

令和 4 年 8 月 2 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15950

研究課題名（和文）ニューロペプチドYを中心とした慢性閉塞性肺疾患の病態解明と炎症・気腫化制御

研究課題名（英文）Elucidation of the pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease and control of inflammation and emphysema focusing on neuropeptide Y

研究代表者

谷口 暁彦（Taniguchi, Akihiko）

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：90751123

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：ニューロペプチドYが慢性閉塞性肺疾患（COPD）の気道炎症、肺気腫形成にどのように関わるかを明らかにするため、マウスエラスターゼ誘導肺気腫モデルを作製し、気道炎症や呼吸機能の評価、肺の組織学的検討を行った。
本研究の結果から、このモデルにおいて、NPYはエラスターゼに誘導される気道炎症、肺の気腫化に対して保護的に働いている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性閉塞性肺疾患（COPD）におけるニューロペプチドYの役割を調べた研究報告は未だなく、世界初の研究となる。
COPDのさらなる病態解明や新たな治療開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：To clarify how neuropeptide Y is involved in airway inflammation and development of emphysema in chronic obstructive pulmonary disease (COPD), we utilized mouse elastase-induced emphysema model and evaluated the airway inflammation, respiratory function, and lung histology.
These data suggest the protective effects of NPY against elastase-induced airway inflammation and pulmonary emphysema in this model.

研究分野：呼吸器学

キーワード：ニューロペプチドY 慢性閉塞性肺疾患 肺気腫 NPY COPD IL-17 3型自然リンパ球 ILC3

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の多くは長年の喫煙歴をもつ高齢者にみられる疾患で、禁煙後も進行する。COPD における肺の炎症には、主には好中球や CD8+リンパ球、マクロファージが関係すると言われていたが未だに不明な点が多い。近年では、特に Th17 との関連が注目されており (PLoS One 2011; 6:e20333.)、我々もマウスモデルを用いた研究により気道炎症や気腫化と IL-17、IL-23/IL-17 経路との関連を明らかにしてきた (Respir Res 2013;14:5, Am J Respir Cell Mol Biol. 2016;55(5):697-707) が、その重症化、急性増悪のメカニズムには多くの不明な点がある。

ニューロペプチド Y (NPY) は中枢神経系に広く発現する 36 個のアミノ酸から成る神経ペプチドで 1982 年に Tatemoto らにより発見された。その発現は神経系の細胞のみならず、上皮、血小板、免疫細胞、巨核球など種々にわたり、気道を含むすべての主要臓器に発現、呼吸器疾患の他、消化器疾患、高血圧、糖尿病、心疾患等様々な疾患に関与すると報告されている (Pulm Pharmacol Ther 2004;17:173-80)。さらに NPY はヘルパー T 細胞やマクロファージからのメディエーター放出を調節しており (図 1)、交感神経系を介して免疫系に深く関わっていると考えられる。

我々は、まず NPY とアレルギー性気道炎症との関連をマウス喘息モデルを用いて調べ、NPY は Type 2 (Th2) 免疫反応を増強し、アレルギー性気道炎症には促進的に働くことを見出した (Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2019; 316: L407-L417.)。一方、COPD 患者は非 COPD 喫煙者に比して、気道上皮、粘液腺、平滑筋の NPY 発現が低下していた (J Biol Regul Homeost Agents. 2010;24:425-432) との報告があり、COPD の病態に NPY が少なからず関連していると考え、我々は本研究に着手した。

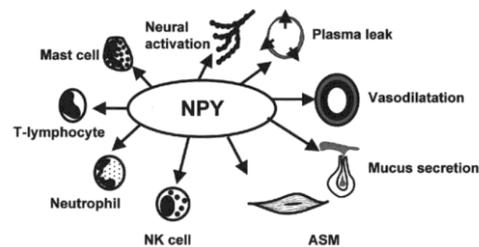


図 1. NPY は NPY 受容体を介して種々の免疫細胞や血管内皮、気道平滑筋に作用する
Pulm Pharmacol Ther 2004;17(4):173-80

2. 研究の目的

本研究の目的は、NPY が COPD の気道炎症、肺気腫形成にどのように関わるかを明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) エラスターゼ誘導マウス肺気腫モデルによる検討

豚膵由来エラスターゼ (PPE) をマウスに経気管投与することにより、エラスターゼ誘導マウス肺気腫モデルを作製した。

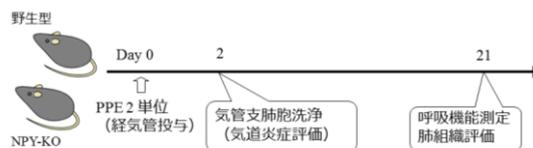


図 2 エラスターゼ誘導肺気腫モデル:豚膵エラスターゼ (PPE) を経気管的に投与、2 日後に気管支肺胞洗浄液を採取し気道炎症の評価、21 日後に呼吸機能測定及び肺組織の評価を行った。

① エラスターゼ誘導マウス肺気腫モデルでの NPY 欠損マウスを用いた検討

野生型マウス及び NPY 欠損マウスを用いて、エラスターゼ誘導肺気腫モデルを作製し、呼吸機能や気道炎症の評価を行った。呼吸機能は主に静肺コンプライアンス測定により評価、肺気腫は平均肺胞間距離による組織学的評価を行った。また気道炎症の評価として、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の炎症細胞数、BALF や肺ホモジネート中のサイトカイン・ケモカインレベルを測定した。

② エラスターゼ誘導マウス肺気腫モデルにおける気道炎症の解析 (野生型と NPY 欠損との比較)

エラスターゼ投与後、炎症のピークと予想される 2 日目に BALF を採取、ELISA 法によりケモカイン、サイトカイン測定を行った。野生型と NPY 欠損マウスとで気道の好中球性炎症、Th1・Th17 炎症などを評価、比較した。さらにフローサイトメトリー法により Th1 細胞、Th17 細胞などの評価を行い、Th17 同様、IL-17 を産生する 3 型自然リンパ球 (ILC3) についても解析を行った。

(2) エラスターゼ誘導マウス肺気腫モデルに対する NPY 投与の有効性の検討

上述のエラスターゼ誘導マウス肺気腫モデル (図 2) に、NPY を腹腔内投与し (図 3)、上記同様に静肺コンプライアンスや平均肺胞間距離による組織学的評価、BALF の解析を行った。

NPY の投与量は 1 μ g/kg (低用量) 及び 50 μ g/kg (高用量) とし、対照群には PBS を投与した。

(3) エラスターゼ誘導マウス肺気腫モデルに対する Y1 受容体アンタゴニスト投与の影響の検討

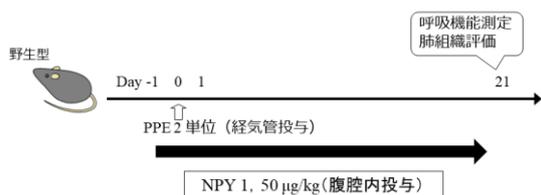


図3 エラスターゼ誘導肺気腫モデル，NPY 投与における検討：NPY は-1 日目から 20 日目まで腹腔内投与し，21 日後に呼吸機能測定及び肺組織の評価を行った。

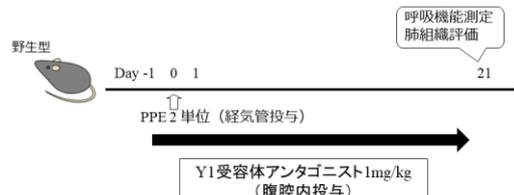


図4 エラスターゼ誘導肺気腫モデル，Y1 受容体アンタゴニスト投与における検討：Y1 受容体アンタゴニストである BIBO3304 を-1 日目から 20 日目まで腹腔内投与し，21 日後に呼吸機能測定及び肺組織の評価を行った。

上述のエラスターゼ誘導マウス肺気腫モデル(図2)に、NPYの主要な受容体であるY1受容体のアンタゴニスト(BIBO3304、1mg/kg)を腹腔内投与し(図4)、上記同様に静肺コンプライアンスや平均肺胞間距離による組織学的評価、BALFの解析を行った。対照群にはPBSを投与した。

4. 研究成果

このモデルにおいて、PPE投与後に肺の気腫性変化が生じ、肺中NPYレベルの上昇を認めた。NPY欠損マウスでは野生型マウスに比して優位に気腫化が強く、PPE投与7日目のBALF中の好中球増加、マクロファージ増加がより顕著であった。このBALF中サイトカインの評価では、NPY欠損マウスにおいて好中球やマクロファージ関連のケモカインが野生型マウスに比して高値であり、さらに肺ホモジネート中のIL-17が高値、そして気道内の3型自然リンパ球(ILC3)増加を認めた。

NPYが肺気腫の形成に抑制的に働くとの仮説の下、このモデルに対してNPYの投与を行ったところ、静肺コンプライアンスは対照群(PBS投与群)に比してNPY投与群で低い傾向があり、肺の組織学的評価では、NPY投与群で用量依存的に、平均肺胞間距離が低くなる傾向があった。また、NPY投与群では、BALF中の総細胞数及びマクロファージ数、リンパ球数が有意に低かった。

さらにこのモデルに対してY1受容体アンタゴニスト(BIBO3304)を投与しNPYを阻害したところ、BIBO3304投与群では対照群(PBS投与群)に比して静肺コンプライアンスが高い傾向にあり、組織学的評価では気腫化がより高度で、平均肺胞間距離が有意に高かった。

本研究の結果から、エラスターゼ誘導肺気腫モデルにおいて、NPYはPPEに誘導される気道炎症、肺の気腫化に対して保護的に働いている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akihiko Taniguchi, Naohiro Oda, Daisuke Morichika, Satoru Senoo, Junko Itano, Utako Fujii, Lili Guo, Ryota Sunami, Katsuyuki Kiura, Yoshinobu Maeda, Nobuaki Miyahara	4. 巻 322
2. 論文標題 Protective effects of neuropeptide Y against elastase-induced pulmonary emphysema	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol	6. 最初と最後の頁 L539-L549
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajplung.00353.2020.	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 谷口暁彦, 小田尚廣, 森近大介, 妹尾賢, 藤井詩子, 板野純子, 金廣有彦, 木浦勝行, 前田嘉信, 宮原信明
2. 発表標題 Protective effect of neuropeptide Y against elastase-induced emphysema
3. 学会等名 米国胸部学会（ATS）（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------