

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K08404

研究課題名(和文) 気道炎症におけるプロトン感知性受容体OGR1を介した新規吸入薬開発への挑戦

研究課題名(英文) Challenges in the Development of Novel Inhalants Mediated by the Proton-Sensing Receptor OGR1 in Airway Inflammation

研究代表者

齋藤 悠 (Haruka, Saito)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80447268

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)：細胞外pHを感知するプロトン感知性G蛋白質共役受容体OGR1はpH微小変化環境のセンサーとして働くことが報告されている。OGR1が喘息を始めとする気道炎症にどのように関わっているのか、OGR1欠損マウスを用いて解析した。OGR1は気道上皮細胞、気道平滑筋細胞など気道構成細胞、傍気管支リンパ節や脾細胞から得られたCD4+T細胞にも発現していた。塩酸投与ARDSモデルでは、OGR1欠損マウスで総細胞数とマクロファージ、好中球数が有意に減少していた。野生型に比べ、肺胞洗浄液中のIL-6、TNF- α 産生の減少が認められた。OGR1は気道炎症に対して促進的に働くことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アトピー素因を持つ気管支喘息に対しては、現在生物学的製剤の開発により、劇的な治療の発展が認められているが、非アトピー性気管支喘息に対しての治療は未だ十分だと言えない。OGR1は気道構成細胞である気道上皮細胞、気管支平滑筋細胞に特異的に発現していることから、本研究のように気道上皮細胞に傷害を起こすHDM点鼻による気管支喘息モデルや塩酸投与によるARDSモデルの解析はOGR1の役割についてより詳細に解析できる可能性がある。さらに非アトピー性気管支喘息やARDSで産生が増加するIL-6をOGR1欠損マウスで抑制することがわかったため、OGR1は気道炎症の鍵を握っている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：It has been reported that the proton-sensing G protein-coupled receptor OGR1, which senses extracellular pH, acts as a sensor in environments with small pH changes. We used OGR1-deficient mice to analyze how OGR1 is involved in airway inflammation including asthma. OGR1 was also expressed in airway epithelial cells, airway smooth muscle cells, and other airway constituent cells, as well as CD4+ T cells obtained from parabronchial lymph nodes and splenocytes. In the hydrochloric acid-administered ARDS model, the total cell number, macrophages, and neutrophil numbers were significantly decreased in OGR1-deficient mice. Compared to the wild type, decreased IL-6 and TNF- α production in alveolar lavage fluid was observed. It was suggested that OGR1 acts to promote airway inflammation.

研究分野：アレルギー

キーワード：気道炎症 プロトン 気管支喘息

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

気管支喘息などの気道炎症下では、炎症性細胞の集積、乳酸産生によって気道の酸性化（低 pH）が伴う。しかし、pH 環境と病態生理との関連は不明である。一方、我々を含む国内外のグループによって発見された細胞外 pH を感知するプロトン感知性 G 蛋白質共役受容体 Ovarian cancer Gprotein coupled Receptor 1(OGR1)は pH 微小変化環境のセンサーとして働くことが報告されている。我々はこれまでプロトン(H⁺)がヒト気道平滑筋細胞に発現している OGR1 を介して炎症を誘発する IL-6 や組織リモデリングに関わる結合組織成長因子 (CTGF) の産生を増強することを明らかにした。そこで我々は OGR1 欠損マウスを用いて、卵白アルブミン(OVA; ovalbumin)を抗原とした気管支喘息モデルを作成し、OGR1 欠損マウスでは野生型に比べて、気道過敏性、気道炎症が抑制されることを見出した、さらに主要な抗原提示細胞である樹状細胞では OGR1 欠損マウス由来樹状細胞の遊走能が著しく低下していることを明らかにした。

2. 研究の目的

本研究では、我々を含む国内外のグループによって発見された細胞外 pH を感知するプロトン感知性 G 蛋白質共役受容体 Ovarian cancer Gprotein coupled Receptor 1(OGR1)が pH 微小変化環境のセンサーとして喘息の発症、進展にどのように関わっているのか、我々が作製した受容体欠損マウスを用いた喘息モデル実験(*in vivo*)と気道炎症細胞の中でもマウスから単離した気道上皮細胞を用いた実験系(*in vitro*)の両アプローチから OGR1 機能解析を行い、気管支喘息治療を始めとする気道炎症性疾患における新規標的を探索する。

3. 研究の方法

① 炎症性細胞、気道構成細胞における OGR1 の発現について

House dust mite (HDM)点鼻モデルを作製し、肺胞洗浄液中の細胞、傍気管支リンパ節を回収した。さらに脾細胞から磁気ビーズを用い、CD4⁺T 細胞を分離し、これらの OGR1 の発現について mRNA レベルで解析を行なった。さらに、培養細胞であるヒト気道上皮細胞における OGR1 の発現についても mRNA レベルで解析を行った。

② OGR1 欠損マウスを用いた HDM 点鼻気管支喘息モデルの解析

HDM 懸濁液の点鼻によって作製した気管支喘息モデルを用いて OGR1 欠損マウスと野生型を比較することで、OGR1 が気道炎症にどのような影響をあたえるか解析する。具体的には気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の血球集積 (好酸球、リンパ球、好中球の顕著な集積) に対する OGR1 欠損効果を確認した。

③ OGR1 欠損マウスを用いた ARDS モデルの解析

OGR1 欠損マウスと野生型マウスを用いて、麻酔下に気管内に塩酸を投与し ARDS モデルを作成した。塩酸投与 24 時間後に肺胞洗浄液 (BALF) を回収した。BALF 中の総細胞数と細胞分画を解析し、さらに BALF 中の IL-6, TNF- α を ELISA 法で測定した。

4. 研究成果

① OGR1 は mRNA レベルで気道上皮細胞、気道平滑筋細胞など気道構成細胞に特異的に発現していることもわかった。特に、ヒト気道上皮細胞において OGR1 ファミリーのうち OGR1 が特異的に発現していることがわかった。

② 肺胞洗浄液中の炎症性細胞にも OGR1 が発現していた。さらに傍気管支リンパ節の細胞、磁気ビーズにより得られた CD4+T 細胞にも OGR1 は発現していた。これらの結果からリンパ球において OGR1 が発現しており何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。

③ HDM 点鼻気管支喘息モデルを作成した。OGR1 欠損マウスでは野生型マウスと比較すると、肺胞洗浄液中の好酸球数、リンパ球数、好中球数が減少する傾向を観察している。

④ ヒト気道上皮培養細胞において、OGR1 が特異的に発現しているという結果から、気道上皮における OGR1 の役割を詳細に解析するため、塩酸投与 ARDS モデルを作成し、解析を行なった。OGR1 欠損マウスでは野生型と比べ、24 時間後の肺胞洗浄液中の総細胞数とマクロファージ、好中球数が有意に減少していた。ELISA 法を用いた肺胞洗浄液中のサイトカイン測定では塩酸投与 OGR1 欠損マウスは野生型に比べ、炎症性サイトカインである IL-6、TNF- α 産生の減少が認められた。門脇らと共に OGR1 のリガンドであり、職業性喘息を引き起こすコバルトおよびニッケルがヒト気管支気道平滑筋細胞において IL-6 分泌を増加させることを報告した。さらに OGR1-siRNA を導入したヒト気管支平滑筋細胞は、Co または Ni 刺激に対して、IL-6 の産生が減少したことを報告した。

⑤ OGR1 欠損マウスでは塩酸投与急性肺傷害モデルにおいて野生型と比べ、塩酸投与 24 時間後の肺胞洗浄液中の総細胞数と好中球数が減少していたこと、肺胞洗浄液中の IL-6、TNF- α の減少が認められたことから、OGR1 は ARDS モデルにおいて炎症を促進する可能性が示唆された。気管支喘息において肺胞洗浄液中の IL-6 レベルは、アレルギー性喘息患者よりも非アレルギー性喘息患者の方が高い。IL-6 は肥満を伴う喘息や非アレルギー性喘息の発症に重要な役割を果たしている可能性を示唆している。今後は OGR1 欠損マウスを用いて作成した HDM 点鼻気管支喘息モデルと ARDS モデルから得られた結果を元に、現象を裏付けるメカニズムについて検討していく必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 (2)Arai S, Fujiwara K, Kojima M, Aoki-Saito H, Yatomi M, Saito T, Koga Y, Fukuda H, Watanabe M, Matsunaga S, Hisada T, Shuto S	4. 巻 87(15)
2. 論文標題 Design and Synthesis of Cyclopropane Congeners of Resolvin E3, an Endogenous Pro-Resolving Lipid Mediator, as Its Stable Equivalents.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 10501-10508
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.2c01110.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yamaguchi K, Fukushima Y, Yamaguchi A, Itai M, Shin Y, Uho S, Muto S, Kouno S, Tsurumaki H, Yatomi M, Aoki-Saito H, Hara K, Koga Y, Sunaga N, Endo Y, Motegi SI, Nakasatomi M, Sakairi T, Ikeuchi H, Hiromura K, Hisada T, Tsushima Y, Kuwana M, Maeno T.	4. 巻 Mar;193
2. 論文標題 Influence of obesity in interstitial lung disease associated with anti-aminoacyl-tRNA synthetase antibodies.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Respiratory Medicine	6. 最初と最後の頁 106741
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.rmed.2022.106741.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kadowaki M, Sato K, Kamio H, Kumagai M, Sato R, Nyui T, Umeda Y, Waseda Y, Anzai M, Aoki-Saito H, Koga Y, Hisada T, Tomura H, Okajima F, Ishizuka T.	4. 巻 Dec 18;14
2. 論文標題 Metal-Stimulated Interleukin-6 Production Through a Proton-Sensing Receptor, Ovarian Cancer G Protein-Coupled Receptor 1, in Human Bronchial Smooth Muscle Cells: A Response Inhibited by Dexamethasone. Kadowaki M, Sato K, Kamio H, Kumagai M, Sato R, Nyui T, Umeda Y, Wase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Inflammation Research	6. 最初と最後の頁 7021-7034
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/JIR.S326964.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fukuda H, Ikeda H, Muromoto R, Hirashima K, Ishimura K, Fujiwara K, Aoki-Saito H, Hisada T, Watanabe M, Ishihara J, Matsuda T, Shuto S.	4. 巻 85(21)
2. 論文標題 Synthesis of Resolvin E3, a Proresolving Lipid Mediator, and Its Deoxy Derivatives: Identification of 18-Deoxy-resolvin E3 as a Potent Anti-Inflammatory Agent	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 14190-14200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.0c01701	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hachisu Y, Koga Y, Kasama S, Kaira K, Yatomi M, Aoki-Saito H, Tsurumaki H, Kamide Y, Sunaga N, Maeno T, Ishizuka T, Hisada T.	4. 巻 Dec 30;9(1)
2. 論文標題 Treatment with Tumor Necrosis Factor- Inhibitors, History of Allergy, and Hypercalcemia Are Risk Factors of Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome in HIV-Negative Pulmonary Tuberculosis Patients.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Clin Med.	6. 最初と最後の頁 E96
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm9010096.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sato M, Aoki-Saito H, Fukuda H, Ikeda H, Koga Y, Yatomi M, Tsurumaki H, Maeno T, Saito T, Nakakura T, Mori T, Yanagawa M, Abe M, Sako Y, Dobashi K, Ishizuka T, Yamada M, Shuto S, Hisada T.	4. 巻 Nov;33(11)
2. 論文標題 Resolvin E3 attenuates allergic airway inflammation via the interleukin-23-interleukin-17A pathway.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FASEB J.	6. 最初と最後の頁 12750-12759
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201900283R.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koga Yasuhiko, Tsurumaki Hiroaki, Aoki-Saito Haruka, Sato Makiko, Yatomi Masakiyo, Takehara Kazutaka, Hisada Takeshi	4. 巻 20
2. 論文標題 Roles of Cyclic AMP Response Element Binding Activation in the ERK1/2 and p38 MAPK Signalling Pathway in Central Nervous System, Cardiovascular System, Osteoclast Differentiation and Mucin and Cytokine Production	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1346 ~ 1346
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20061346	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kadowaki Maiko, Yamada Hidenori, Sato Koichi, Shigemi Hiroko, Umeda Yukihiro, Morikawa Miwa, Waseda Yuko, Anzai Masaki, Kamide Yosuke, Aoki-Saito Haruka, Hisada Takeshi, Okajima Fumikazu, Ishizuka Tamotsu	4. 巻 16
2. 論文標題 Extracellular acidification-induced CXCL8 production through a proton-sensing receptor OGR1 in human airway smooth muscle cells: a response inhibited by dexamethasone	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Inflammation	6. 最初と最後の頁 1 ~ 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12950-019-0207-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 齋藤悠、茂木千尋、齋藤従道、鶴巻寛朗、矢富正清、古賀康彦、佐藤真季子、山口彩、山口公一、砂長則明、前野敏孝、石塚全、岡島史和、久田剛志
2. 発表標題 プロトン感知性Gタンパク質共役型受容体OGR1の塩酸投与によるマウスARDSモデルにおける働き
3. 学会等名 第62回呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤悠、茂木千尋、齋藤従道、鶴巻寛朗、矢富正清、古賀康彦、佐藤真季子、砂長則明、前野敏孝、石塚全、岡島史和、久田剛志
2. 発表標題 マウスARDSモデルにおけるプロトン感知性Gタンパク質共役型受容体OGR1の働き
3. 学会等名 第71回アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤真季子、齋藤悠、古賀康彦、矢富正清、鶴巻寛朗、前野敏孝、石塚全、土橋邦生、砂長則明、周東智、山田正信、久田剛志
2. 発表標題 ResolvinE3のアレルギー性気道炎症に対する作用機序の検討
3. 学会等名 第60回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤真季子、齋藤悠、鶴巻寛朗、矢富正清、古賀康彦、砂長則明、前野敏孝、石塚全、柳川正隆、佐甲靖志、阿部充宏、土橋邦生、周東智、久田剛志
2. 発表標題 樹状細胞に対する炎症収束性メディエーターResolvinE3の作用の検討
3. 学会等名 JSA/WAO joint congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 M. Sato, H. Aoki-Saito, H. Fukuda, Koga, M. Yatomi, H. Tsurumaki, N. Sunaga, T. Maeno, K. Dobashi, M. Yamada, S. Shuto, T. Hisada,
2. 発表標題 Resolvin E1 and E3 dampens asthmatic inflammation in a murine model
3. 学会等名 European Respiratory Society 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤 悠
2. 発表標題 最近のアレルギーの知見~各科女性医師・若手医師の活躍というシンポジウムで、内科の立場から「Resolvin E3 (RvE3)のマウス気管支喘息モデルにおける効果に対する解析」
3. 学会等名 第3回日本アレルギー学会関東地方会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 齋藤 (青木) 悠、齋藤従道、久田剛志	4. 発行年 2021年
2. 出版社 北隆館/ニューサイエンス社	5. 総ページ数 3
3. 書名 アレルギーの臨床	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	石塚 全 (Ishizuka Tamotsu)	福井大学・病態制御医学講座・内科学 (3) (13401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	門脇 麻衣子 (Kadowaki Maiko)	福井大学・病態制御医学講座・内科学(3) (13401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関