

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09860

研究課題名(和文)好酸球性気道炎症における選択的アセチルコリン受容体の機序解明と新しい治療薬の開発

研究課題名(英文)Functional role of acetylcholine receptors in the eosinophilic airway inflammation

研究代表者

神田 晃 (KANDA, Akira)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70375244

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：好酸球性気道炎症の代表的な疾患として喘息を合併した好酸球性副鼻腔炎では、上・下気道の間でコリン作動性神経を介した機序が存在することが推察されている。しかし、ニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)のサブタイプである4nAChRと7nAChRは、好酸球性気道炎症に対して増悪と抑制の相反する作用が報告されており、明らかになっていない。そこで、本研究では、その受容体の機能的役割を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既存の抗コリン剤は、抗炎症作用に関しては明らかになっていない。その理由として、4nAChRと7nAChRの両方に作用するためと推察される。そこで、本研究を継続することで、4nAChRの好酸球性気道炎症への役割が解明されるだけでなく、同分子をターゲットにした選択的抗コリン剤の開発につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：Eosinophils play an important role in the allergic rhinitis, asthma, and eosinophilic rhinosinusitis (ECRS). Of note, 20-60% patients with ECRS are accompanied with asthma. Although similar pathologic characteristics and histological appearance are shown in the nose and lung, the mechanism of relationship between nasal and lung inflammation has been unclear. We have shown a mechanism an interaction between upper and lower airway by nasal-bronchial reflex with cholinergic nerve such as nervus vagus, suggesting contribution of neural inflammation in the inflamed site by acetylcholine (ACh). Here, we investigated the expression of nicotinic 4 and 7ACh receptor (4nAChR and 7nAChR).

研究分野：好酸球性炎症

キーワード：好酸球 好酸球性副鼻腔炎 喘息 アレルギー アセチルコリン

1. 研究開始当初の背景

上気道から下気道にまたがる好酸球性気道炎症は、united airway disease として知られており、好酸球がその病態形成に中心的な役割を果たしている。また、実臨床において、上気道炎症を治療することで下気道炎症(喘息)が改善することを経験し、上気道炎症と下気道炎症の間に相互作用があること知られている。報告者は、上・下気道間にコリン作動性の神経学的な経路(nasal-bronchial reflex, NBR)が存在し、その相互作用に寄与していることを明らかにしている。しかし、コリン作動性神経由来のアセチルコリン(ACh)の気道炎症への関与については、十分に解明されていない。

2. 研究の目的

AChは、ムスカリン受容体に作用し、気管を収縮したり、鼻汁を増加させたりする作用がある。一方、ニコチン受容体に関しては、ニコチン性7アセチルコリン受容体(7nAChR)は炎症を制御する方向に働くが、4nAChRは炎症を促進する作用があると報告されている。NBRがneural inflammationを惹起するならば、4と7nAChRが重要な役割を果たしていることが推察される。そこで、本研究では、好酸球性気道炎症マウスにおける4と7nAChRの役割を明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

(1) 好酸球性気道炎症マウスの作製

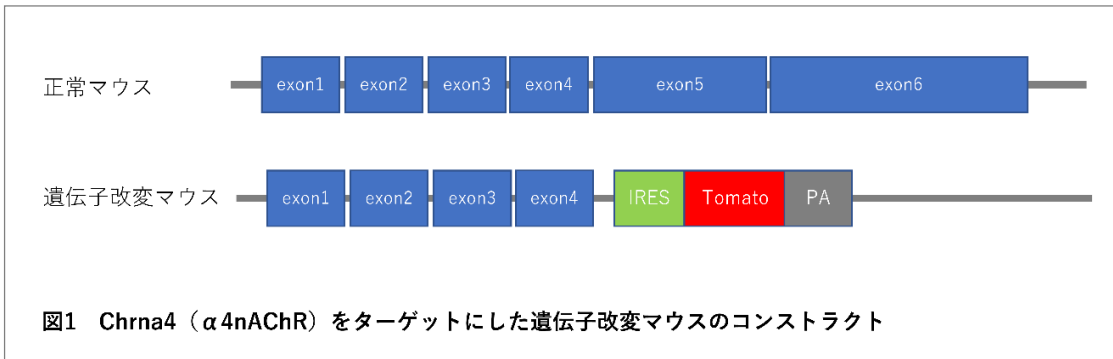
Day 0と14にオプアルブミン蛋白(OVA)とアジュバント(Alum)を腹腔内に投与し、全身感作させ、day 21から25の間、OVAを経鼻投与し、アレルギー性鼻炎と喘息が合併した好酸球性気道炎症マウスを作製した。一方、健常マウスでは、OVAを含まない混合液を投与し、その対象とした。

(2) 4と7nAChRの発現

健常マウスおよびアレルギー気道炎症マウスの鼻粘膜と肺組織を摘出し、RNAを抽出し、qPCR法を用いて4と7nAChRの発現量を検討した。また、cell sorterを用いて、好酸球性気道炎症マウスの肺組織から好酸球(CD45⁺, siglec F^{high}, Gr-1^{mid})を単離し、同様の検討をおこなった。

(3) Chrna4(4AChR)欠損マウスの作製

図に1に遺伝子改変マウスのコンストラクトを示す。Chrna4は、exon1-6で構成されており、exon5と6が欠損する事で、機能的役割が欠損することが知られている。そこで、図1に示すように、exon5と6を除去し、IRES/Tomato/PAの癒合タンパクをノックインし、蛍光タンパクで追跡できるような工夫を施したマウスの作製をおこなった。



4. 研究成果

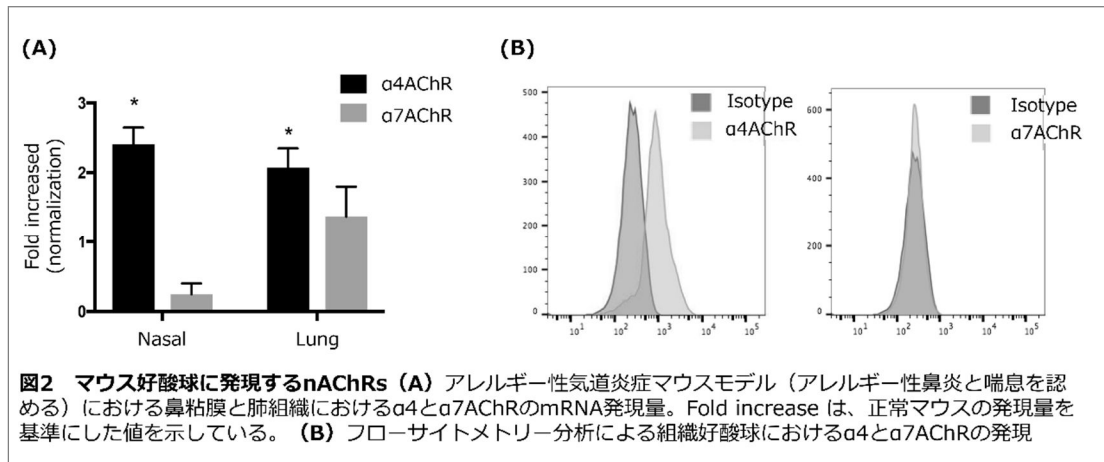
(1) nAChRの発現

鼻粘膜と肺組織における発現量 (図2A)

好酸球性気道炎症の鼻粘膜および肺組織では、 $\alpha 4nAChR$ が強く発現していた。一方、 $\alpha 7nAChR$ に関しては、上気道では抑制されていた。

肺組織から分離した好酸球における発現量 (図2B)

好酸球では、 $\alpha 4nAChR$ の発現増加が認められていたが、 $\alpha 7nAChR$ の発現は認められなかった。



(2) Chrna4 ($\alpha 4AChR$) 欠損マウス

現在、コンストラクトに基づいたマウスの作製を継続している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	小林 良樹 (KOBAYASHI Yoshiki) (10375298)	関西医科大学・医学部・講師 (34417)	

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