩一郎、福永興壺、樹神元博、小川里佳、友松克允、小倉裕美、宮田 純、田中希宇人、上石修史、加畑宏樹、塩見哲也、小熊剛、佐山宏一 慢性喘息モデルにおけるプロスタグランジンD<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) 受容体CRTH2の意義 第60回日本アレルギー学会総会, 東京, 2010. 11.25
7. 加川志津子、浅野浩一郎、白石良樹、福永興壺、樹神元博、大森奈緒、友松克允、小倉裕美、宮田 純、田中希宇人、上石修史、塩見哲也、小熊剛、佐山宏一 抗原反復暴露による慢性好酸球性気道炎症におけるプロスタグランジンD<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) 受容体CRTH2の意義 アレルギー好酸球研究会2010, 東京, 2010. 6.19.
8. 石井誠、長谷川直樹、田坂定智、浅野浩一郎 敗血症におけるプロスタグランジンD<sub>2</sub>とその受容体CRTH2の役割に関する検討 第25回日本ショック学会総会, 東京, 2010. 5.29.
9. 浅野浩一郎、上田壮一郎、白石良樹、加川志津子、福永興壺、石坂彰敏 ワークショップ「アレルギー疾患と脂質メディエーター -最近の知見-」 プロスタグランジン D<sub>2</sub>と受容体 第59回日本アレルギー学会秋期学術大会 秋田, 2009. 10.31
10. 上田壮一郎、浅野浩一郎、加川志津子、田中希宇人、滝原崇久、福永興壺、小熊剛、佐山宏一、石坂彰敏 プロスタグランジンD<sub>2</sub>受容体CRTH2を介したプレオマイシン肺臓炎の炎症制御機構 第12回間質性肺炎分子病態研究会, 東京, 2009. 8.22.
11. 上田壮一郎、浅野浩一郎、白石良樹、加川志津子、滝原崇久、中島剛、福永興壺、小熊剛、佐山宏一、石坂彰敏 プロスタグランジンD<sub>2</sub>受容体CRTH2を介したプレオマイシン肺臓炎の病態修飾 第49回日本呼吸器学会総会, 東京, 2009. 6.12.
12. K Asano. Role of PGD2 and its receptors in respiratory diseases. 4<sup>th</sup> International Conference on Phospholipase A2 and Lipid Mediators. Tokyo, Japan, 2009.5.26.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕  
特になし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

浅野 浩一郎 (ASANO KOICHIRO)  
慶應義塾大学・医学部・准教授  
研究者番号: 60192944

### (2)研究分担者

福永 興壺 (FUKUNAGA KOICHI)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号: 60327517

小熊 剛 (OGUMA TSUYOSHI)  
慶應義塾大学・医学部・講師  
研究者番号: 20255441

### (3)連携研究者

なし