

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26461189

研究課題名(和文) 気道炎症における核内受容体RXR選択的パーシャルアゴニストの効果と作用機序の解明

研究課題名(英文) Effect of a retinoid X receptor partial agonist on airway inflammation, airway hyperresponsiveness, and emphysema.

研究代表者

金廣 有彦 (KANEHIRO, ARIHIKO)

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：20243503

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：気管支喘息及び慢性閉塞性肺疾患(COPD)は気道の慢性炎症性疾患であるがメカニズムは複雑で治癒を目指す治療薬は未だ開発されていない。我々は喘息及び肺気腫マウスモデルを作製後レチノイドX受容体(RXR)パーシャルアゴニスト(NEt-41B)を経口投与し、種々の気道炎症に対する効果を検討した。本剤は喘息モデルにおいて抗原特異的気道過敏性の亢進及び好酸球性気道炎症を有意に抑制し、またエラストラーゼ経気道投与及びタバコ煙抽出液誘発肺気腫モデルにおける好中球性気道炎症及び気腫性変化を有意に抑制した。本研究によりRXRパーシャルアゴニストは喘息及びCOPDに対する新たな治療戦略となり得る可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Oral administration of a novel Retinoid X receptor (RXR) partial agonist (NEt-41B) significantly suppressed airway hyperresponsiveness, inflammatory cell accumulation in the airways, and attenuated the levels of TNF- α in the lung, and IL-5, IL-13 and NO levels in bronchoalveolar lavage fluid, and goblet cells hyperplasia and NF- κ B expression in lung tissue in a murine model of asthma. Furthermore, in a porcine pancreas elastase (PPE)- and cigarette smoke extract (CSE)-induced emphysema model, treatment with NEt-41B significantly suppressed the emphysematous changes and neutrophilic airway inflammation, proteinase/anti-proteinase imbalance, and increased anti-oxidant activity. These data suggest that RXRs may play crucial roles in the mechanism of airway inflammation, airway hyperresponsiveness, and emphysematous change, and the novel RXR partial agonist NEt-41B may be a promising candidate for the treatment of asthma and COPD.

研究分野：呼吸器・アレルギー内科学

キーワード：気管支喘息 肺気腫 COPD 好酸球性気道炎症 好中球性気道炎症 レチノイドX受容体 レチノイドX受容体パーシャルアゴニスト 核内受容体

1. 研究開始当初の背景

気管支喘息は、気道過敏性の亢進と慢性のアレルギー気道炎症が特徴であり、IL-4、IL-5、IL-13 などの Th2 サイトカインを分泌する抗原特異的 CD4T 細胞がその中心的役割を担っていると考えられてきた。これまで申請者らは種々の喘息モデルを作製し、世界ではじめて $\gamma\delta$ T 細胞が気道過敏性を制御している可能性を *Nature Med* (1999;5:1150-1156)に報告し、さらに CD4T 細胞だけでなく、CD8T 細胞が IL-13 を産生し気道過敏性とアレルギー性気道反応に促進的に働くことを世界ではじめて明らかにした。また、申請者らは重症喘息のモデルとして気道リモデリングマウスモデルを作製し、再生治療としての hepatocyte growth factor の有効性を世界ではじめて報告した (*Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;32:268-280. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006;35:366-377. *Int Arch Allergy Immunol* 2008;145:324-339)。近年、好酸球性気道炎症のみでなく、重症化の機序にステロイド薬の効果が認められないアレルギー性好中球性気道炎症が重要な役割を果たしている可能性について研究を行い、*Am J Respir Cell Mol Biol* 2014;50:18-29. 2014. *Respir Res* 2013;14:5. *Respir Res* 2013;14:8. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011;45:851-857. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011;45:1248-1255.等に報告してきた。

レチノイド X 受容体 (RXR) は DNA の転写を調節する転写因子の一種である核内受容体であり、リガンド依存的に転写を調節する。RXR は遺伝子発現に関与しており、ホモダイマーもしくは他の核内受容体であるペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 γ (PPAR γ)、肝 X 受容体 (LXR)、レチノイド受容体 (RAR)、ビタミン D 受容体 (VDR) 等とヘテロダイマーを形成し作用を発揮することが知られている。したがって、RXR アゴニストによってヘテロダイマーを活性化すれば相加的な

作用が期待出来るが、高濃度で RXR を完全に活性化するフルアゴニストは受容体の活性過多に由来したホメオスタシスの破綻による副作用を起こす可能性が高い。今回研究に使用する核内受容体 RXR 選択的パーシャルアゴニストは世界ではじめての転写調節化合物であり、本研究により RXR とヘテロダイマーを同時に、かつパーシャルに活性化することで喘息の完全な制御が期待できる。一方、COPD はタバコ煙や有害物質を吸入曝露することで生ずる肺の炎症性疾患であり、有病率や死亡率は今後さらに増加することが予想されているが、COPD における気道炎症の本体は解明されておらず、現在の治療の中心は長時間作用性抗コリン薬および β 2 刺激薬に代表される吸入気管支拡張薬であり、治癒を目指す治療薬は未だ開発されていない。

2. 研究の目的

気管支喘息はアレルギー性気道炎症と気道過敏性の亢進を特徴とするが、近年高齢化とともに高齢者喘息の増加と気道のリモデリング形成による非可逆性の重症・難治性喘息症例が増加している。これまで考えられていた Th2 リンパ球、好酸球を中心とした好酸球性気道炎症のみでなく、重症化の機序にステロイド薬の効果が認められない好中球性気道炎症が重要な役割を果たしている可能性が考えられるが、そのメカニズムは非常に複雑で未だ明らかではない。核内受容体 RXR 選択的パーシャルアゴニストは世界ではじめてのパーシャル転写調節化合物であり、これまで国内外において喘息の発症、難治化における詳細な検討はなされておらず、世界に類を見ない独創的な研究である。本研究により RXR と効果の期待できるいくつかのヘテロダイマーを同時に活性化するパーシャルアゴニストの効果及び作用機序が明らかとなれば、喘息の難治化の制御のみでなく喘息の発症を予防する

ことが可能となる。一方、COPD の発症機序や増悪機序は未だ明らかでなく、治療も吸入気管支拡張薬を中心とした対症療法であり、早急なメカニズムの解明と気道炎症をコントロール可能な新規治療薬の開発が望まれている。RXR 選択的パーシャルアゴニストの COPD に対する作用機序が明らかとなれば、COPD の気道炎症および増悪機序の解明のみでなく重症化の制御や発症を予防できる可能性があり、本研究は COPD による死亡ゼロの達成を視野にいたした極めて重要な研究である。

3. 研究の方法

(1) 各種喘息マウスモデルの作製と気道炎症の評価

すでに申請者らのグループにより確立された喘息及び気道リモデリングプロトコルを基本として、種々の欠損マウスなどに卵白アルブミン(OVA)で感作、曝露した喘息モデル及び曝露後 OVA にて 4 週間持続曝露し重症喘息マウスモデルを作製し、気道過敏性、コンプライアンス、BALF 中の炎症細胞数やサイトカイン、ケモカイン、肺内 CD4、CD8 T 細胞数、増殖因子およびロイコトリエンレベルの測定、また気道粘膜下結合組織の線維化、気道平滑筋の増殖肥厚など肺組織の病理学的検討を行う。肺機能はマウスに気管内挿管後吸入メサコリンに対する lung resistance/dynamic compliance を dose-dependent かつ time course-dependent にコンピューター処理による解析装置 (Scireq 社: FlexiVent) にて詳細に検討する。これらのマウスモデルに RXR 選択的パーシャルアゴニストである NEt-4IB あるいは CBt-TMN の 0.0015%、0.005%、0.015% 混合餌飼料を経口投与し (OVA 感作前あるいは OVA 吸入曝露中あるいは OVA 曝露後)、上記アレルギー性炎症、肺機能、肺組織を詳細に比較評価する。また今後の臨床応用を考慮し、RXR フルアゴニスト (Bexarotene) の効果及び副作用

(肝脾腫大、血糖や脂質等への影響)と比較検討する。さらにこれらのマウスモデルに anti-17 mAb、anti-22 mAb、anti-23 mAb 等の抗体や RAGE のリガンドである抗 HMGB1 抗体、可溶性 RAGE などを投与しアレルギー性気道炎症、とくに好中球性気道炎症のメカニズムを解明し、さらに RXR 選択的パーシャルアゴニストの作用機序を明らかにする。これらの研究は他のグループには追従できない世界最先端の研究である。

(2) RXR とヘテロダイマーを形成する種々の核内受容体の役割の相違についての検討

RXR は他の核内受容体 (PPAR- γ , LXR, RAR, VDR, NR4 等) とヘテロダイマーを形成し、ダイマー構造を構築することで作用することが知られているが、ヘテロダイマーを形成するそれぞれの核内受容体のアレルギー性炎症に対する効果についてこれまで同モデルでの検討はなされていない。今回申請者らのプロトコルにおける各核内受容体の役割の相違について、既存の核内受容体のアゴニストを投与し、アレルギー性気道炎症に対する効果、副作用及びメカニズムについて、RXR 選択的パーシャルアゴニストの抑制効果と比較検討する。

(3) 申請者らが確立した豚豚エラストーゼ (PPE) 経気道投与モデル及びタバコ煙抽出液 (CSE) の経気道あるいは腹腔内投与モデル、さらに長期喫煙曝露モデルにおいて呼吸機能とくに静肺コンプライアンス、好中球性気道炎症、さらに肺組織平均肺胞壁間距離 (MLI) 等に対する RXR 選択的パーシャルアゴニストの抑制効果を詳細に検討する。

4. 研究成果

我々の気管支喘息における RXR 選択的パーシャルアゴニストの効果と作用機序についての研究により、その結果を Effect of a retinoid X receptor partial agonist on airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine model of asthma. として *Respir Res*

2017;18:23.に報告した。具体的には、RXR 選択的パーシャルアゴニストは OVA 抗原特異的気道過敏性の亢進、BALF 中のリンパ球、好酸球などの炎症細胞や IL-5、IL-13 などの Th2 サイトカインおよび一酸化窒素 (NO)、また血清中抗原特異的 IgE のみでなく肺組織中 TNF- α や NF- κ B を有意に抑制することを明らかにした。本研究により核内受容体 RXR と RXR/ヘテロダイマーのパーシャルなアゴニスト活性によりアレルギー性気道炎症が有意に制御されることが示唆されたが、肺組織中 TNF- α や NF- κ B に対する抑制効果は吸入ステロイド薬には認められない効果であり、好中球性気道炎症や COPD の機序においても RXR 選択的パーシャルアゴニストが有用な抑制効果を示す可能性が示唆された。我々が作成した豚豚エラストラーゼ経気道投与モデル及びタバコ煙抽出液の経気道あるいは腹腔内投与モデルにおいて、RXR 選択的パーシャルアゴニストは呼吸機能とくに静肺コンプライアンス、肺組織平均肺胞壁間距離等を有意に抑制し、BALF 中の肺胞マクロファージや好中球、KC、IL-17、CXCL5、IFN- γ レベル、また MMP-9/TIMP-2 ratio は有意に抑制され、さらに抗酸化活性は有意に増強されることを明らかにした。本研究により RXR 選択的パーシャルアゴニストは喘息及び肺気腫に対する有意な抑制効果を有することが明らかとなり、今後患者数の増加が想定されている喘息と COPD の合併疾患である ACO (asthma-COPD overlap) に対しても新たな治療戦略となる可能性が考えられる。本研究においてフルアゴニストで発現した副作用はパーシャルアゴニストでは全く認められなかった。

5 . 主な発表論文等

[英文雑誌論文] (計 13 件)

- 1) Oda N, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Severe asthma concomitant with allergic bronchopulmonary aspergillosis successfully treated with mepolizumab. *Allergol Int* 2018. *in Press*. doi: 10.1016/j.alit.2018.03.004. 査読有
- 2) Taniguchi A, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Protective Effects of bisoprolol against acute exacerbation in moderate-to-severe chronic obstructive pulmonary disease. *Acta Med Okayama* 71:453-457. 2017. doi: 10.18926/AMO/55446. 査読有
- 3) Oda N, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Long-term effects of beta-blocker use on lung function in Japanese patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J COPD* 12: 1119-1124. 2017. doi: 10.2147/COPD.S133071. 査読有
- 4) Fujii U, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Effect of a retinoid X receptor partial agonist on airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine model of asthma. *Respir Res* 18:23. 2017. doi: 10.1186/s12931-017-0507-z. 査読有
- 5) Oda N, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Pneumocystis pneumonia concomitant with ectopic ACTH syndrome caused by a large cell neuroendocrine carcinoma of the thymus. *Intern Med* 56:551-555. 2017. doi: 10.2169/internalmedicine.56.7655. 査読有
- 6) Fujii U, Miyahara N, Kanehiro A, et al. IL-23 is essential for the development of elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema. *Am J Respir Cell Mol Biol* 55:697-707. 2016. DOI:10.1165/rcmb.2016-0015OC. 査読有
- 7) Makimoto G, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Heerfordt's Syndrome Associated with a High Fever and Elevation of TNF- α . *Acta Med Okayama* 70:273-277. 2016. doi:10.18926/AMO/54503. 査読有

- 8) Takeda K, Miyahara N, Gelfand EW, et al. Immunomodulatory Effects of Ambroxol on Airway Hyperresponsiveness and Inflammation. *Immune Netw.* 16:165-175. 2016. doi: 10.4110/in.2016.16.3.165. 査読有
- 9) Taniguchi A, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Contrasting roles for the receptor for advanced glycation end-products on structural cells in allergic airway inflammation vs. airway hyperresponsiveness. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 309: L789-800. 2015. doi: 10.1152/ajplung.00087. 査読有
- 10) Waseda K, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Emphysema requires the receptor for advanced glycation end products triggering on structural cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 52:482-491. 2015. doi: 10.1165/rcmb.2014-0027OC. 査読有
- 11) Morichika D, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Invasive mucinous adenocarcinoma mimicking organizing pneumonia associated with Mycobacterium fortuitum infection. *Intern Med* 53:2795-2799. 2014. doi.org/10.2169/internalmedicine.53.2783. 査読有
- 12) Ueno-Iio T, Kanehiro A, et al. Lavender essential oil inhalation suppresses allergic airway inflammation and mucous cell hyperplasia in a murine model of asthma. *Life Sci* 108:109-115. 2014. doi: 10.1016/j.lfs.2014.05.018. 査読有
- 13) Ikeda G, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Effect of a cysteinyl leukotriene receptor antagonist on experimental emphysema and asthma combined with emphysema. *Am J Respir Cell Mol Biol* 50:18-29. 2014. doi: 10.1165/rcmb.2012-0418OC. 査読有
- [和文雑誌論文](計8件)
- 1) 谷口暁彦、金廣有彦. 呼吸器疾患と慢性炎症. 喘息と COPD の研究モデル. 別冊 BIO Clinica 6:27-32.2017 査読無
- 2) 金廣有彦. Yellow nail 症候群. *Respiratory Medicine 呼吸器内科* 31:68-71.2017. 査読有
- 3) 金廣有彦. 実地医家はどのように最新治療を実践すべきか.喘息における課題への対応.喘息と COPD のオーバーラップ. *Medical Practice* 33:1986-1992.2016. 査読有
- 4) 金廣有彦. BRONCHIAL ASTHMA AND LIFE ENVIRONMENT. XIX.加齢・生活習慣とアレルギー. *アレルギー* 64:1117-1126. 2015. doi: 10.15036/arerugi.64.1117. 査読有
- 5) 金廣有彦. 喘息に影響する種々の側面とその課題をめぐって. 修飾因子の種々の側面を考慮した治療. 心不全. *Progress in Medicine* 34:1055-1059. 2014. 査読有
- 6) 古賀 光、宮原信明、金廣有彦、谷本光音. アレルギー性喘息に対するオマリズマブの効果についての検討:EXTRA 試験におけるバイオマーカー解析. *日本胸部臨床* 73: 358-360. 2014. 査読有
- 7) 金廣有彦. 喘息予防・管理ガイドライン 2015 (共著).協和企画、東京、2015. 査読有
- 8) 金廣有彦. 呼吸療法・呼吸管理における 5years 文献レビュー2009-2013 (共著)、91-104. 克誠出版株式会社、東京、2014. 査読無
- [学会発表](計12件)
- 1) Morichika D, Kanehiro A, Miyahara N, et al. Effect of a Retinoid X Receptor partial agonist on the development of emphysema and airway inflammation in a murine model of emphysema. American Thoracic Society International Conference 2017. 5/30/2017. Washington, D.C.
- 2) Fujii U, Miyahara N, Kanehiro A, et al. IL-23 is essential to the development of elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema. European Respiratory Society Annual Congress 2016. 9/3/2016. London.
- 3) Minami D, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of hilar and

- mediastinal lymph nodes detected on 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography. American Thoracic Society International Conference 2016. 5/16/2016. San Francisco.
- 4) Fujii U, Kanehiro A, Miyahara N, et al. Treatment with Retinoid X Receptor partial agonist attenuates eosinophilic inflammation and airway hyperresponsiveness. American Thoracic Society International Conference 2016. 5/16/2016. San Francisco.
- 5) Fujii U, A. Kanehiro A, Miyahara N, et al. Effect of Retinoid X Receptor partial agonist on airway inflammation and hyperresponsiveness. European Respiratory Society Annual Congress 2015. 9/29/2015. Amsterdam.
- 6) Fujii U, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Importance of IL-23 to the development of elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema. American Thoracic Society International Conference 2015. 5/18/2015. Denver.
- 7) Taniguchi Y, Miyahara N, Kanehiro A, et al. Allergen-induced airway inflammation requires the receptor for advanced glycation end-products triggering on airway structural cells. American Thoracic Society International Conference 2014. 5/18/2014. San Diego.
- 8) 金廣有彦 . 重症気管支喘息における IgE の役割を再考する . 重症喘息の病態と抗体製剤の可能性. 第 58 回日本呼吸器学会学術講演会. 2017 年 4 月 21 日. 東京国際フォーラム. 東京.
- 9) 金廣有彦 . 難治性喘息の個別化治療: 新規抗喘息薬の有用性と展望. 非好酸球性気道炎症. 第 57 回日本呼吸器学会学術講演会. 2016 年 4 月 9 日. 国立京都国際会館. 京都.
- 10) 谷口暁彦, 宮原信明, 金廣有彦 他 . マウスアレルギー性気道炎症モデルにおける

終末糖化産物受容体 (RAGE) の役割. 第 54 回日本呼吸器学会学術講演会. 2014 年 5 月 25 日. 大阪国際会議場. 大阪.

- 11) 尾長谷靖, 金廣有彦, 宮原信明 他 . QOL 調査を用いた難治性喘息患者に対するオマリズマブの有効性の検討—岡山重症喘息研究会多施設研究 . 第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2014 年 5 月 9 日. 国立京都国際会館. 京都.
- 12) 金廣有彦, 宮原信明 . アレルギー性気道炎症における好中球の役割とその制御 . 第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2014 年 5 月 10 日. 国立京都国際会館. 京都.

〔産業財産権〕

○取得状況 (計 1 件)

名称 : Medicinal composition for preventing or treating inflammatory respiratory disease (炎症性呼吸器疾患の予防又は治療用医薬組成物)

発明者 : 金廣有彦, 加来田博貴, 宮原信明, 藤井詩子, 谷口暁彦, 森近大介, 小田尚廣

権利者 : 同上

種類 : 特許

番号 : PCT/JP2016/76554

取得年月日 : 2016 年 9 月 9 日

国内外の別 : 国外

6 . 研究組織

研究組織

(1) 研究代表者

金廣有彦 (KANEHIRO ARIHIKO)

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号 : 20243503

(2) 研究分担者

宮原信明 (MIYAHARA NOBUAKI)

岡山大学・保健学研究科・教授

研究者番号 : 70335610