

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19790562

研究課題名（和文） 肺線維症の病態解明：デフェンシンと大気汚染の影響に関する検討

研究課題名（英文） Elucidation of the pathogenesis of pulmonary fibrosis: Investigation of the effects of defensins and air pollution on pulmonary fibrosis

研究代表者

坂本 憲穂（NORIHO SAKAMOTO）

長崎大学 大学院医歯薬学部総合研究科 助教

研究者番号：30448493

研究成果の概要：1) PM10 刺激による肺胞マクロファージおよび気道上皮細胞からの炎症性メディエーター産生は動脈硬化を促進することが知られているが、コレステロール降下剤であるスタチンが肺胞マクロファージを介した抑制効果を持つことを証明した。2) デフェンシンが、気道上皮細胞および肺線維芽細胞からのメディエーター産生に関して異なる作用を持ち、肺線維芽細胞を介した線維化の促進に関わる可能性を示した。3) PM10 が気道上皮細胞に作用し、線維化に関与する因子（TGF、TNF）の産生を亢進させることを示した。

交付額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2007 年度 | 1,100,000 | 0 | 1,100,000 |
| 2008 年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 2,000,000 | 270,000 | 2,270,000 |

研究分野：呼吸器内科学

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：デフェンシン、PM10、肺線維症、大気汚染物質、肺胞上皮細胞、肺線維芽細胞

1. 研究開始当初の背景

肺細胞、なかでも肺胞マクロファージや気道上皮細胞は、異物貪食作用をはじめ、さまざまな炎症の場において各々あるいは相互作用により、サイトカインなど種々の炎症性メディエーター産生に関わっている。大気汚染物質（PM10）によってもヒト肺細

胞は様々なメディエーターを産生することが報告されている。デフェンシンは病原微生物に対する強い抗菌活性を示す塩基性ペプチドであり、ヒトにおけるデフェンシンは human neutrophil peptide (HNP) とよばれ主に好中球に存在し、抗菌活性以外にも炎症反応や免疫機能の調整作用があるこ

とが分かっている。近年、デフェンシンは線維芽細胞の増殖促進作用による組織修復にも関与していると報告され、我々の研究においても感染症などの炎症性肺疾患に加え特発性肺線維症患者でその濃度が高値であったことから、肺の線維化との関連性が示唆されている(Mukae H et al. Thorax 2002)。また我々はカナダ/ブリティッシュコロンビア大学との共同研究にて PM10 が好中球を中心とした全身性の炎症に関わっていることを明らかにしてきた (Mukae H et al. Am J Respir Crit Care Med 2001, Mukae H et al. Ishii H et al. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2000, 2004, Fujii T et al. Am J Respir Cell Mol Biol 2002)。このことより PM10 によって好中球が活性化し、デフェンシンを介して呼吸器障害を引き起こしている可能性が考えられる。我々は、気道上皮細胞を・デフェンシンで刺激すると、インターロイキン(IL)-8、IL-1 などの炎症性サイトカインの発現が増強し (Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2005) 肺線維芽細胞を デフェンシンで刺激すると、TGF- による刺激と同様、線維化に関わる熱ショック蛋白やコラーゲンの発現亢進がみられることを明らかとした (現在投稿中)

2. 研究の目的

本申請の主眼は、今まで確立した技術や得られた知見を基に、デフェンシンの肺線維化に対する役割の更なる解明と PM10 によ

る肺障害のメカニズムを明らかとするために、肺胞マクロファージや気道上皮細胞、肺線維芽細胞を用いて、PM10 や デフェンシンによる種々の炎症性メディエーター産生機序のさらなる解明と肺線維化過程における分子生物学的意義、また PM10 と デフェンシンのこれらの産生に対する相乗効果について研究を推進することにある。

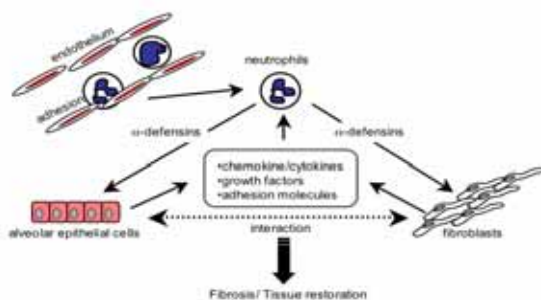
3. 研究の方法

デフェンシンおよび PM10 で気道上皮細胞、線維芽細胞を *in vitro* で刺激し、炎症或いは線維化に関与するといわれている数種類の growth factor 産生を mRNA、タンパクレベルで検討する。

また、これらの相互作用に関して、デフェンシンおよび PM10 で刺激した気道上皮細胞上清で線維芽細胞を刺激したときのコラーゲン産生を検討した。

4. 研究成果

デフェンシンが、気道上皮細胞および肺線維芽細胞からのメディエーター産生に関して異なる作用を持ち、肺線維芽細胞を介した線維化の促進に関わる可能性を示した。この中でデフェンシンは肺線維芽細胞から TGF や VEGF などの線維化促進因子を、気道上皮細胞からは IL-8 などの炎症促進因子の産生を促進することが示され、デフェンシンの様々な作用を示した。同様に PM10 が気道上皮細胞に作用し、線維化に関与する因子 (TGF、TNF) の産生を亢進させることを示した。これらの成長因子は線維芽細胞に対してコラーゲンの産生や筋線維芽細胞への形質転換をきたすことにより、肺線維化に関与している可能性を示した。



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 4 件)

Sakamoto N, et al., (6 人中 1 番目)
Effect of Atorvastatin on PM10-induced
Cytokine Production in Human Alveolar
Macrophages and Human Bronchial
Epithelial Cells, International Journal
of Toxicology, in press . 査読あり

Ishimoto H, Sakamoto N, et al. (11
人中 3 番目) Different effects of
telithromycin on MUC5AC production
induced by human neutrophil peptide-1 or
lipopolysaccharide in NCI-H292 cells
compared with azithromycin and
clarithromycin. J Antimicrob Chemother.
Jan;63(1):109-14, 2009 . 査読あり

Hara S, Sakamoto N, et al (9 人中
3 番目) Plectasin has antibacterial
activity and no affect on cell viability
or IL-8 production. Biochem Biophys Res
Commun. Oct 3;374(4):709-13, 2008 . 査
読あり

Nakayama S, Sakamoto N, et al (1
2 人中 3 番目) Pirfenidone inhibits the
expression of HSP47 in
TGF-beta1-stimulated human lung
fibroblasts. Life Sci 82: 210-217, 2008.
査読あり

[学会発表] (計 6 件)

Mukae H, Pirfenidone inhibits the
TGF beta1-induced over-expression of
heat shock protein 47 and collagen type
I in A549 cells American Lung
Association/American Thoracic Society
2008 International Conference 2008 年 5
月 21、日 Toronto, Canada

Hanako F, The effect of Doxycycline
on growth factors and matrix
metalloproteinases production in
alveolar epithelial cells, 13th Congress
of the Asian Pacific Society of
Respirology, 2008 年 11 月 21 日 Bangkok,
Thailand

Hara S, Plectasin has antibacterial
activity and no affect on cell viability
or IL-8 production, 3th Congress of the
Asian Pacific Society of Respirology,
2008 年 11 月 21 日、Bangkok, Thailand

Hanako Fujita, The effect of
doxycycline on TGF-b1-induced growth
factors and MMPs production in human
alveolar epithelial cells. 48th Congress
of the Japanese Respiratory Society 2008
年 6 月 16 日、神戸

Misato Amenomori, Expression of
Collagen-Binding Heat Shock Protein 47
in Idiopathic and Collagen Vascular
Disease-Associated Nonspecific
Interstitial Pneumonia. 48th Congress of
the Japanese Respiratory Society 2008
年 6 月 16 日、神戸

原信太郎、Plectasin ～新規抗菌薬と
しての臨床応用可能性に関する検討～
第 78 回日本感染症学会西日本地方会学術
集会、2008 年 12 月 6 日、広島

6 . 研究組織

(1)研究代表者

坂本 憲穂 (NORIH O SAKAMOTO)
長崎大学・大学院医歯薬学部総合研究科・
助教
研究者番号 30448493

(2)研究分担者

(3)連携研究者

迎 寛 (HIROSH I MUKAE)
長崎大学・大学院医歯薬学部総合研究科・
准教授
研究者番号80253821

河野 茂 (SHIGERU KOHNO)
長崎大学・大学院医歯薬学部総合研究科・
教授
研究者番号80136647