

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 17 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861574

研究課題名(和文) 小児咽頭扁桃における抗原提示細胞の機能解析に基づくDDSを介した新たな治療戦略

研究課題名(英文) New therapeutic strategy based on functional analysis of antigen presenting cell in the Lymphoepithelium of Pediatric Adenoids via drug delivery system.

研究代表者

小笠原 徳子 (ogasawara, noriko)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：00438061

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：気道上皮細胞株を用いて、respiratory syncytial virus(RSV)の感染応答機構について検討した。抗原提示機構と上皮バリア、病原体認識機構の局在分布を2013年7月に第8回国際扁桃・粘膜バリアシンポジウム(スイス)にて発表し、国際誌に報告した。鼻粘膜上皮細胞におけるToll like receptor(TLR)3作動薬処置によるmicroRNAの挙動とタイト結合分子の制御機構の検討を国際誌に掲載した。RSV感染後の喘息発症予測因子としてウイルス感染により誘導されるmicroRNAを検討した。誘導されるサイトカインが抗菌薬投与により制御される結果について現在投稿中である。

研究成果の概要(英文)：Nose- or nasopharynx-associated lymphoid tissue (NALT) has a unique role that is distinct from that of other lymphoid tissues. During upper airway mucosal immune response, NALT induces a variety of responses, including cytokine and chemokine production and innate immune response, to establish acquired immunity. NALT consists of epithelial cells, epithelium-associated lymphoid tissues such as IgA-committed B cells, innate lymphocytes, T helper cells and dendritic cells. Intranasal immunization has recently been shown to effectively induce a proactive immune response in the local mucosa in addition to a systemic immune response. We provide evidence suggesting that upper airway epithelium as a component of NALT in children may play an important role in inducing innate immunity following viral infection.

研究分野：粘膜免疫学

キーワード：上皮細胞 RSV 宿主免疫応答

1. 研究開始当初の背景

小児期中耳炎、副鼻腔炎といった上気道炎の反復はアレルギー疾患の続発、本人の苦痛といった原疾患の影響のみならず、養育者の生産損失と相まって実際に算出される以上の社会的損失を引き起こす。そのため小児における上気道炎の予防、治療は今後ますます重要になるものと考えられる。鼻咽腔は外来病原体に対する生体防御の最前線に位置し、その粘膜は自然免疫、獲得免疫において重要な役割を担っている。

そのためヒト小児咽頭扁桃上皮バリア機構、M細胞を含む抗原提示機構の解析は、鼻咽腔における感染アレルギーの全く新しい予防および治療法の開発につながる可能性がある

2. 研究の目的

ヒト小児咽頭扁桃上皮における抗原提示機構と上皮バリア機能との関連を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

鼻咽腔粘膜関連リンパ組織での多彩な抗原提示細胞群と病原体認識機構との関連について、非疾患群と上気道炎群における網羅的 microRNA アレイを行い、疾患特異的標的の探索を行う。さらに標的遺伝子の発現阻害実験を行い、咽頭扁桃上皮における役割を探る。感染系として、ウイルスや菌体成分による培養上皮細胞への刺激応答に関して microRNA アレイによる遺伝子解析の結果と比較検討をおこない効果的な免疫誘導を誘導する新規薬剤とその投与経路について検討する。

4. 研究成果

小児咽頭扁桃上皮における検討の前に、気道上皮細胞株である A549 を用いて、小児期に感染する呼吸器感染性ウイルスの代表である respiratory syncytial virus (RSV) を主に用いて種々の検討を行った。

これまでの進捗状況としては(1) 小児咽頭扁桃上皮細胞における M細胞を含む抗原提示機構と上皮バリアの関係を検討、病原体認識機構の局在と分布、機能的役割を解明、(2) ヒト小児咽頭扁桃組織における DNA および microRNA アレイを用いた網羅的遺伝子解析の2項目に関して現在すでに解析が終了している(図2)。結果の一部を2013年7月に第8回国際扁桃・粘膜バリアシンポジウム(スイス、チューリッヒ)にてポスター発表を行い、結果を国際学術誌に報告した。

また鼻粘膜上皮細胞における Toll like receptor (TLR)3 のアゴニスト処置による microRNA の挙動とタイト結合分子の制御機構に関する検討を Eur J Pharmacol に掲載した(Miyata R et al., 2015)。さらに小児期に感染する RS ウイルス感染後の喘鳴の遷延や気管支喘息発症との関連を予測する因子としてウイルス感染により特異的に誘導される microRNA を明らかとした。

その結果を2015年第64回日本アレルギー

学会にポスター筆頭演者として発表している。

これらの検討は国際学術誌に投稿し掲載されている。

最終段階として小児期にはほぼ100%罹患するが未だ cost-benefit にみあった予防ワクチンが存在しない RS ウイルスに焦点を絞り研究を進めた。特に RS ウイルスの宿主細胞内での複製機構と気道上皮細胞の宿主免疫応答制御機構の関連を検討した。

その中で申請者は、複数の気道上皮細胞株を用いてウイルス感染に伴って誘導される種々のサイトカインがある種の抗菌薬投与によって抑制されることを発見した。このことはこれらの抗菌薬の構成成分に、ウイルス感染に伴って誘導される宿主細胞内のシグナル伝達経路を阻害する機能が存在することを示唆しており、これらの機構を明らかにする事で新たな薬を創製することが期待できる。既に結合タンパク質および干渉するシグナル伝達経路を明らかにしており、複数の国際学術誌へ投稿中である。

以上の結果は第2,3回日本耳鼻咽喉科感染症エアロゾル研究会、第53回日本鼻科学会、第63回ウイルス学会総会、で研究内容を積極的に発表した。ここまでの研究結果に関して上皮細胞における検討はおおむね順調に遂行されたと判断している。

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19件)

Ogasawara N, Yamamoto K, Takano K, Himi T. Relationship between otitis media and epithelial function in the lymphoepithelium of pediatric adenoids. Adv. Otorhinolaryngol. 2016 Apr 26;77-;33-39 査読なし

Yamashita K, Kawata K, Matsumiya H, Kamekura R, Jitsukawa S, Nagaya T, Ogasawara N, Takano K, Kubo T, Kimura S, Shigehara K, Himi T, Ishimiya S.

Eur J Immunol. 2016 Apr 15 doi: 10.1002/eji.201545499 査読あり

Jinushi M, Yamamoto S, Ogasawara N, Nagano H, Hashimoto S, Tsutsumi H, Himi T, Yokota SI.

Measles Virus Genotype D Wild Strains Suppress Interferon-Stimulated Gene Expression More Potently than Laboratory Strains in SiHa Cells. Viral Immunol. 2016 Apr 1. PMID: 27035543. 査読あり

Takano K, Kaizaki A, Saikawa E, Konno A, Ogasawara N, Himi T. Outcomes of visually impaired patients who received cochlear implantations.

Auris Nasus Larynx. 2015 Sep 17. 査読あり

Miyata R, Kakuki T, Nomura K, Ohkuni T, **Ogasawara N**, Takano K, Konno T, Kohno T, Sawada N, Himi T, Kojima T. Poly(I:C) induced microRNA-146a regulates epithelial barrier and secretion of proinflammatory cytokines in human nasal epithelial cells. Eur J Pharmacol. 2015 Aug 15;761:375-82. 査読あり

Kamekura R, Shigehara K, Miyajima S, Jitsukawa S, Kawata K, Yamashita K, Nagaya T, Kumagai A, Sato A, Matsumiya H, **Ogasawara N**, Seki N, Takano K, Kokai Y, Takahashi H, Himi T, Ichimiya S. Alteration of circulating type 2 follicular helper T cells and regulatory B cells underlies the comorbid association of allergic rhinitis with bronchial asthma. Clin Immunol. 2015 Jun;158(2):204-11. 査読あり

Yamamoto K, **Ogasawara N**, Seki N, Konno N, Tsubota H, Himi T. Vascular tumors of the external auditory canal: three case reports and a review of the literature. Springerplus. 2015 Jul 1;4:307. 査読あり

Yokota SI, Konno M, Fujiwara SI, Toita N, Takahashi M, Yamamoto S, **Ogasawara N**, Shiraishi T. Intrafamilial, Preferentially Mother-to-Child and Intrafamilial, Helicobacter pylori Infection in Japan Determined by Multi-locus Sequence Typing and Random Amplified Polymorphic DNA Fingerprinting. Helicobacter. 2015 Feb 9. 査読あり

Takano K, Saikawa E, **Ogasawara N**, Himi T. Cochlear implantation in a patient with Paget's disease. Am J Otolaryngol. 2014 May-Jun;35(3):408-10. 査読あり

Ogasawara N, Kikuchi K, Yoshioka I, Yamashita K, Himi T

Solitary fibrous tumor of the head and neck in a child: Case report and review of the literature. Journal of Pediatric Surgery Case Reports 1(8) 194-196, 2013 査読あり

Kojima T, Go M, Takano K, Kurose M, Ohkuni T, Koizumi J, Kamekura R, **Ogasawara N**, Masaki T, Fuchimoto J, Obata K, Hirakawa S, Nomura K, Keira T, Miyata R, Fujii N,

Tsutsumi H, Himi T, Sawada N. Regulation of tight junctions in upper airway epithelium. Biomed Res Int. 2013;2013:947072. 査読あり

Fuchimoto J, Kojima T, Okabayashi T, Masaki T, **Ogasawara N**, Obata K, Nomura K, Hirakawa S, Kobayashi N, Shigyo T, Yokota S, Fujii N, Tsutsumi H, Himi T, Sawada N. Humulone suppresses replication of respiratory syncytial virus and release of IL-8 and RANTES in normal human nasal epithelial cells. Med Mol Morphol. 2013 Dec;46(4):203-9. 査読あり

高菌量播種条件におけるコリスチン感受性緑膿菌のコリスチン含有培地での発育メカニズム

袴田 浩(札幌医科大学 医学部微生物学講座), 山本 聡, 白石 宗, **小笠原 徳子**, 横田 伸一

緑膿菌感染症研究会講演記録 第 49 回 88-93, 2015 査読なし

【これからを見据えた呼吸器感染症治療】最新動向から見直す呼吸器感染症マネジメント ウイルス性呼吸器感染症 冬期のRSウイルス流行に備えて

小笠原 徳子, 横田 伸一, 山本 圭佑, 橋本 真, 堤 裕幸, 氷見 徹夫
感染と抗菌薬 18(3) 242-246, 2015 査読なし

ウイルス性呼吸器感染症-RS ウイルス・ライノウイルス

小笠原 徳子, 横田 伸一, 氷見 徹夫
感染と抗菌薬 Vol.17 No.1 68-72, 2014 査読なし

【耳鼻咽喉科とウイルス】上気道粘膜とウイルス感染

氷見 徹夫, 高野 賢一, 大國 毅, **小笠原 徳子**, 山本 圭佑, 高橋 希
JOHNS 30(11) 1533-1539, 2014 査読なし

【耳鼻咽喉科における乳幼児診療 Q&A】 Q9 乳幼児でも扁桃病巣疾患はありますか?

小笠原 徳子, 氷見 徹夫
ENTONI :152: 57-64, 2013 査読なし

【急患・急変対応マニュアル-そのとき必要な処置と処方】 処置中・処置後の急変への対応法 口蓋扁桃摘出術(解説/特集) .

小笠原 徳子, 氷見 徹夫
耳喉頭頸:85(5):270-273, 2013 査読なし

特集 クローズアップ『目・耳・鼻・口』の診かたと初期対応 IV. 口 25)口蓋垂裂・口蓋垂変位 .

小笠原 徳子, 氷見 徹夫

小児内科:45(10): 1860-1862, 2013
査読なし

〔学会発表〕(計 13 件)
Clarithromycin regulates interferon and proinflammatory cytokine production induced by RSV infection in human airway epithelial cells via modulating nuclear translocation of interferon regulatory factor-3.
Keisuke Yamamoto, Soh Yamamoto, **Noriko Ogasawara**, Kenichi Takano, Tsuyoshi Okuni, Takashi Kojima, Hiroyuki Tsutsumi, Shin-ichi Yokota, Tetsuo Himi
16th Japan-Korea Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Tokyo March 28-30, 2-16

高菌量播種条件におけるコリスチン感受性緑膿菌のコリスチン含有培地での発育メカニズム
袴田 浩, 山本 聡, 白石 宗, **小笠原 徳子**, 横田 伸一
第 49 回緑膿菌感染症研究会 2015 年 2 月 6-7 日 昭和大学 50 年記念館(東京都)

RS ウイルス感染症における細気管支炎・喘鳴の発症予測因子としての microRNA の可能性
小笠原 徳子, 高野 賢一, 亀倉 隆太, 氷見 徹夫
第 64 回日本アレルギー学会学術集会 2015, 5 月 26-28 日 グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール(東京都)

アレルギー性気道疾患の病態形成における濾胞ヘルパー T 細胞と制御性 B 細胞の役割
亀倉 隆太, 重原 克則, 實川 純人, **小笠原 徳子**, 高野 賢一, 氷見 徹夫, 一宮 慎吾
第 64 回日本アレルギー学会学術集会 2015, 5 月 26-28 日 グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール(東京都)

RS ウイルス感染時のヒト気道上皮細胞における抗菌薬の抗炎症効果とその作用点の検討
山本 圭佑, **小笠原 徳子**, 高野 賢一, 氷見 徹夫
第 3 回日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会 2015, 9 月 2-3 日 ホテルライフオー ト札幌(北海道・札幌市)

ムコブズ中耳炎の 2 例
村山 公介, **小笠原 徳子**, 近藤 敦, 小泉 純一, 坪松 ちえ子, 松宮 弘, 阿部 亜由美, 氷見 徹夫
第 3 回日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会 2015, 9 月 2-3 日 ホテルライフオー ト札幌(北海道・札幌市)

診断に苦慮した ANCA 関連血管炎性中耳炎の 1

例
伊藤 史恵, 高野 賢一, 大國 毅, **小笠原 徳子**, 野村 一顕, 氷見 徹夫
第 3 回日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会 2015, 9 月 2-3 日 ホテルライフオー ト札幌(北海道・札幌市)

微生物学的検査のピットフォール 的確な感染症診断 耳鼻咽喉科・頭頸部領域の結核の診断
小笠原 徳子
第 3 回日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会 2015, 9 月 2-3 日 ホテルライフオー ト札幌(北海道・札幌市)

コリスチン感受性緑膿菌のコリスチン含有培地における増殖機構
袴田 浩, 白石 宗, 横田 伸一, 山本 聡, **小笠原 徳子**
日本細菌学会 2015, 3 月 26-28 日 長良川国際会議場(岐阜県岐阜市)

miRNA-146a はヒト鼻粘膜バリアを調節する
宮田 遼, 角木 拓也, 野村 一顕, **小笠原 徳子**, 大國 毅, 高野 賢一, 氷見 徹夫
第 116 回日本耳鼻咽喉科学会 2015, 5 月 20-23 日 東京国際フォーラム(東京都千代田区)

ヒト気道上皮細胞における RS ウイルス感染によるサイトカイン産生誘導と抗生剤による阻害効果の検討
山本 圭佑, 高野 賢一, **小笠原 徳子**, 黒瀬 誠, 野村 一顕, 宮田 遼, 角木 拓也, 氷見 徹夫
第 53 回日本鼻科学会 2014, 9 月 25-27 日 コングレコンベンションセンター(大阪府大阪市)

ヒト鼻粘膜バリアにおける microRNA の役割
宮田 遼, 角木 拓也, 高野 賢一, **小笠原 徳子**, 大國 毅, 野村 一顕, 小島 隆, 氷見 徹夫
第 53 回日本鼻科学会 2014, 9 月 25-27 日 コングレコンベンションセンター(大阪府大阪市)

ヒト気道上皮細胞に対する RS ウイルス感染によるサイトカイン産生能と抗生剤投与による阻害効果の検討
高野 賢一, 山本 圭佑, **小笠原 徳子**, 小泉 純一, 氷見 徹夫
第 2 回 日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会 2014, 9 月 5-6 日 東京ステーションコンファレンス(東京都千代田区)

Noriko Ogasawara, Kenichi Takano, Takashi Kojima, Makoto Kurose, Tsuyoshi Okuni, Keiji Yamashita, Norimasa Sawada, Hiroyuki Tsutsumi, Tetsuo Himi: The

Regulation of adenoidal epithelial cells
in children upper respiratory airway.
第8回国際扁桃・粘膜バリアシンポジウム 7
月16-19日 スイス, チューリッヒ 2013

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小笠原 徳子 (OGASAWARA NORIKO)
札幌医科大学医学部 助教

研究者番号：00438061

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：