

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16137

研究課題名（和文）慢性閉塞性肺疾患の病態における好塩基球、間質マクロファージの役割

研究課題名（英文）The role of basophils and interstitial macrophages in COPD

研究代表者

柴田 翔（Shibata, Sho）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：20897780

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：今回研究代表者らはIL-3、タバコ煙抽出物に着目し、エラスターゼ誘導モデル、骨髄由来好塩基球を用いて解析を行った。野生型マウスと比較してIL-3欠損マウスでは、エラスターゼ点鼻投与5日後の好塩基球の肺への浸潤が抑制され、肺気腫形成をほとんど認めなかった。また、*in vitro*の解析において、エラスターゼもしくはCSEの刺激による好塩基球のIL-4分泌に、培養上清中のIL-3の存在が重要であることが分かった。CSEは豚膵臓エラスターゼ、パパインと同様にIL-3の存在下で好塩基球を活性化させることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性閉塞性肺疾患はタバコ煙を主とする有害物質を長期に吸入曝露することで生じた肺の炎症性疾患であり、呼吸機能検査で正常に復すことのない気流制限を特徴とする。研究代表者らはエラスターゼ誘発モデルにおいて間質マクロファージの分泌するMMP-12が気腫形成に関与することを報告した。また、好塩基球由来IL-4が単球に作用しMMP-12産生間質マクロファージへの分化を誘導することも明らかにした。しかしながら、好塩基球の肺への浸潤、活性化を促す因子についてはこれまでに明らかではなかった。今回新たに好塩基球の浸潤、肺気腫形成にIL-3が重要であることが分かった。

研究成果の概要（英文）：The principal investigator focused on IL-3, cigarette smoke extract (CSE) and analysed in an elastase-induced emphysema model, bone marrow-derived basophils (BMBa). Compared to wild-type mice, IL-3-deficient mice showed reduced infiltration of basophils into the lungs and no emphysema formation. *In vitro* analysis also showed that the presence of IL-3 in the culture supernatant was important for IL-4 secretion by basophils upon elastase or CSE stimulation. In elastase-induced models, IL-3 was important for basophil infiltration and emphysema formation. *In vitro* analyses showed that CSE, like porcine pancreatic elastase (PPE) and papain, activated basophils in the presence of IL-3.

研究分野：免疫アレルギー

キーワード：好塩基球 COPD 肺気腫 IL-3

1. 研究開始当初の背景

COPD はタバコ煙を主とする有害物質を長期に吸入暴露することなどにより生ずる肺疾患であり、呼吸機能検査で気流閉塞を示す。気流閉塞は末梢気道病変と気腫性病変がさまざまな割合で複合的に関与し起こる¹⁾。

好塩基球はヒト、マウスの末梢血白血球中の 0.5%程度しか存在しない稀少細胞で、近年の研究によりアレルギー炎症、寄生虫感染防御など Th2 型の免疫応答において重要な役割を担っていることが明らかとなっている²⁾。COPD と同じく気流閉塞を呈する気管支喘息では、重症喘息発作で死亡した剖検例において気管壁の上皮、粘膜下に好塩基球が多数浸潤していたことが報告されている³⁾。また、好酸球性喘息において誘発喀痰中の好塩基球は増加し活性化していることが報告されている⁴⁾。動物モデルにおいては Th2 炎症を誘導するパピンをマウスに点鼻投与することで、好塩基球由来の IL-4 により 2 型自然免疫リンパ球が活性化されることが報告されている。Th2 サイトカインやケモカインの産生を促進することで、好酸球の気道への浸潤を引き起こすことが知られている⁵⁾。一方 COPD 患者において、健常者と比較して末梢血中の好塩基球数が増加し⁶⁾、肺組織中の好塩基球の浸潤が増加していることが報告されている⁷⁾。

2. 研究の目的

研究代表者らはエラスターゼ誘発モデルにおいて間質マクロファージの分泌する MMP-12 が気腫形成に関与することを報告した。また、好塩基球由来 IL-4 が単球に作用し MMP-12 産生間質マクロファージへの分化を誘導することも明らかにした⁸⁾ (図 1)。しかしながら、好塩基球の肺への浸潤、活性化を促す因子についてはこれまでに明らかではなかった。

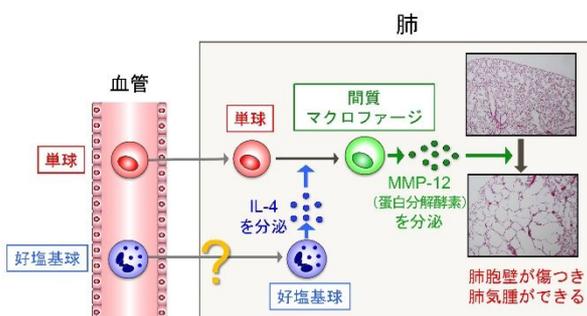


図 1 COPD モデルにおける好塩基球、間質マクロファージの役割

3. 研究の方法

IL-3 欠損マウス、野生型マウスそれぞれに PPE 0.9 単位を点鼻投与し、5 日後の肺の細胞浸潤、21 日後の肺の病理組織を評価した。また、マウス骨髄由来の好塩基球培養細胞を用いて、IL-3 添加の有無による PPE、パピン、CSE に対する反応性を培養上清中の IL-4 濃度で評価した。

4. 研究成果

<結果>

野生型マウスと比較して IL-3 欠損マウスでは好塩基球の浸潤が抑制され(細胞数 37599 ± 3430 vs 8840 ± 1457 , $p < 0.001$)、肺気腫形成をほとんど認めなかった(平均肺胞径 83.3 ± 5.9 vs 52.5 ± 1.8 , $p < 0.01$) (図 2)。

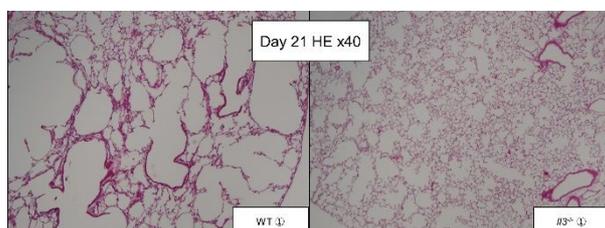


図 2 IL-3 欠損マウスでは気腫病変が減弱する

PPE、パピン、CSE は培養上清中に IL-3 を添加することで BMBa を刺激し、IL-4 の分泌を促した。PPE、パピンを熱処理して酵素活性を失活させると、BMBa は活性化しなかった (図 3)。

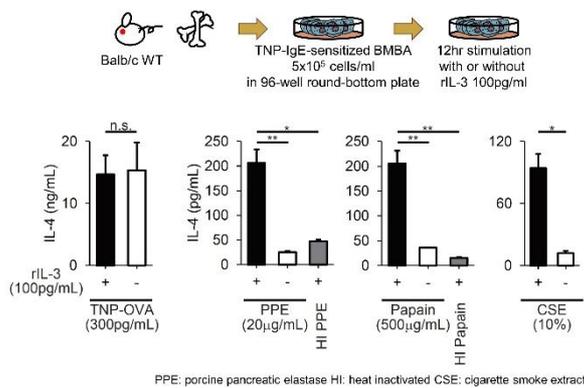


図 3 PPE、パパイン、CSE で好塩基球は活性化して IL-4 を分泌する

< 考察 >

COPD 患者の手術切除肺組織や生検組織を免疫組織化学染色法で解析したところ、好塩基球の浸潤が認められ、重症患者ほど割合が高いことが報告されている⁸⁾。今回研究代表者らは BMBa を用いた解析にて、PPE、パパインなどのプロテアーゼの直接刺激により好塩基球が活性化し、IL-4 を分泌することを明らかにした。また、ヒト COPD はタバコ煙を長期に吸入暴露することで発症するとされており、CSE が好塩基球の IL-4 分泌を促すことが分かった。いずれの刺激も IL-3 の存在が必要であり、IL-3 欠損マウスにおいては、エラスターゼ誘発モデルでの好塩基球の浸潤、気腫病変の形成を認めなかった。

抗 IL-5 受容体抗体薬ベンラリズマブは重症アレルギー性喘息患者に適応があり、経口ステロイドの減量、増悪の抑制、呼吸機能の改善が報告されている。アレルギー性喘息患者においてベンラリズマブの投与にて末梢血好塩基球数が減少することが報告されている⁹⁾。ヒト COPD の病態形成に好塩基球が関与することが明らかになれば、有望な治療薬となる可能性がある。

< 結語 >

エラスターゼ誘発モデルにおいて、好塩基球の浸潤、肺気腫形成に IL-3 が重要であることが分かった。*In vitro* の解析において、CSE は豚膵臓エラスターゼ、好中球エラスターゼと同様に IL-3 の存在下で好塩基球を活性化させることが明らかとなった。

< 参考文献 >

1. 一般社団法人日本呼吸器学会. COPD (慢性閉塞性肺疾患) 診断と治療のためのガイドライン 第5版. 東京: メディカルレビュー; 2018.
2. Miyake K, et al. Basophils and their effector molecules in allergic disorders. *Allergy* 2021; 76: 1693.
3. Kepley CL, et al. Immunohistochemical detection of human basophils in postmortem cases of fatal asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1053.
4. Suzuki Y, et al. Airway basophils are increased and activated in eosinophilic asthma. *Allergy* 2017; 72: 1532.
5. Motomura Y, et al. Basophil-derived interleukin-4 controls the function of natural helper cells, a member of ILC2s, in lung inflammation. *Immunity* 2014; 40: 758.
6. Xiong W, et al. Can we predict the prognosis of COPD with a routine blood test? *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2017; 12: 615.
7. Jogdand P, et al. Eosinophils, basophils and type 2 immune microenvironments in COPD-affected lung tissue. *Eur Respir J* 2020; 55: 1900110.
8. Shibata S, et al. Basophils trigger emphysema development in a murine model of COPD through IL-4-mediated generation of MMP-12-producing macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018; 115: 13057.
9. Laviolette M, et al. Effects of benralizumab on airway eosinophils in asthmatic patients with sputum eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 1086.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 柴田 翔	4. 巻 40
2. 論文標題 慢性閉塞性肺疾患の病態における好塩基球の役割	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 呼吸器内科	6. 最初と最後の頁 604-609
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 柴田 翔, 烏山 一	4. 巻 41
2. 論文標題 先端医学講座 慢性閉塞性肺疾患の病態における好塩基球、間質マクロファージの役割	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 494-497
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Karasuyama H., Shibata S., Yoshikawa S., Miyake K.	4. 巻 33
2. 論文標題 Basophils, a neglected minority in the immune system, have come into the limelight at last	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 809-813
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxab021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 3件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 柴田 翔
2. 発表標題 肺における好塩基球の生理的役割と疾患への関与
3. 学会等名 日本肺サーファクタント・界面医学会 第58回学術研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shibata S
2. 発表標題 The role of basophils in the pathogenesis of COPD
3. 学会等名 International Conference on COPD and Asthma (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shibata S
2. 発表標題 The role of basophils in the pathogenesis of COPD
3. 学会等名 The 25th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柴田 翔、新村 卓也、杉原 潤、土井 将史、井上 信一郎
2. 発表標題 COPD治療における3成分配合吸入薬への切り替え症例の検討
3. 学会等名 第61回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柴田 翔、三宅 健介、立石 知也、烏山 一、宮崎 泰成
2. 発表標題 マウス、ヒトにおいて好中球エラストーゼは 好塩基球からのIL-4分泌を促進する
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柴田 翔, 高澤 聖子, 小松崎 恵子, 立石 知也, 大谷 義夫, 宮崎 泰成
2. 発表標題 喘息における3成分配合吸入薬への切り替えは増悪を抑制し, 1秒量を改善した
3. 学会等名 第72回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高澤 聖子, 三宅 健介, 杉原 潤, 柴田 翔, 立石 知也, 烏山 一, 宮崎 泰成
2. 発表標題 好塩基球由来IL-4は急性呼吸促迫症候群モデルの肺炎症を抑制する
3. 学会等名 第72回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 島村 貴史, 山名 高志, 柴田 翔, 岡本 師, 宮崎 泰成
2. 発表標題 鳩糞抽出物による感作を行った過敏性肺炎回復期モデルマウスの作成
3. 学会等名 第72回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 遠藤 駿, 柴田 翔, 山名 高志, 宮崎 泰成
2. 発表標題 CD11b陽性樹状細胞が鳥関連過敏性肺炎マウスモデルの病態に關与する
3. 学会等名 第72回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高澤 聖子, 三宅 健介, 杉原 潤, 柴田 翔, 立石 知也, 烏山 一, 宮崎 泰成
2. 発表標題 好塩基球由来IL-4は急性呼吸促迫症候群モデルの肺炎症を抑制する
3. 学会等名 第63回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関