

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：16401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790588

研究課題名(和文) インジウム肺発生機序におけるエピジェネティック制御の関与の検討

研究課題名(英文) Investigation of involvement of epigenetic regulation in pathogenic mechanism of indium lung

研究代表者

栄徳 勝光 (EITOKU, Masamitsu)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：50552733

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：国内外で10例報告されているインジウム肺のマウスモデルを研究室単位で実施可能な気管内投与方法によって確立し、急性症状である肺胞蛋白症の再現に成功した。RNA-Seqによる網羅的な遺伝子発現解析により、慢性期の変化である間質性変化を示すマーカー遺伝子の発現も確認された。インジウム肺における遺伝子発現プロファイルを明らかにしたことで、今後の治療法の開発の指針を示す重要な手がかりを得ることができたといえる。また、気管内投与方法によるインジウム肺マウスモデルの確立により、今後のインジウム肺の研究の促進が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Intratracheal instillation of indium oxide successfully caused indium lung in mice. Lung tissues of mice with indium lung revealed feature of pulmonary alveolar proteinosis. Comprehensive analyses of gene expression by RNA-Seq exhibited that the markers for interstitial abnormalities were expressed in indium exposed mice group. These results may provide a clue for the therapeutic development of indium lung. The indium mice model developed by intratracheal instillation method contributes the proceeding of future research in indium lung.

研究分野：産業医学

キーワード：インジウム化合物 産業医学 エピジェネティクス 呼吸器炎症

1. 研究開始当初の背景

国内外で 10 例報告されているインジウム肺は、その臨床像は急性期に肺胞蛋白症を、慢性期以降に間質性肺炎や肺線維症等の間質性肺疾患が認められている。インジウム肺の診断は、画像診断、病理診断を用いてなされ、血清中の肺胞蛋白症、間質性肺炎等のマーカーの発現が調べられているが、その遺伝子発現変化の全容はよく分かっていない。

2. 研究の目的

インジウムの粉じん曝露によって生じる多様で複雑な病態の理解に向けて、本研究ではインジウム肺マウスの肺組織における遺伝子発現プロパティの解明を目指した。

3. 研究の方法

10mg/kg の酸化インジウム (In₂O₃) を C57BL/6 の 8 週齢オスマウスに週 2 回 8 週間投与し、投与終了後 4 週間経過後に肺を摘出し、病理解析を行った (図 1)。

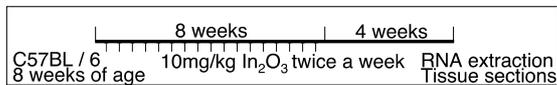


図 1 . インジウム肺マウスモデル系構築スキーム

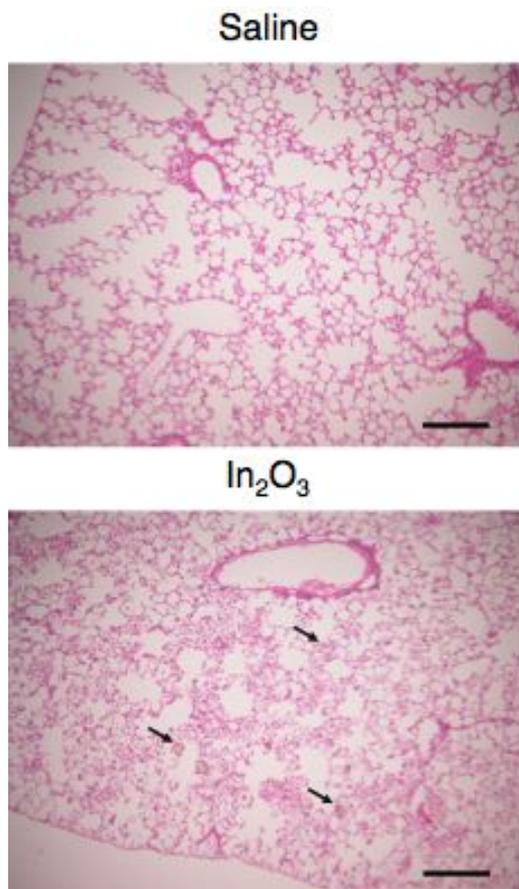


図 2 . In₂O₃ 気管内投与後の肺組織画像

病理解析の結果、肺胞蛋白症の特徴である肺胞内への PAS 陽性沈着物の蓄積が認められた個体について (図 2) 摘出した肺から total RNA を抽出し、RNA-Seq による網羅的な遺伝子発現解析を行った (表 1)。

表 1 . RNA-Seq 結果の概要

Sample	Index	Reads	Called Bases (Mbp)	%Q30	Average Quality
1	Saline TGACCA	43,860,500	4,430	88.26	35.11
2	Saline ACAGTG	38,657,052	3,904	88.10	35.07
3	Saline GCCAAT	37,188,318	3,756	87.92	35.02
4	Saline CAGATC	34,462,488	3,481	88.13	35.08
5	In ₂ O ₃ ACTTGA	46,092,294	4,655	88.20	35.09
6	In ₂ O ₃ GATCAG	43,571,848	4,401	88.01	35.03
7	In ₂ O ₃ TAGCTT	33,791,684	3,413	88.85	35.17
8	In ₂ O ₃ GGCTAC	45,647,376	4,610	87.64	34.91

4. 研究成果

肺胞蛋白症には先天性、後天性の 2 種類があり、後者は更に自己免疫性と続発性との 2 種類が知られている。インジウム肺の症例のうち、自己免疫性肺胞蛋白症を示す症例が 1 例知られているが、関連遺伝子の解析の結果からは、続発性肺胞蛋白症であることが示唆された。一方で、間質性肺炎マーカー KL-6、SP-D、SP-A のマウスホモログである Muc1、Sftpd、Sftpa1 については mRNA レベルでの発現上昇が確認された (図 3)。さらに間質性肺炎の慢性化によって発症する肺線維症の関連遺伝子である組織性メタロプロテアーゼ阻害因子 Timp1 の発現も確認された。これらの結果は、インジウム曝露の病理所見として肺胞蛋白症が見られる一方で、遺伝子発現としては間質性肺炎が進行していることを示唆している。

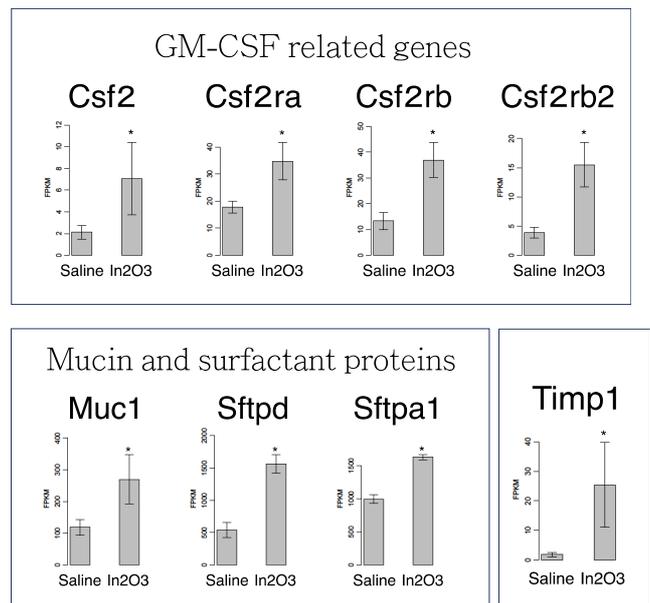


図 3 . RNA-Seq によるインジウム肺関連遺伝子の遺伝子発現解析結果

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 14 件)

Kato H, Hiraki-Kamon K, Eitoku M, Kiyosawa H, Neeley C, Okazaki Y. Exploring standards for industrializing human iPS cells. Pharm Bioprocess, in press. 査読有

Muzembo BA, Mbutshu LH, Ngatu NR, Malonga KF, Eitoku M, Hirota R, Suganuma N. Workplace violence towards Congolese health care workers: a survey of 436 healthcare facilities in Katanga province, Democratic Republic of Congo. J Occup Health. 査読有 2015;57(1):69-80.
DOI:10.1539/joh.14-0111-0A

Muzembo BA, Deguchi Y, Ngatu NR, Eitoku M, Hirota R, Suganuma N. Selenium and exposure to fibrogenic mineral dust: a mini-review. Environ Int. 査読有 2015;77:16-24.
DOI:10.1016/j.envint.2015.01.002

Ngatu NR, Hirota R, Okajima MK, Nangana LS, Muzembo BA, Eitoku M, Wembonyama OS, Kaneko T, Longo-Mbenza B, Suganuma N. Efficacy of leaf extracts of Vernonia amygdalina Del. from central Africa on atopic eczema. Annals of Phytomedicine 査読有 2014;3(1):43-49.

Yanagawa K, Morono Y, Yoshida-Takashima Y, Eitoku M, Sunamura M, Inagaki F, Imachi H, Takai K, Nunoura T. Variability of subseafloor viral abundance at the geographically and geologically distinct continental margins. FEMS Microbiol Ecol. 査読有 2014;88(1):60-68.
DOI:10.1111/1574-6941.12269

Muzembo BA, Nagano Y, Eitoku M, Ngatu NR, Matsui T, Bhatti SA, Hirota R, Ishida K, Suganuma N. A cross-sectional assessment of oxidative DNA damage and muscle strength among elderly people living in the community. Environ Health Prev Med. 査読有 2014;19(1):21-29.
DOI:10.1007/s12199-013-0350-x

Muzembo BA, Eitoku M, Inaoka Y, Oogiku M, Kawakubo M, Tai R, Takechi M, Hirabayashi K, Yoshida N, Ngatu NR,

Hirota R, Sandjaya B, Suganuma N. Prevalence of occupational allergy in medical researchers exposed to laboratory animals. Ind Health. 査読有 2014;52(3):256-261.

Yoshida M, Takaki Y, Eitoku M, Nunoura T, Takai K. Metagenomic analysis of viral communities in (hadopelagic) pelagic sediments. PLoS One. 査読有 2013;8(2):e57271.
DOI:10.1371/journal.pone.0057271

Muzembo BA, Nagano Y, Dumavibhat N, Ngatu NR, Matsui T, Bhatti SA, Eitoku M, Hirota R, Ishida K, Suganuma N. Ankle-brachial pressure index and mini nutritional assessment in community-dwelling elderly people. J Nutr Health Aging. 査読有 2013;17(4):370-376.
DOI:10.1007/s12603-012-0412-6

Muzembo BA, Dumavibhat N, Ngatu NR, Eitoku M, Hirota R, Kondo S, Deguchi Y, Saito Y, Takahashi K, Suganuma N. Serum selenium and selenoprotein P in patients with silicosis. J Trace Elem Med Biol. 査読有 2013;27(1):40-44.
DOI:10.1016/j.jtemb.2012.05.003

Dumavibhat N, Matsui T, Hoshino E, Rattanasiri S, Muntham D, Hirota R, Eitoku M, Imanaka M, Muzembo BA, Ngatu NR, Kondo S, Hamada N, Suganuma N. Radiographic progression of silicosis among Japanese tunnel workers in Kochi. J Occup Health. 査読有 2013;55(3):142-148.

Andre MB, Dumavibhat N, Ngatu NR, Eitoku M, Hirota R, Suganuma N. Mini Nutritional Assessment and functional capacity in community-dwelling elderly in rural Luozi, Democratic Republic of Congo. Geriatr Gerontol Int. 査読有 2013;13(1):35-42.
DOI:10.1111/j.1447-0594.2012.00852.x

Ngatu NR, Okajima MK, Yokogawa M, Hirota R, Takaishi M, Eitoku M, Muzembo BA, Sabah AB, Saruta T, Miyamura M, Kaneko T, Sano S, Suganuma N. Anti-allergic effects of Vernonia amygdalina leaf extracts in hapten-induced atopic dermatitis-like disease in mice. Allergol Int. 査読有 2012;61(4):597-607.
DOI:10.2332/allergolint.11-0A-0393

Hirota R, Nakamura H, Bhatti SA, Ngatu NR, Muzembo BA, Dumavibhat N, Eitoku M, Sawamura M, Suganuma N. Limonene inhalation reduces allergic airway inflammation in Dermatophagoides farinae-treated mice. Inhal Toxicol. 査 読 有 2012;24(6):373-381.

DOI:10.3109/08958378.2012.675528

〔学会発表〕(計 15 件)

Noguchi S, Eitoku M, Muzembo BA, Kiyosawa H, Suganuma N, Gene Expression Analysis in Lungs of Mice Following Intratracheal Instillation of Indium Oxide, ATS 2015 International Conference, 2015年5月15日-20日, Denver (USA)

安光ラヴェル香保子、南まりな、栄徳勝光、前田長正、藤枝幹也、菅沼成文. 子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)高知ユニットセンターにおける進捗報告・広報及びフォローアップの取り組みについて、第17回環境ホルモンの学会研究発表会、2014年12月9日-10日、東京大学山上会館(東京都・文京区)

Muzembo BA, Mbutshu LH, Ngatu NR, Eitoku M, Suganuma N. 女性看護師に対するセクシャルハラスメントの断面調査、第84回日本衛生学会学術総会、2014年5月25日-27日、岡山コンベンションセンター等(岡山県・岡山市)

Matsui T, Sabah AB, Funakoshi M, Tamura A, Muzembo BA, Imanaka M, Eitoku M, Hirota R, Suganuma N. 建設労働者コホートにおける胸部単純エックス線写真所見の分析、第87回日本産業衛生学会、2014年5月21日-24日、岡山コンベンションセンター等(岡山県・岡山市)

安光ラヴェル香保子、南まりな、栄徳勝光、深谷孝夫、藤枝幹也、菅沼成文. 子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)高知ユニットセンターにおける進捗報告・広報及びフォローアップの取り組みについて、第16回環境ホルモンの学会研究発表会、2013年12月12日-13日、東京大学山上会館(東京都・文京区)

加藤英政、平木啓子、栄徳勝光、清澤秀孔、奥田晶彦. ヒト分化多能性細胞の分化の改善、第36回日本分子生物学会年会、2013年12月3日-6日、神戸国際会議場等(兵庫県・神戸市)

Matsui T, Eitoku M, Hirota R, Funakoshi M, Tamura A, Muzembo BA, Sabah AB, Suganuma N. AIR Pneumo 修了者のじん肺健診胸部 X 線写真の読影習熟度の評価 NIOSH B リーダーとの比較から、第86回日本産業衛生学会、2013年5月15日-5月17日、ひめぎんホール(愛媛県・松山市)

Sabah AB, Funakoshi M, Tamura A, Muzembo BA, Matsui T, Dumavibhat N, Ngatu NR, Imanaka M, Minami M, Yasumitsu-Lovell K, Eitoku M, Hirota R, Suganuma N. 石綿曝露者コホートにおける胸部 X 線写真所見の分析、第86回日本産業衛生学会、2013年5月15日-5月17日、ひめぎんホール(愛媛県・松山市)

南まりな、安光ラヴェル香保子、金房雄飛、大石拓、栄徳勝光、菅沼成文. こうちエコチル調査のリクルート状況とフォローアップ案、平成24年度高知県小児保健協会学会、2012年8月2日、総合あんしんセンター(高知県・高知市)

Muzembo BA, Dumavibhat N, Ngatu NR, Eitoku M, Hirota R, Suganuma N. コンゴ民主共和国ルオジ地区の就労児童、第85回日本産業衛生学会、2012年5月30日-6月2日、名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

Ngatu NR, Eitoku M, Hirota R, Suganuma N. テルペンとフラボノイド豊かな Vernonia amygdalina 抽出液の環境アレルギー性皮膚障害における抗アレルギー性効果、第85回日本産業衛生学会、2012年5月30日-6月2日、名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

Dumavibhat N, Matsui T, Hamada N, Kubota T, Morita K, Eitoku M, Hirota R, Suganuma N. 珪肺 X 線写真評価における NIOSH B リーダー二者間の一致、第85回日本産業衛生学会、2012年5月30日-6月2日、名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

Sabah AB, Funakoshi M, Tamura A, Muzembo BA, Matsui T, Dumavibhat N, Ngatu NR, Imanaka M, Minami M, Yasumitsu-Lovell K, Eitoku M, Hirota R, Suganuma N. 石綿曝露作業におけるメソセリン診断能、第85回日本産業衛生学会、2012年5月30日-6月2日、名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

Eitoku M, Muzembo BA, Hirota R, Hirata M, Tanaka A, Furihata M, Ogino K, Suganuma N. 酸化インジウムの気管内投与によるアカタラセミアマウスへの健康影響の検討、第85回日本産業衛生学会、2012年5月30日-6月2日、名古屋国際会議場(愛

知県・名古屋市)

Eitoku M, Muzembo BA, Hirota R, Hirata M, Tanaka A, Furihata M, Ogino K, Suganuma N, Effect of intratracheal instillation of Indium oxide to acatalasemic mice, The 23rd Korea Japan China Joint Conference on Occupational Health, 2012年5月24日-26日, Gurye-gun (Korea)

〔図書〕(計1件)

Eitoku M, Kiyosawa H, Genomic Imprinting and the Brain: Neuron-Specific Switching of Gene Expression at Imprinting Regions, Advances in Genetics Research, Nova Science Publishers, Inc., 2015, in press.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

栄徳 勝光 (EITOKU Masamitsu)
高知大学・教育研究部医療学系・助教
研究者番号：50552733