

研究種目：基盤研究(B)
研究期間：2007～2011
課題番号：19390403
研究課題名(和文) 血清中顆粒球マクロファージコロニー刺激因子自己抗体の同定及びその生理学的役割の解明
研究課題名(英文) Identification and characterize anti-granulocyte macrophage colony-stimulating factor autoantibody.
研究代表者
山田 芳嗣 (YAMADA YOSHITSUGU)
東京大学・医学部附属病院・教授
研究者番号：30166748

研究代表者の専門分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：外科系臨床医学
キーワード：周術期管理学, サイトカイン

1. 研究計画の概要

(1) 健常者血清中に存在している抗 GM-CSF 自己抗体の存在を明らかにする
(2) 抗 GM-CSF 自己抗体の生体における生理学的役割を明らかにする
(3) 抗 GM-CSF 自己抗体が全身炎症状態でどのような挙動を示すか、またそれが病勢とどのように関わるかを明らかにする

2. 研究の進捗状況

健常者血清から、酸処理、IgG 精製などの行程を経た結果、調べた血清 6 サンプル、およびヒト免疫グロブリン製剤から抗 GM-CSF 自己抗体を同定した。また抗 GM-CSF 自己抗体検出 ELISA を開発し、72 例の健常者血清すべてに低濃度の抗 GM-CSF 自己抗体が存在していることを確認した。この ELISA 法は、固相化する GM-CSF、ブロッキング試薬、検出抗体等を厳密に決定し、高い accuracy と precision を持つ、米国臨床試験基準を満たすに値する品質を持つに至った。健常者および、抗 GM-CSF 自己抗体を高発現している肺胞蛋白症患者の白血球機能データを検討した結果、健常者では血清中抗 GM-CSF 自己抗体レベルと好中球機能が逆比例していることがわかり、抗 GM-CSF 自己抗体が骨髄球系細胞の機能を制御している可能性が示唆された。またその際、GM-CSF 刺激による好中球細胞表面のインテグリン CD11b の発現量が、肺胞蛋白症患者で低下している事がわかった。血液中の GM-CSF 生物活性の指標として、CD11b 発現量の上昇率(CD11b stimulation index と名付けた)が、簡便で再現性のある測定方法である事を見いだした。

この方法を、米国シンシナティ子供病院トラップネル教授研究室との共同研究で、カニクイザルに抗 GM-CSF 抗体を投与して肺胞蛋白症を誘導するプロジェクトにおいて、GM-CSF 生物活性を測定する手法として役立てた。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。
(理由) 健常者血清に抗 GM-CSF 自己抗体が存在しており、GM-CSF 活性をコントロールすることで、骨髄球系細胞の機能を調節していることを示すに足るデータが蓄積し、論文化した。また抗 GM-CSF 抗体が肺胞蛋白症の原因物質である事を証明する、サルプロジェクトも論文化した。現在急性炎症の周術期患者を対象としたサンプルの蓄積、測定を遂行中である。マウスを用いた抗体の実験は現在研究準備中である。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 急性炎症における GM-CSF 抗体の動向については引き続きデータの蓄積が必要である。
(2) マウスを用いた手術侵襲モデルを作製し、抗 GM-CSF 自己抗体の動向を測定する。
(3) マウス脾臓から抗 GM-CSF 自己抗体産生クローンを同定する。

これらの結果から、GM-CSF および自己抗体の生体における生化学的役割を明らかとするともに、急性炎症、慢性炎症などの臨床病態に適用できる治療法の開発に資する基礎データが得られるものと考えている。

5. 代表的な研究成果
(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5件)

1. Uchida K, Carey B, Suzuki T, Nakata K, Trapnell B. Response: Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor autoantibodies and myeloid cell immune functions in healthy persons. Blood. 2010 Jan 14;115(2):431-3.
2. Sakagami T, Uchida K, Suzuki T, Carey BC, Wood RE, Wert SE, Whitsett JA, Trapnell BC, Luisetti M. Human GM-CSF autoantibodies and reproduction of pulmonary alveolar proteinosis. N Engl J Med. 2009 Dec 31;361(27):2679-81.
3. Trapnell BC, Carey BC, Uchida K, Suzuki T. Pulmonary alveolar proteinosis, a primary immunodeficiency of impaired GM-CSF stimulation of macrophages. Curr Opin Immunol. 2009 Oct;21(5):514-21.
4. Han X, Uchida K, Jurickova I, Koch D, Willson T, Samson C, Bonkowski E, Trauernicht A, Kim MO, Tomer G, Dubinsky M, Plevy S, Kugathasan S, Trapnell BC, Denson LA. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor autoantibodies in murine ileitis and progressive ileal Crohn's disease. Gastroenterology. 2009 Apr;136(4):1261-71.
5. Uchida K, Nakata K, Suzuki T, Luisetti M, Watanabe M, Koch DE, Stevens CA, Beck DC, Denson LA, Carey BC, Keicho N, Krischer JP, Yamada Y, Trapnell BC. Granulocyte/Macrophage Colony-Stimulating Factor Autoantibodies and Myeloid Cell Immune Functions in Healthy Subjects. Blood. 2009 Mar 12;113(11):2547-56.

[学会発表](計3件)

1. Uchida K, Muroya M, Trapnell BC, Yamada K, Mori K, Seto Y and Yamada Y. Reduced Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Bioactivity with Surgical Stress Associated with Early Postoperative Complications. American Thoracic Society International Conference (San Diego, USA), May 19, 2009
2. Uchida K, Nakata K, Koch DE, Carey BC, Suzuki T, Stevens CA, Yamada Y and Trapnell BC. Serologic Diagnosis of Pulmonary Alveolar Proteinosis (PAP) American Thoracic Society International

Conference (San Diego, USA), May 18, 2009

3. 内田 寛治、室屋 充明、張 京浩、森和彦、山田 和彦、瀬戸 泰之、伊藤 伸子、山田 芳嗣 . 食道癌手術患者の侵襲に応じた好中球機能低下は術後早期回復に影響する。日本麻酔科学会第56回学術集会。(神戸市)平成21年8月17日
4. Uchida K. A Standardized, Serum-Based Approach For Diagnosing PAP. American Thoracic Society International Conference, Toronto, Canada. May 21, 2008
5. 内田寛治、Trapnell BC、張京浩、山田芳嗣 . フローサイトメトリー法による簡易好中球活性化指標測定法の開発。日本麻酔科学会学術集会。横浜市。2008年6月12日
6. 内田寛治
ワークショップ3「基礎：炎症細胞の分離と機能的解析」「好中球」
日本アレルギー学会第58回秋季学術集会。
東京。2008年11月27日

[図書](計1件)

1. Trapnell BC, Uchida K. Pulmonary alveolar proteinosis in Interstitial Lung Diseases (Issue 46), edited by RON DU BOIS AND LUCA RICHELDI; European Respiratory Monograph; 2009: 46: 208-224

[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]