

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 10 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461166

研究課題名(和文) 気道組織の老化反応から見た難治性喘息の病態解明と新規治療戦略の確立

研究課題名(英文) Elucidation of the pathophysiology of intractable asthma from the view-point of aging of airway tissues and establishment of new treatment strategy

研究代表者

金澤 博 (KANAZAWA, Hiroshi)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：90332957

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肺の構成細胞の過剰な老化、及び老化を基盤とする細胞外マトリックスにおけるペントシジン架橋の形成等、気道組織の老化を多面的かつ包括的に評価するという手法を用いて、難治性喘息の病態生理学的特性を明らかにした。また、今回の研究成果から、難治性喘息の気道反応性の特徴である非可逆的気道閉塞の機序を明らかにし、新規疾患概念である喘息・COPDオーバーラップ症候群の病態仮説を初めて提唱した。さらに、難治性喘息に対する画期的で斬新な治療法の開発や創薬の可能性を現実化するという目標に向けての新たな研究分野を開拓した。

研究成果の概要(英文)：The pathophysiology of intractable asthma was clarified using a method of multifactorial and comprehensive assessment of aging of airway tissues, such as excessive aging of constitutive cells of the lung and formation of pentosidine crosslink in the extracellular matrix based on aging. In addition, from the results of this research, we determined the mechanism of irreversible airway obstruction, which is a characteristic of airway responsiveness of intractable asthma, and proposed the pathophysiologic hypothesis of asthma-COPD overlap syndrome (ACOS). Furthermore, we developed a new research field toward the goal of developing innovative and novel therapeutic methods for intractable asthma.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：呼吸器内科学 難治性喘息 老化

1. 研究開始当初の背景

現在、国内外における喘息関連の研究テーマの中で、最も重要かつ難解であるとされているのは、難治性喘息の成立機序の解明とそれらを基盤とする特異的治療法の開発である。しかしながら、世界中の有力な研究機関が精力的に研究を進めているという現状にもかかわらず、喘息の難治化の誘導因子に関する少数の報告がなされているのみであり、難治性喘息に特異的な病態生理の解明、及び画期的な治療薬の開発は未だ途上である。このような状況下において、我々は近年、加齢に伴う生理的肺機能低下の分子生化学的機序の解明に精力的に取り組み、気道組織の老化が気道反応性の生理学的機能異常を誘導する機序を明らかにした。喘息病態における非生理的加齢現象は、喘息の重症度と極めて密接な関連性を示すことから、急速な気道組織の老化の進展は疾患の難治化を誘導する必須の機序であるという仮説の論理性は極めて高いものと思われる。また、ヒトコラーゲンやエラスチン分子には、マトリックス本来の生理的機能を発揮するための生理的架橋が形成されているが、老化や慢性炎症性疾患では老化架橋と呼ばれるペントシジン架橋が形成され、マトリックスの機能低下を誘導するものと考えられている。近年の抗ペントシジン抗体による解析の結果、ヒトコラーゲンでは加齢に伴うペントシジン過剰蓄積の進行が確認されており、その組織中のペントシジン量と老化自体や老化に伴う慢性疾患との関連性が注目されている。また、我々は、既にヒト気道のコラーゲンにおいて加齢に伴うペントシジン蓄積の進行を確認しており、その組織中含量と気道組織の老化との関連性を明らかにしている(Kanazawa H et al. J Allergy Clin Immunol 2011)。また、喘息患者の喀痰中ペントシジン濃度は著しい高値を呈し、さらには喘息の重症度の進行と並行した気道におけるペントシジンの過剰蓄積が確認されている(Kanazawa H et al. Pulm Pharma Ther 2012)。生体におけるペントシジンの生成には酸化ストレスの深い関与が示唆され、喘息の気道炎症へのペントシジンの構造的・機能的な多面的関与の可能性が推測される。

2. 研究の目的

喘息の難治化のメカニズムは未だ不明な点が多いが、過剰な酸化ストレスや特定の炎症性サイトカインの関与が指摘されている。また、難治性喘息患者は、喘息の標準治療に対して強固な抵抗性を示すことから、新たな治療戦略の確立が求められている。そこで今回の研究目的として、気道組織の老化の定量化を実現するための方法論を確立し、難治性喘息における気道組織の老化の病態生理学的意義を明らかにする。つまり、気道の非生理的加齢変化を誘導するとされている喘息の難治化因子が、気道組織の過剰な老化反応に及ぼす影響を明らかにすると共に、分子生

学的視点から喘息気道の非生理的老化の機序を明らかにする。さらに、難治性喘息の新たな病態生理を気道組織の老化の観点から確立し、これらの知見を通して論理的な治療戦略を構築する。

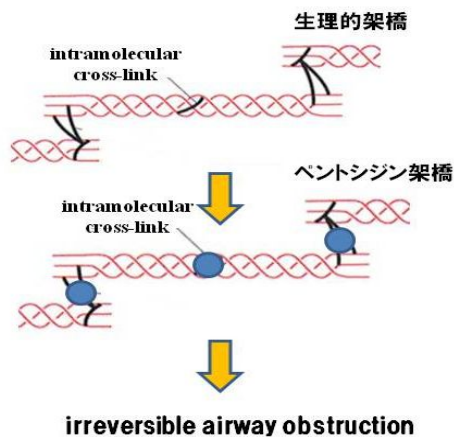
3. 研究の方法

今回の研究課題において、軽症～難治性喘息患者の血液・誘発喀痰・気道上皮被覆液中のペントシジン濃度の測定、さらに気道組織中のペントシジン含有量とその局在を明らかにし、ペントシジンの量的な差違がもたらす肺の生理機能に及ぼす影響を検討する。さらに、気道組織の老化を気道の構成細胞と細胞外マトリックスに分けて個別に定量化し、喘息の難治化との関連性について検討する。すなわち、気道の構成細胞の老化については、既知の基本概念であるテロメア長に焦点を当てて解析する。つまり正常細胞では細胞分裂のたびに染色体末端のテロメア長は不完全な複製のために短縮し、このテロメア末端の短縮が細胞の老化と深く関与していることが知られている。一方で、テロメア長の維持を担う酵素であるテロメラーゼは、テロメア末端の短縮を回避することで細胞の老化を予防するものと考えられている。ヒトテロメラーゼは、触媒サブユニットである hTERT (Human telomerase reverse transcriptase) と、鏝型 RNA である hTERC (Human telomerase RNA component) を必要最小ユニットとし、hTERT の RNA 依存性 DNA ポリメラーゼ(逆転写酵素) 活性によりテロメア末端にテロメア配列を付加する。このような既存の知見を応用して、ヒト検体を用いて、肺の構成細胞や炎症細胞における hTERT の発現、及びテロメア長の測定を行うことで、気道構成細胞の老化についての検討を行う。一方、細胞外マトリックスの老化については、細胞外マトリックスにおけるペントシジンの過剰蓄積により評価する。このように肺構成細胞と細胞外マトリックスにおいて個別に老化の指標を解析するとともに、非生理的老化から見た難治性喘息の病態を反映するバイオマーカーを同定する。

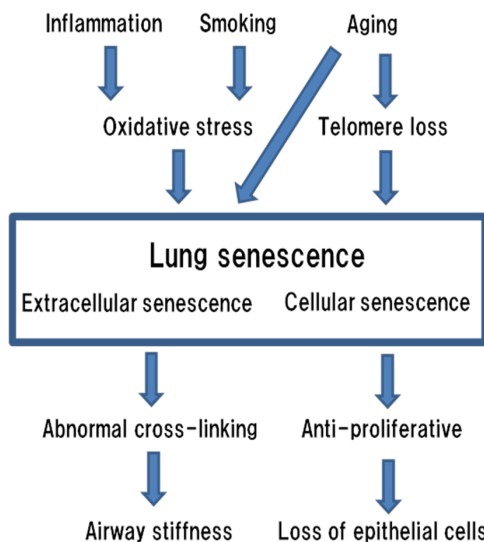
4. 研究成果

今回の研究において、第一に、気道組織の老化の定量化法を確立した。肺の構成細胞の老化の評価法としての免疫組織化学を用いた hTERT の発現量の定量化、及びテロメア長の測定、並びに細胞外マトリックスの老化評価法としてのペントシジンの免疫組織化学的評価の有用性を明らかにした。次に、これらの定量化された老化の指標と喘息患者の気道反応性を反映する生理学的検査所見との関連性を示すことにより、気道組織の老化が及ぼす気道反応性の生理学的特性を明らかにした。そして、このような成果を通して、喘息の難治化と気道組織の老化との直接的な因果関係を明らかにした。また、これまで提唱されてきた喘息の難治化要因が誘導する気道組織の老化のエビデンスを明確なも

のとした。第三に、気道組織の老化の定量法を臨床的に応用可能なものとするために、誘発喀痰・気道上皮被覆液から得られたペントシジン濃度と免疫組織学的な評価による肺の構成細胞及び細胞外マトリックスの老化の指標との関連性を明らかにし、誘発喀痰・気道上皮被覆液中ペントシジン濃度測定の実臨床的有用性を確立した。第四に、我々が明らかにした知見を基盤として、過剰な非生理的加齢反応がもたらす難治性喘息の新規治療戦略の方向性を明確に示した。



[喘息気道の細胞外マトリックスにおけるペントシジン架橋の形成による非可逆的気道閉塞の成立]



[肺の老化による気道組織の構造的・機能的変化]

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 11 件)

Sugiyama Y, Asai K, Yamada K, Kureya Y, Ijiri N, Watanabe T, Kanazawa H, Hirata K. Decreased levels of irisin, a skeletal muscle cell-derived

myokine, are related to emphysema associated with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2017;2:765-772. 査読有

Nagayasu F, Konishi K, Ijiri N, Asai K, Tochino Y, Kamoi H, Kanazawa H, Hirata K. MicroRNA miR-30c is induced in high mobility group box 1 mediated alveolar epithelial injury and apoptosis. *Osaka City Med J.* 2016;62:121-131. 査読有

Kureya Y, Kanazawa H, Ijiri N, Tochino Y, Watanabe T, Asai K, Hirata K. Down-regulation of soluble α -klotho is associated with reduction in serum irisin levels in chronic obstructive pulmonary disease. *Lung.* 2016;194:345-351.

Yamada K, Asai K, Nagayasu F, Sato K, Ijiri N, Yoshii N, Imahashi Y, Watanabe T, Tochino Y, Kanazawa H, Hirata K. Impaired nuclear factor erythroid 2-related factor 2 expression increases apoptosis of airway epithelial cells in patients with chronic obstructive pulmonary disease due to cigarette smoking. *BMC Pulmonary Medicine.* 2016;16:27-37. 査読有

Takeda N, Asai K, Ijiri N, Yamamoto N, Watanabe T, Kamoi H, Kanazawa H, Hirata K. Pentraxin-3 as a biomarker for febrile neutropenia in patients with lung cancer. *Osaka City Med J.* 2015;61:43-52. 査読有

Ijiri N, Kanazawa H, Asai K, Watanabe T, Hirata K. Irisin, a newly discovered myokine, is a novel biomarker associated with physical activity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology.* 2015;20:612-617. 査読有
Ijiri N, Kanazawa H, Yoshikawa T, Hirata K. Application of a new parameter in the 6-minute walk test for manifold analysis of exercise capacity in patients with COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2014; 9:1235-1240. 査読有

Imahashi Y, Kanazawa H, Ijiri N, Yoshii N, Tamagaki G, Asai K, Tochino Y, Hirata K. Analysis of contributing factors to airway hyperresponsiveness by forced oscillation technique in patients with asthma. *Osaka City Med J.* 2014;60:53-62. 査読有

Kanazawa H, Tochino Y, Asai K, Hirata K. Simultaneous assessment of HGF and VEGF in epithelial lining fluid from

patients with COPD. Chest.2014;146: 1159-1165. 査読有
Yoshikawa T, Kanazawa H, Fujimoto S, Hirata K. Epistatic effects of multiple receptor genes on pathophysiology of asthma: its limits and potential for clinical application. Med Sci Monit. 2014;20: 64-71. 査読有
Kanazawa H, Kyoh S, Tochino Y, Asai K, Hirata K. Potential role of pentosidine on susceptibility to small airway closure in elderly and smoking asthma. Respir Med. 2014;108: 709-715. 査読有

〔学会発表〕(計 27 件)

- 1 Yoshida S, Asai K, Sugiyama Y, Kyomoto Y, Kawamoto T, Sato K, Kureya Y, Okamoto A, Yamada K, Yoshii N, Watanabe T, Uji M, Kanazawa H, Hirata K. Relationship between peripheral blood irisin levels and muscle mass, sarcopenia, and pulmonary function measurements in COPD subjects. 21th Congress of the APSR. 2016年11月12日~15日. バンコク(タイ)
- 2 Kureya Y, Kanazawa H, Ijiri N, Watanabe T, Tochino Y, Asai K, Hirata K. Role of soluble α -klotho on lung and skeletal muscle function in chronic obstructive pulmonary disease. ERS International Congress 2016. 2016年9月3日~7日. ロンドン(英国)
- 3 杉山由香里, 川本珠貴, 吉井直子, 呉家由子, 佐藤佳奈子, 山田一宏, 長安書博, 渡辺徹也, 小西一央, 宇治正人, 棚野吉弘, 浅井一久, 鴨井博, 金澤博, 平田一人. 閉塞性換気障害を伴う気管支喘息における CAT の有用性について. 第 65 回日本アレルギー学会学術大会. 2016年6月17日~19日. 東京国際フォーラム(東京都)
- 4 浅井一久, 井尻尚樹, 金澤博, 平田一人. COPD 研究の新展開 サルコペニアとマイオカイン. 第 56 回日本呼吸器学会学術講演会. 2016年4月8日~10日. 国立京都国際会館(京都府・京都市)
- 5 呉家由子, 金澤博, 井尻尚樹, 山本典雄, 長安書博, 藤本寛樹, 田中秀典, 小西一央, 棚野吉弘, 宇治正人, 鴨井博, 平田一人. COPD 患者における可溶性 α -klotho の肺及び骨格筋機能に及ぼす生理作用. 第 56 回日本呼吸器学会学術講演会. 2016年4月8日~10日. 国立京都国際会館(京都府・京都市)
- 6 澤兼士, 吉本直樹, 中井俊之, 岡隆子, 鈴村倫弘, 田中秀典, 松浦邦臣, 吉村成央, 光岡茂樹, 浅井一久, 木村達郎, 川口知哉, 金澤博, 平田一人. 多発肺
- 癌の臨床病理学的検討. 第 56 回日本呼吸器学会学術講演会. 2016年4月8日~10日. 国立京都国際会館(京都府・京都市)
- 7 吉井直子, 玉垣学也, 藤本寛樹, 杉山由香里, 岡本敦子, 山本典雄, 宇治正人, 浅井一久, 金澤博, 平田一人. COPD 患者の運動耐容能の経年低下予測における Impulse Oscillation System(IOS)の有用性について. 第 56 回日本呼吸器学会学術講演会. 2016年4月8日~10日. 国立京都国際会館(京都府・京都市)
- 8 佐藤佳奈子, 浅井一久, 山田一宏, 吉井直子, 久保裕子, 渡辺徹也, 田中秀典, 鴨井博, 金澤博, 平田一人. COPD 患者におけるサルコペニアと運動能および予後に関する検討. 第 56 回日本呼吸器学会学術講演会. 2016年4月8日~10日. 国立京都国際会館(京都府・京都市)
- 9 吉本直樹, 澤兼士, 中井俊之, 岡隆子, 鈴村倫弘, 田中秀典, 松浦邦臣, 光岡茂樹, 浅井一久, 木村達郎, 吉村成央, 金澤博, 川口知哉, 平田一人. 稀な EGFR 遺伝子変異を有する肺癌の臨床病理学的検討. 第 56 回日本呼吸器学会学術講演会. 2016年4月8日~10日. 国立京都国際会館(京都府・京都市)
- 10 光岡茂樹, 川口知哉, 澤兼士, 吉本直樹, 中井俊之, 岡隆子, 鈴村倫弘, 田中秀典, 松浦邦臣, 浅井一久, 木村達郎, 吉村成央, 金澤博, 平田一人. 当院での肺癌術後化学療法の後方視的検討. 第 56 回日本肺癌学会学術集会. 2015年11月26日~28日. パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)
- 11 Kureya Y, Konishi K, Yamada K, Watanabe T, Uji M, Asai K, Kanazawa H, Hirata K. Global gene expression analyses highlight the role of plasma membrane remodeling as a molecular functions of airway epithelium in response to interleukin-13 treatment. ERS International Congress 2015. 2015年9月9日~13日. アムステルダム(オランダ)
- 12 佐藤佳奈子, 井尻尚樹, 浅井一久, 呉家由子, 杉山由香里, 山田一宏, 玉垣学也, 吉井直子, 渡辺徹也, 小西一央, 棚野吉弘, 鴨井博, 金澤博, 平田一人. 成人喘息の疫学・症状 気管支喘息患者における運動耐容能に関する検討. 第 64 回日本アレルギー学会学術大会. 2015年5月26日~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)
- 13 Shirai A, Asai K, Sugiyama Y, Sato K, Yoshii N, Yamamoto N, Uji M, Watanabe T, Kanazawa H, Hirata K. Relationship

- between maximal inspiratory pressure and six-minute walk distance in patients with chronic obstructive pulmonary disease. ATS International Conference 2015. 2015年5月15日~20日. デンバー(米国)
- 14 Nagayasu F, Konishi K, Ijiri N, Watanabe T, Yamada K, Kureya Y, Asai K, Kamoi H, Kanazawa H, Hirata K. High morbidity group box 1 signaling pathway enhancement augments phosphatase and tensin homolog expression in alveolar epithelium. ATS International Conference 2015. 2015年5月15日~20日. デンバー(米国)
- 15 浅井一久, 金澤博, 平田一人. 喘息・COPDにおける気道系・血管系のリモデリングの相違点と類似点. 治療的な立場から. 第55回日本呼吸器学会学術講演会. 2015年4月17日~19日. 東京国際フォーラム(東京都)
- 16 松浦邦臣, 木村達郎, 中井俊之, 山本典雄, 玉垣学也, 光岡茂樹, 吉村成央, 川口知哉, 金澤博, 平田一人. COPD合併肺癌の臨床的背景とGoddard分類の関連性. 第55回日本呼吸器学会学術講演会. 2015年4月17日~19日. 東京国際フォーラム(東京都)
- 17 光岡茂樹, 川口知哉, 吉村成央, 吉本直樹, 中井俊之, 岡隆子, 玉垣学也, 渡辺徹也, 松浦邦臣, 浅井一久, 栩野吉弘, 木村達郎, 鴨井博, 金澤博, 工藤新三, 平田一人. 当院での肺癌術後化学療法の後方視的検討. 第55回日本呼吸器学会学術講演会. 2015年4月17日~19日. 東京国際フォーラム(東京都)
- 18 白井敦子, 浅井一久, 佐藤佳奈子, 小原由子, 杉山由香里, 山田一宏, 長安書博, 井尻尚樹, 武田倫子, 吉井直子, 山本典雄, 小西一央, 宇治正人, 玉垣学也, 渡辺徹也, 栩野吉弘, 鴨井博, 金澤博, 平田一人. COPD患者における呼吸筋力の6分間歩行距離への影響. 第55回日本呼吸器学会学術講演会. 2015年4月17日~19日. 東京国際フォーラム(東京都)
- 19 光岡茂樹, 川口知哉, 吉本直樹, 中井俊之, 岡隆子, 玉垣学也, 渡辺徹也, 松浦邦臣, 栩野吉弘, 浅井一久, 木村達郎, 吉村成央, 鴨井博, 金澤博, 平田一人. 当院で経験したクリゾチニブによると考えられる重篤な副作用を認めた3症例. 第55回日本肺癌学会学術集会. 2014年11月14日~16日. 国立京都国際会館(京都府・京都市)
- 20 Takeda N, Asai K, Ijiri N, Sirai A, Watanabe T, Kamoi H, Kanazawa H, Hirata K The impact of particulate matter with their diameters less than 2.5µm (PM2.5) levels on emergency department visits with respiratory complications in Osaka. 19th Congress of the APSR. 2014年11月13日~16日. バリ(インドネシア)
- 21 浅井一久, 栩野吉弘, 鴨井博, 金澤博, 平田一人. 呼吸器疾患における栄養管理. 栄養障害の病態と予後 COPD とやせ. 第24回日本呼吸ケア・リハビリテーション学会学術集会. 2014年10月24日~25日. なら100年会館(奈良県・奈良市)
- 22 Yamada K, Asai K, Ohara Y, Sugiyama Y, Shirai A, Sato K, Yamamoto N, Tamagaki G, Watanabe T, Konishi K, Tochino Y, Uji M, Kanazawa H, Hirata K. The effect of smoking on phosphoinositide 3-kinase (PI3K) and phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10 (PTEN) mRNA expression in human airway epithelial cells. ERS International Congress 2014. 2014年9月6日~10日. ミュンヘン(ドイツ)
- 23 Ijiri N, Kanazawa H, Kinoshita Y, Nagayasu F, Yamamoto N, Yamada K, Watanabe T, Imahashi Y, Asai K, Tochino Y, Uji M, Kyoh S, Kamoi H, Hirata K. Evaluation of the value of irisin levels in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients. ATS International Conference 2014. 2014年5月16日~21日. サテ'イコ(米国)
- 24 井尻尚樹, 金澤博, 山田一宏, 吉井直子, 長安書博, 今橋由美子, 浅井一久, 栩野吉弘, 姜成勲, 鴨井博, 平田一人. COPD患者における血中アイリシン濃度測定の有用性の検討. 第54回日本呼吸器学会学術講演会. 2014年4月25日~27日. 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
- 25 今橋由美子, 金澤博, 井尻尚樹, 山田一宏, 吉井直子, 長安書博, 玉垣学也, 浅井一久, 栩野吉弘, 姜成勲, 鴨井博, 平田一人. 強制オシレーション法を用いた気管支喘息患者の気道過敏性に関する因子の検討. 第54回日本呼吸器学会学術講演会. 2014年4月25日~27日. 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
- 26 中井俊之, 玉垣学也, 吉本直樹, 井尻尚樹, 吉井直子, 今橋由美子, 栩野吉弘, 浅井一久, 鴨井博, 金澤博, 工藤新三, 平田一人. 当院で施行されたEBUS-TBNA13例の検討. 第54回日本呼吸器学会学術講演会. 2014年4月25日~27日. 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
- 27 長安書博, 平田一人, 金澤博, 浅井一久, 栩野吉弘, 渡辺徹也, 玉垣学也, 今橋由美子, 吉井直子, 山田一宏, 井尻尚樹. 喘息悪化の関わる合併症・COPD

気管支喘息を合併した慢性閉塞性肺疾患患者の臨床的検討. 第 54 回日本呼吸器学会学術講演会. 2014 年 4 月 25 日 ~ 27 日. 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

〔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

金澤 博 (KANAZAWA, Hiroshi)
大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：90332957

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()