

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007 年度～2008 年度

課題番号：19790685

研究課題名 (和文) 気管支喘息における I $\kappa$ B キナーゼ $\beta$ の役割と分子標的治療への展開研究課題名 (英文) Role of I $\kappa$ B kinase  $\beta$  in pathogenesis of bronchial asthma

研究代表者 小川 博久 (OGAWA HIROHISA)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教

研究者番号：50403754

## 研究成果の概要：

気管支喘息での主体であるアレルギー性気道炎症では、転写因子 NF- $\kappa$ B の活性化が関与しているといわれており、今回 NF- $\kappa$ B の活性化に関与する I $\kappa$ B キナーゼ $\beta$  (IKK $\beta$ ) の阻害剤である IMD-0354 を用いて抗原感作、気道過敏性、アレルギー性気道炎症、神経原生炎症に対する抑制効果について検討した。IMD-0354 投与により気道過敏性は減少した。組織中の好酸球数浸潤や Th2 サイトカイン、神経成長因子産生は減少した。またこの薬剤を抗原感作前に投与しても同様の結果を得た。以上から IKK $\beta$  は気管支喘息に重要な役割を果たしており、この阻害薬は新たな喘息治療薬となる可能性があると考えられた。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,100,000	0	1,100,000
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	600,000	3,700,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー・感染症内科学

キーワード：アレルギー学

## 1. 研究開始当初の背景

気管支喘息は好酸球浸潤や気道過敏性亢進で特徴づけられる気道炎症性疾患である。IL-4, IL-5 などの Th2 サイトカインやヒスタミン、ロイコトリエンなどのメディエーターが気道

に放出されることがアレルギー性炎症の主体であり、これらサイトカイン産生は転写調節因子である NF- $\kappa$ B により制御されていることが知られている。このことから、NF- $\kappa$ B を制御することは気管支喘息コントロールにおいて重要であ



ると考えられる。本研究ではNF- $\kappa$ Bを制御する目的で、I $\kappa$ Bキナーゼ $\beta$ （以下IKK $\beta$ ）とIMD-0354というIKK $\beta$ の酵素活性を抑制する低分子化合物に注目した。

NF- $\kappa$ BはI $\kappa$ Bと複合体を形成し、不活性型で細胞質に存在する。IKK $\beta$ はNF- $\kappa$ Bと結合しているI $\kappa$ Bをリン酸化させ、NF- $\kappa$ Bとの結合を解除しNF- $\kappa$ Bを活性化させることが知られている。このIKK $\beta$ をIMD-0354で抑制することにより、I $\kappa$ Bリン酸化が抑制されI $\kappa$ B-NF- $\kappa$ B複合体が分離できなくなり、NF- $\kappa$ B活性化が抑制される。IMD-0354の治療研究ではIKK $\beta$ を抑制することにより、ラットモデルでの心筋の虚血性障害の改善(Cardiovas Res, 2004)、糖尿病におけるadiponectin産生の改善(Biochem Biophys Res Commun, 2004)などが報告されている。

呼吸器領域では当科、肺線維症研究グループの稲山らが、Bleomysin肺線維症モデルへのIMD-0354投与で、肺線維症や関与するサイトカイン産生が有意に抑制されることを報告している(Am J Respir Crit Care Med, 2006)。

このようにIMD-0354はNF- $\kappa$ Bを介したサイトカイン産生が関与する炎症性疾患に有効であり、気管支喘息においても新規治療戦略になりうると考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究では卵白アルブミンやダニ抗原による気管支喘息モデルに対しIKK $\beta$ 阻害剤IMD-0354を投与し、気道抵抗とアレルギー炎症におけるIKK $\beta$ の役割を解明し、その分子制御による治療法開発の可能性について検討する。IMD-0354投与による気道抵抗値の変化、病理組織中の炎症、リモデリングの変化、Th2サイトカインなどの炎症性サイトカイン産生の変化をとらえ、その気道抵抗減少やリモデリング改善のメカニズムについて明らかにしたいと考える。

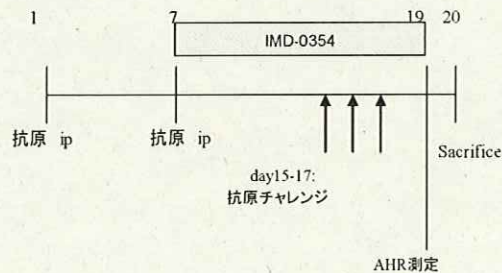
## 3. 研究の方法

1) 下記プロトコルにて喘息モデルを作成

使用マウス: Balb/c

使用抗原: 卵白アルブミン(OVA)

ダニ抗原(Der p1)



2) Plecysmographyにより気道抵抗 (Penh)

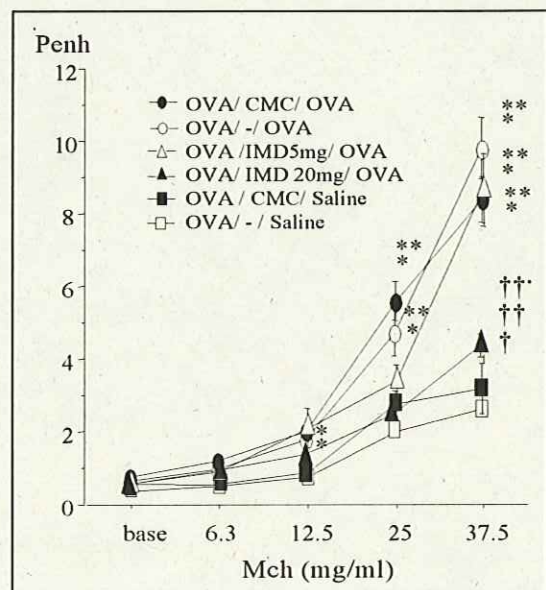
を測定

- 3) Sacrifice後、BALFを回収。組織切片、肺ホモジネートを作成。
- 4) 組織切片はHE染色、Luna(好酸球)染色、PAS染色、などを施行。上記組織変化を喘息群、IMD-0354治療群と比較する。片肺はホモジナイズし、上清を回収保存、沈殿物を回収。
- 5) 肺ホモジネート抽出液沈殿物より核内タンパクを回収、ELISA、EMSAによりNF- $\kappa$ B活性化を測定。
- 6) BALF液中のサイトカイン (IL-1 $\beta$ , 4, 5, 12, 13, GM-CSF, Eotaxin, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) をELISAにて測定。
- 7) 肺ホモジネート抽出液上清を用いサイトカイン (IL-1 $\beta$ , 4, 5, 12, 13, GM-CSF, Eotaxin, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) をELISAにて測定。
- 8) 上記、BALF、ホモジネートを用いてNGF、をELISAで測定する。
- 9) 組織切片を用いNGFの免疫染色を行う。
- 10) 抗原感作前にIMD-0354を投与し、上記パラメータを再検討し、抗原感作におけるIKK $\beta$ の役割を検討する。

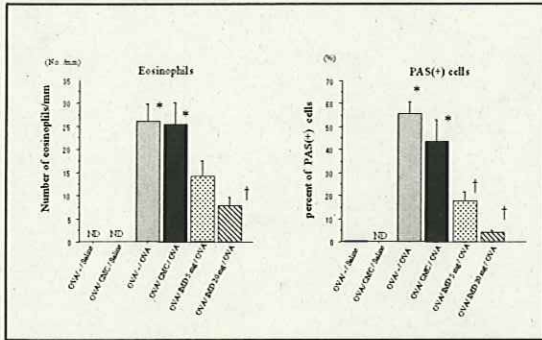
## 4. 研究成果

19年度はIMD-0354投与による気道抵抗値の変化、病理組織中のアレルギー炎症の変化をとらえ、これらのパラメータに対するIKK $\beta$ の役割を明確にした。

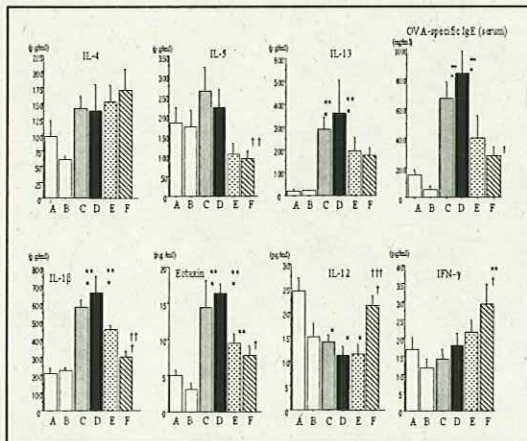
(1): IMD-0354を投与したマウス群では気道抵抗値の減少、気道周囲、および気管支肺胞洗浄液中への好酸球浸潤の低下、気道杯細胞過形成の抑制がみられた。





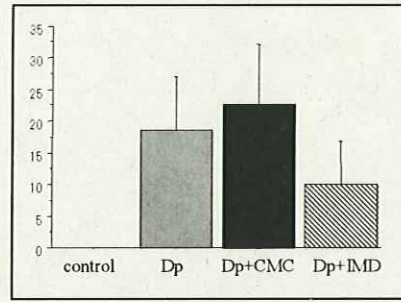


(2): これらの変化はアレルギー性炎症に関与する炎症性サイトカインの産生抑制が関与していると考えられたため、BALF中や肺 homogenate中のTh1, Th2サイトカイン, また eotaxinなどのケモカイン産生量を測定した。IL-5, IL-13などのTh2サイトカイン産生はIMD-0354投与により減少し, eotaxin産生やIgE産生も減少した。一方IL-12やIFN- $\gamma$ などTh1サイトカイン産生はコントロールマウスと同程度まで回復した。

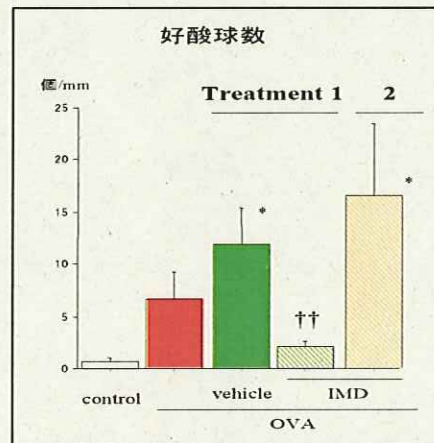
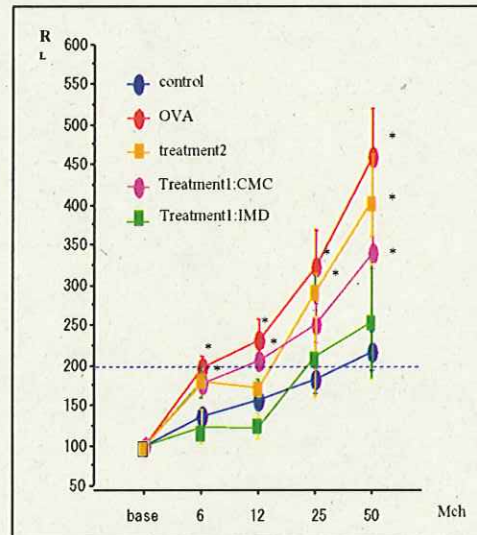


20年度はIMD-0354投与による、神経原性炎症に対する影響について、また抗原感作前にIMD-0354を投与し抗原感作におけるIKK $\beta$ の役割を検討した。

(3): 神経原性炎症に関与するnerve growth factor (NGF)についてはアレルギー性炎症によりBAL中に増加し、IMD-0354投与で減少した。NGFの産生部位は主として気道上皮細胞であり、Dp暴露によって気道上皮NGF陽性細胞数は減少し、IMD-0354投与によって気道上皮NGF陽性細胞数はコントロールマウスと同程度まで回復した。



4): 抗原感作におけるIKK $\beta$ の役割の検討については1回目の感作前にIMD-0354を投与することにより、気道過敏性、好酸球浸潤、Th2サイトカイン産生の増加はみられなかった。



以上から細胞内に移行したIMD-0354は細胞質内のIKK $\beta$ を阻害することにより、NF- $\kappa$ Bの活性化を阻害し、NF- $\kappa$ Bに由来する炎症性サイトカイン産生を抑制し、気管支喘息の気道過敏性亢進や気道アレルギー性炎症、神経原性炎症を抑制する



と考えられた。また抗原感作時にもIKK $\beta$ は重要な役割を果たしていると考えられた。

この成果よりIKK $\beta$ 活性化はアレルギー性炎症の形成、増悪にも関与し、気管支喘息の発症や増悪に重要な役割を果たしていると考えられ、IKK $\beta$ を標的とした気管支喘息治療は有用であると考えられた。

現在IMD-0354は他の疾患（慢性閉塞性肺疾患やアトピー性皮膚炎）で臨床試験が開始されており、この成果から、今後、気管支喘息の治療薬として臨床研究や試験がすすめられる可能性が示唆される。

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 1 件)

Sugita A, Ogawa H, Azuma M, Muto S, Honjo A, Yanagawa H, Nishioka Y, Tani K, Itai A, Sone S. Anti-allergic inflammatory effects of a novel IKK $\beta$  inhibitor, IMD-0354, in a mouse model of allergic inflammation. *Int Arch Allergy Immunol.* 2009. 148:186-98. (査読あり)

[学会発表] (計 4 件)

1. 手塚 敏史, マウス喘息モデルにおける、IKK $\beta$ 阻害剤IMD-0354の抗原感作前投与による影響, 第21回気道病態シンポジウム, 平成21年2月7日, 東京
2. 小川 博久, マウス喘息モデルにおける、抗原感作に対するIKK $\beta$ -NF- $\kappa$ B経路の役割, 第12回アレルギー気道上皮細胞研究会, 平成20年12月6日, 東京
3. 手塚 敏史, マウス喘息モデルにおける、IMD-0354の抗原感作に対する影響についての検討, 第58回日本アレルギー学会総会, 平成20年11月27日, 東京
4. 小川 博久, Administration of an IKK  $\beta$  inhibitor, IMD-0354, suppresses allergic airway inflammation in a mouse model of asthma, American Thoracic society 2007 San Francisco International conference, 平成19年 5月 22日, San Francisco, CA, USA

6. 研究組織

- (1) 研究代表者 小川 博久 (OGAWA HIROHISA)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教  
研究者番号 : 50403754