

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591114

研究課題名(和文)慢性肺気腫症の病態解析とCD40抑制による新規治療法の開発

研究課題名(英文)CD40 in the development of COPD

研究代表者

多田 裕司(Tada, Yuji)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50344990

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：CD40/CD40Lシステムが慢性閉塞性肺疾患の病態に炎症、apoptosisの面に関連している事実を動物モデル(マウス吸入モデルによる病理学的解析)、ヒト血液検体と呼吸機能の観点で明らかにすることができた。将来的にこの系を制御する事で慢性閉塞性肺疾患の治療に結び付けられる可能性を示唆する研究ができた。

研究成果の概要(英文)：We have shown the possible role of CD40/CD40L ligand interaction in the development of chronic obstructive pulmonary disease in the aspects of airway inflammation and apoptosis of alveolar cells including epithelial cells and endothelial cells using animal models. Furthermore, we elucidated the positive interaction of serum level of CD40L and the disease severity of COPD patients. These findings possibly indicate that to command CD40/CD40L system is promising for treatment of COPD in future.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 呼吸器内科学

キーワード：慢性閉塞性肺疾患 COPD

1. 研究開始当初の背景

COPD (慢性閉塞性肺疾患) は慢性の炎症性肺疾患であり、肺だけではなく全身にも炎症が及ぶ疾患と考えられているが、その発症メカニズムはいまだ明らかにはされていない。

免疫の制御や肺胞構成細胞の apoptosis、肺胞上皮細胞や血管内皮細胞、肺血管平滑筋細胞の炎症反応の惹起、血小板の凝固作用に重要な影響を及ぼす CD40 シグナルが慢性肺気腫症の病態形成に関わっている可能性があるが、それを示唆するような実験結果は実験開始当時では細胞株、動物モデルレベルでも証明されていなかった。

こういった背景から私たちは COPD の病態形成モデルとして CD40 シグナルを候補としてその関与の有無を明らかにする研究を行うことにした。

2. 研究の目的

研究目的は CD40/CD40L シグナル系が関与した肺胞構成細胞株 (肺胞上皮細胞 HSAEpiC、肺血管内皮細胞 HPAEC) の炎症反応と apoptosis 誘導がマウス肺に気腫化を誘導するかどうか、また実際にヒト COPD の患者で CD40/CD40L が活性化しているかどうかを検証する事である。

3. 研究の方法

マウスに抗 CD40 抗体を、抗 Fas 抗体、もしくは IFN- γ を個別に、もしくは組み合わせで同時に吸入させて気管支肺胞洗浄液を回収、肺病理組織を解析した。肺胞洗浄液は BioPLEX で複数の炎症性サイトカイン、ケモカインの濃度を測定した。またマウス肺の病理組織を apoptosis (TUNNEL 法)

炎症細胞の評価、気腫化の評価、免疫染色等を施行し、CD40 をはじめとするこれらの物質の刺激が、単独、または併用によって炎症惹起、apoptosis 誘導にどのように関与しているかどうかを明らかにした。また千葉大学医学部附属病院に通院中の COPD 患者、対照群として Healthy Smoker (喫煙者ではあるが COPD の基準を満たさない群) から回収した血清、血漿中の soluble CD40L 濃度を測定した。また同患者群の CT 肺気腫、呼吸機能と Soluble CD40L に相関がみられるかどうかを解析した。

4. 研究成果

マウスに抗 CD40 抗体を、抗 Fas 抗体、もしくは IFN- γ と同時に吸入させて気管支肺胞洗浄液を回収、肺病理組織を解析した。結果的には CD40/CD40L シグナルが Fas 依存性 apoptosis を亢進させる、IFN- γ 依存性 Th1 免疫反応を亢進させ CCR5 ケモカインの発現を誘導するという 2 つの経路でマウス肺に著明な気腫化を誘導した。

またヒト COPD 患者の血清を回収して、血清 soluble CD40L 濃度を Healthy smoker と比較したところ、COPD 患者群で有意差を持って上昇していた (図 1)。

さらに血清中の soluble-CD40L 濃度は、呼吸機能検査での閉塞性障害の程度および HRCT スキャンで測定した肺野の LAA (低吸収域範囲) と相関していた (図 2, 3)。

以上の研究成果から CD40/CD40L システムは、マウスでもヒトでも気腫肺の形成に深く関与している事が示唆された。

これら結果を総括すると CD40/CD40L シグナルを制御できる治療法が開発されれば、COPD の病態進行を抑制できる可能性があることが示唆された (図 4)。

図 1

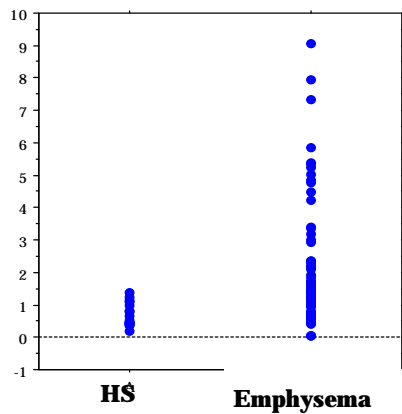


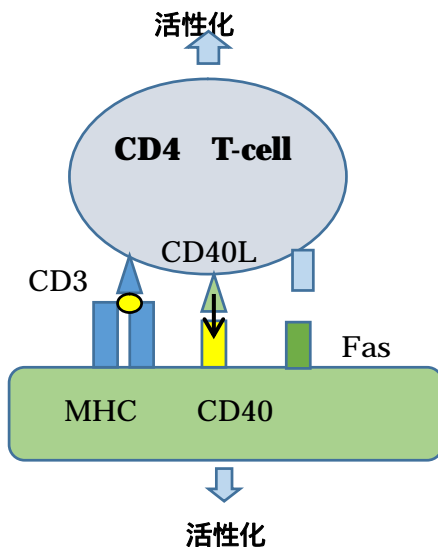
図 2

	Emphysema(n=69)	
	SRC	p-value
%1秒量	-0.656	<.0001
Pack Year	0.14	0.12

図 3

	Emphysema(n=69)	
	SRC	p-value
LAA score	0.51	<.0001
Pack Year	0.11	0.32

図 4



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3件)

Quantitative assessment of cross-sectional area of small pulmonary vessels in patients with COPD using inspiratory and expiratory MDCT. Matsuura Y, Kawata N, Yanagawa N, Sugiura T, Sakurai Y, Sato M, Iesato K, Terada J, Sakao S, Tada Y, Tanabe N, Suzuki Y, and Tatsumi K. Eur J Radiol. 82(10) 1804-1810 (2013).

Metabolomic analysis of bone morphogenetic protein receptor type 2 mutations in human pulmonary endothelium reveals widespread metabolic reprogramming. Fessel JP, Hamid R, Wittmann BM, Robinson LJ, Blackwell T, Tada Y, Tanabe N, Tatsumi K, Hemnes AR, and West JD. Pulm Circ. 2(2):201-13 (2013).

CD40 amplifies Fas-mediated apoptosis:a mechanism contributing emphysema. Shigeta A, Tada Y, Wang JY, Ishizaki S, Tsuyusaki J, Yamauchi K, Kasahara Y, Iesato K, Tanabe N, Takiguchi Y, Sakamoto A, Tokuhisa T, Shibuya K, Hiroshima K, West J, and Tatsumi. Am J Physiol Lung Cell Mol

Physiol. 303(2):L141-151(2012).

〔学会発表〕(計 4 件)

可溶性 CD40 リガンド濃度と COPD 重症度の相関

重田文子、多田裕司、家里憲、笠原靖紀、滝口裕一、田邊信宏、巽浩一郎
第 53 回日本呼吸器学会総会 2013 年、4 月 21 日、東京

慢性肺気腫症の発症における

CD40/CD40L システムの関与
多田裕司、重田文子、石崎俊介、露崎淳一、山内圭太、笠原靖紀、田邊信宏、滝口裕一、坂本明美、徳久剛史、渋谷和俊、廣島健三、James West、巽浩一郎
第85 回閉塞性肺疾患研究会
2012 年7月21日、東京

High concentration of plasma soluble CD40 ligand is associated with impaired lung function and alveolar structural destruction

Shigeta A, Tada Y et al.
American Thoracic Society International Conference.
2012 年 5 月 18 日、サンフランシスコ 米国

IFN γ ・Fas 抗体反復気管内投与による肺気腫モデルマウスの作成

重田文子、多田裕司、川田奈緒子、巽浩一郎
第 34 回日本呼吸器内視鏡学会学術集会、2011 年 6 月 17 日 浜松市

〔図書〕(計 3 件)

Annual Review 呼吸器疾患 中外医学社 2014 年

気腫肺形成における CD40 の関与
重田文子、多田裕司

Respiratory medical research 先端医学社 2014 年 Vol.2 No 1

特集 日本呼吸器学会 COPD ガイドライン第 4 版を読み解く

併存症とその対応 巽浩一郎、川田奈緒子、寺田二郎、坂尾誠一郎、多田裕司

内科 2014 年 南江堂 特集 ;COPD 治療の新時代 PEACE 研究 巽浩一郎、川田奈緒子、寺田二郎、坂尾誠一郎、多田裕司

〔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
多田 裕司 (Tada, Yuji)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50344990

(2) 研究分担者

笠原 靖紀 (Kasahara, Yasunori)

千葉大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60343092

(3) 連携研究者

()

研究者番号：