

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 4 月 24 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590977

研究課題名（和文） 喘息死、COPD 及びマウスモデルにおける炎症細胞とサイトカインに関する研究

研究課題名（英文） Study for roles of inflammatory cells and cytokines in asthma death, COPD and mouse pulmonary disease models

研究代表者 星野友昭（HOSHINO TOMOAKI）

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：00261066

研究成果の概要（和文）：

我々は喘息死患者、軽症喘息、非喫煙者の摘出肺を用いて末梢気道の CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞を含むリンパ球、好酸球、好中球、好塩基球の検討を病理学的に行った。昭和 48 年以降に久留米大学病院及びその関連病院で病理解剖を行った 12 人の喘息死患者の肺病理組織を用いた。以下結果である。

- 1) 喘息死患者の年齢は 5 から 79 才で平均は 44.4 ± 7.4 才であった。興味深いことに 12 名中 5 名が 24 時間以内に死亡していた。
- 2) 12 名すべての喘息死患者で気道への著明な炎症細胞浸潤がみられ、中枢気道だけでなく末梢気道にも平滑筋の肥大、分泌腺過形成を伴った著明な気道リモデリング、粘液栓による気道の閉塞を認めた。一方、軽症喘息患者及び非喫煙者では気道のリモデリングはほとんど認めなかった。興味深いことに細気管支における著明な気道リモデリング、粘液栓による気道の閉塞といった病理像は重症 COPD 患者の末梢気道における病理像と極めて類似していた。
- 3) 喘息死患者の気道では非喫煙者に比べ好酸球、リンパ球が有意に著明に増加していた。一方、喘息死患者の肺病変部の好中球はコントロール肺より有意に増えていたが、軽症喘息の肺と比べ有意な増加は認めなかった。
- 4) 喘息死患者の気道では、CD4 陽性 T 細胞は軽症喘息と同等に非喫煙者より増加していた。一方 CD8 陽性 T 細胞は軽症喘息と非喫煙者に比べ著明に増加していた。
- 5) 喘息死患者の肺病変部では著明に炎症性サイトカインが発現していた。
- 6) COPD 患者の血清ではキチナーゼが高く、気腫化とキチナーゼは関係していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Background: Eosinophils, CD4+ T cells, and Th2 cytokines are thought to contribute to the development of asthma. Recently, a paper reported that pro-inflammatory IL-18 gene polymorphism was significantly associated with the disease severity of bronchial asthma. However, the detail of airway inflammation process in the lungs of nonsmoker asthma death has not reported.

Method: We obtained lung tissues from 12 nonsmokers who died of asthma at autopsy. They died from 1973 to 1998. Lung tissues were also obtained from 5 well-controlled mild asthma patients and 10 nonsmokers who underwent lung cancer extirpation. We examined pulmonary inflammatory cells, and also evaluated the expression of IL-18 and its receptor in the lungs.

Result: The numbers of eosinophils and lymphocytes, but not basophils, nor macrophages were significantly and greatly increased in the lungs when compared with mild asthmatics and nonsmokers. Interestingly, neutrophils were not

significantly different when comparing fatal and mild asthmas, but were significantly increased in the lungs of asthma deaths than seen in nonsmokers. CD8+ T cells but not CD4+ T cells were significantly and greatly increased in the lungs of fatal asthma patients when compared to mild asthmas and nonsmokers. IL-18 proteins were strongly expressed in the bronchoalveolar epithelial cells and pulmonary inflammatory cells in asthma deaths. Moreover, IL-18R α proteins were enhanced in the pulmonary inflammatory cells, especially CD8+ T cells in the lungs of asthma death.

Conclusion: CD8+ T cells, eosinophils and over-expressed IL-18 proteins in the lungs may play an important role in the pathogenesis of asthma death.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：喘息、COPD、動物モデル

1. 研究開始当初の背景

COPDの原因にCD8陽性細胞、好中球や肺細胞マクロファージを中心とした炎症細胞とIFN- γ 等のTh1型炎症性サイトカインが関与していると考えられてきた。一方、Eliasらによって肺でのTh2型炎症性サイトカインIL-13の一過性発現はマトリクスメタロプロテアーゼ(MMPs)やカテプシンを上昇させIL-1ATが低下し気腫化を誘導する、一方IL-13の持続的発現はTransgenic(TG)マウスに肺線維化、粘液過形成及び気道過敏性の亢進を誘導すると報告されている。これが”Dutch hypothesis”と考えられる。また、Th1サイトカインIFN- γ がIL-18の存在下で誘導されるとMMPsやカテプシンを上昇させ分泌型白血球ペプチダーゼ阻害物質(secretory leukocyte peptidase inhibitor: SLPI)を抑制し肺胞破壊が起こり気腫化を誘導する。これが”British hypothesis”である。これらの結果からCOPDの原因にはTh1型とTh2型炎症性サイトカインの両方関与している可能性が高いが、いまだ機序は不明である

2. 研究の目的

- 1) 喘息死、中等症喘息とCOPDの肺病変部のCD8陽性細胞を含む炎症細胞の解析。
- 2) 喘息死、中等症喘息とCOPDの肺病変部の炎症性サイトカインの解析。
- 3) マウス喘息モデルを用いて炎症性サイト

カイン(IL-18)が気道過敏性を亢進するかを検討する。

4) 新規のテトラサイクリン誘導肺特異的発現トランスジェニックマウス樹立。

3. 研究の方法

我々は喘息死患者、軽症喘息、非喫煙者の摘出肺を用いて末梢気道のCD4陽性T細胞、CD8陽性T細胞を含むリンパ球、好酸球、好中球、好塩基球の検討を病理学的に行った。昭和48年以降に久留米大学病院及びその関連病院で病理解剖を行った12人の喘息死患者の肺病理組織を用いた。

4. 研究成果

1) 喘息死患者の年齢は5から79才で平均は44.4 \pm 7.4才であった。興味深いことに12名中5名が24時間以内に死亡していた。

2) 12名すべての喘息死患者で気道への著明な炎症細胞浸潤がみられ、中枢気道だけでなく末梢気道にも平滑筋の肥大、分泌腺過形成を伴った著明な気道リモデリング、粘液栓による気道の閉塞を認めた。一方、軽症喘息患者及び非喫煙者では気道のリモデリングはほとんど認めなかった。興味深いことに細気管支における著明な気道リモデリング、粘液栓による気道の閉塞といった病理像は重症COPD患者の末梢気道における病理像と極

めて類似していた。

3) 喘息死患者の気道では非喫煙者に比べ好酸球、リンパ球が有意に著明に増加していた。一方、喘息死患者の肺病変部の好中球はコントロール肺より有意に増えていたが、軽症喘息の肺と比べ有意な増加は認めなかった。

4) 喘息死患者の気道では、CD4 陽性 T 細胞は軽症喘息と同等に非喫煙者より増加していた。一方 CD8 陽性 T 細胞は軽症喘息と非喫煙者に比べ著明に増加していた。

5) 喘息死患者の肺病変部では著明に炎症性サイトカインが発現していた。

6) COPD 患者の血清ではキチナーゼが高く、気腫化とキチナーゼは関係していることが示唆された。

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 7 件)

1. Takei S, Hoshino T, Matsunaga K, Sakazaki Y, Sawada M, Oda H, Takenaka SI, Imaoka H, Kinoshita T, Honda S, Ida H, Fukuda TA, Aizawa H. Soluble interleukin-18 receptor complex is a novel biomarker in rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy* 2011;13:R52.

2. Sakazaki Y, Hoshino T, Takei S, Sawada M, Oda H, Takenaka S, Imaoka H, Matsunaga K, Ota T, Abe Y, Miki I, Fujimoto K, Kawayama T, Kato S, Aizawa H. Overexpression of chitinase 3-like 1/ykl-40 in lung-specific il-18-transgenic mice, smokers and copd. *PloS one* 2011;6:e24177.

3. Okamoto M, Hoshino T, Kitasato Y, Sakazaki Y, Kawayama T, Fujimoto K, Ohshima K, Shiraishi H, Uchida M, Ono J, Ohta S, Kato S, Izuhara K, Aizawa H. Periostin, a matrix protein, is a novel biomarker for idiopathic interstitial pneumonias. *Eur*

Respir J 2011;37:1119-1127.

4. Imaoka H, Gauvreau GM, Watson RM, Smith SG, Dua B, Baatjes AJ, Howie K, Hoshino T, Killian KJ, Aizawa H, O'Byrne PM. Interleukin-18 and interleukin-18 receptor-alpha expression in allergic asthma. *Eur Respir J* 2011;38:981-983.

5. Tamai K, Tanaka N, Nakano T, Kakazu E, Kondo Y, Inoue J, Shiina M, Fukushima K, Hoshino T, Sano K, Ueno Y, Shimosegawa T, Sugamura K. Exosome secretion of dendritic cells is regulated by hrs, an escrt-0 protein. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;399:384-390.

6. 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* 2010;59:363-367.

7. Iwata Y, Okamoto M, Hoshino T, Kitasato Y, Sakazaki Y, Tajiri M, Matsunaga K, Azuma K, Kawayama T, Kinoshita T, Imaoka H, Fujimoto K, Kato S, Yano H, Aizawa H. Elevated levels of thioredoxin 1 in the lungs and sera of idiopathic pulmonary fibrosis, non-specific interstitial pneumonia and cryptogenic organizing pneumonia. *Intern Med* 2010;49:2393-2400.

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

<http://www.med.kurume-u.ac.jp/med/imed1/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

星野友昭 (HOSHINO TOMOAKI)

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：00261066

研究者番号：

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：