

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590900

研究課題名（和文） アポトーシス細胞の貪食除去に着目した肺気腫の新しい治療戦略

研究課題名（英文） Efferocytosis as a novel therapeutic target of emphysema

研究代表者

森本 浩之輔 (MORIMOTO KONOSUKE)

長崎大学・熱帯医学研究所・准教授

研究者番号：50346970

研究成果の概要（和文）：

新しい肺気腫モデルマウスの作製と、これに引き続く炎症終息とアポトーシス細胞貪食除去のメカニズムを利用した治療戦略を追求した。

receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) のノックアウトマウスにおいて、アポトーシス細胞除去の障害から気腫化が起きる可能性を見だし、まずは RAGE がアポトーシス細胞の貪食において重要であることを明らかにして論文として発表した。また、Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) の分泌制御が破綻することで、肺の炎症は慢性化し肺気腫が誘導されるとの仮説をたてた。MCP-1 がどのようにしてアポトーシス細胞貪食を改善させるかを検討し、Rac-PI3K 系が重要であることを解明した。

研究成果の概要（英文）：

We proved the important role of receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) in apoptotic cell clearance in inflamed lung. RAGE directly recognized phosphatidylserine on apoptotic cells and enhanced efferocytosis.

We also hypothesized MCP-1 plays crucial role in pathogenesis of chronic inflammation in lung and emphysema. We proved that MCP-1 enhances apoptotic cell clearance through Rac - PI3K pathway in alveolar macrophages (AMs).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：閉塞性肺疾患 炎症終息

1. 研究開始当初の背景

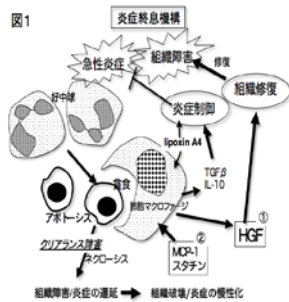
炎症局所で、その役割を終えアポトーシスとなった好中球は、マクロファージなどの食細胞によって貪食除去(Efferocytosis)される。

これにより炎症は制御され組織修復が開始される。これら炎症終息過程の制御は、新たな疾病の治療戦略につながると期待されている。

申請者はこれまでに、マウス細菌性肺炎モデルを用いて、肺胞マクロファージ(AM)がアポトーシス好中球を貪食することにより上皮の増殖因子 (Hepatocyte Growth Factor (HGF)) を産生し、組織修復を促していることを証明した (図1)。

この現象により、肺気腫においては喫煙による酸化ストレスでアポトーシス細胞除去が障害され、正常な組織修復が阻害されていることが主因であるとの仮説をたてた。そこで慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者の肺胞マクロファージはアポトーシス細胞貪食能が低下していることを確認し、その機能を改善させる薬剤として HMG-CoA リダクターゼ阻害剤 (スタチン) の効果を確認した (図1)。

しかし、COPD/肺気腫の病態において炎症終息の障害がどの程度重要なのか、依然十分な研究成果は得られていない。



2. 研究の目的

肺気腫における炎症終息機構の重要性をマウスモデルを用いて明確に証明し、スタチンをはじめとする efferocytosis を改善させる物質の臨床応用の可能性を模索する。

3. 研究の方法

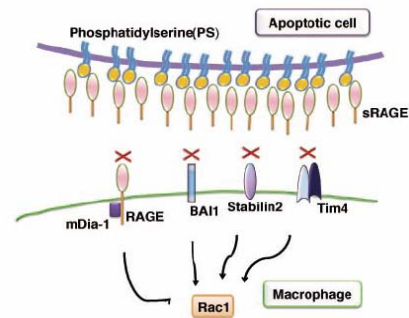
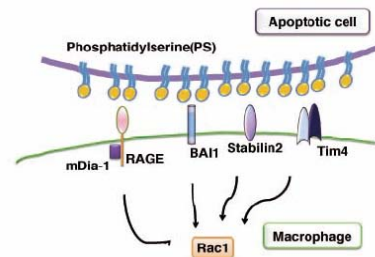
当初予定していた MFG-E8 のノックアウトマウスを用いて肺気腫モデルを作製する方法は、その後の研究で、MFG-E8 の治療的投与が逆の効果を実現する可能性が高まり、使用を断念した。そこで、

- (1) 同じく Efferocytosis が減弱していることが知られている NOD マウスを使用し、肺気腫モデルを作製し、その病変を評価することとした。NOD マウスの肺気腫は豚膵エラストラーゼ (PPE) 投与による方法を用いた。
- (2) 東北大学の共同研究者と RAGE (receptor for advanced glycation endproducts) のノックアウトマウスで efferocytosis が減弱しているとの仮説を証明し、この肺気腫を評価することとした。
- (3) 肺の炎症巣において MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) が efferocytosis を増強するメカニズムを研究し、治療戦略への応用を検討した。

4. 研究成果

(1) NOD マウスにおいて、有意に efferocytosis は減弱していたが、PPE 投与による炎症終息、肺気腫などの病理学的変化に有意差はなく、本研究への応用を断念した。

(2) RAGE が肺胞マクロファージ (AM) における重要なアポトーシス細胞の認識レセプターであることを証明し、報告した。すなわち、RAGE は特異的にアポトーシス細胞表面のフォスファチジルセリン (PS) に結合し、Rac 活性を増強し、efferocytosis を亢進させることを証明した。一方可溶性 RAGE (sRAGE) は PS をブロックし、efferocytosis を抑制した (図)。特

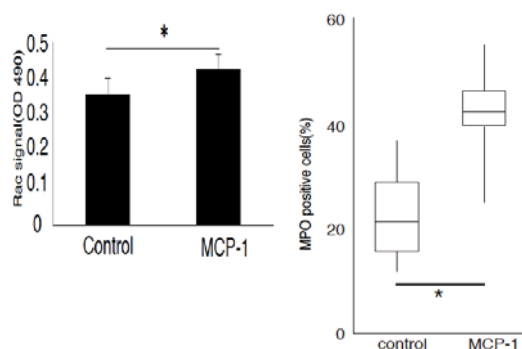


に RAGE ノックアウトマウスにおいて、肺の炎症はより強く、炎症が遷延する傾向が見られた。すなわち、肺気腫など肺の慢性炎症において、RAGE が一つの重要な役割を担っていることが示唆された。この機序を解明することは、将来肺気腫をはじめとする慢性炎症性疾患の病態の理解や治療法の開発に寄与することが期待される。

(3) 肺の炎症終息期において肺胞上皮から分泌される MCP-1 が、Rac-PI3K を介して efferocytosis を亢進させることを証明した (図左)。本研究では先行研究を発展させ、in vivo での効果を確認 (図右) した。MCP-1 を長期刺激することにより、逆にこの efferocytosis は低下しており、MCP-1 の産生の制御が、炎症終息の制御に重要である可能性が示唆された。これらのメカニズムのさらなる解明は、肺における慢性炎症、とくに肺

気腫の病態解明と治療戦略の開発に寄与すると考えられる。

下図左；AMにおけるMCP-1によるRac活性化
下図右；マウス肺内における、アポトーシス好中球の貪食促進効果



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2件)

1. He M, Kubo H, Morimoto K, Fujino N, Suzuki T, Takahashi T, Yamada M, Yamaya M, Maekawa T, Yamamoto Y, Yamamoto H. Receptor for advanced glycation end products binds to phosphatidylserine and assists in the clearance of apoptotic cells. *EMBO Rep.* 2011;12(4):358-64. 査読あり

2. Tanaka T, Terada M, Ariyoshi K, Morimoto K. Monocyte chemoattractant protein-1/CC chemokine ligand 2 enhances apoptotic cell removal by macrophages through Rac1 activation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;399:677-82 査読あり

[学会発表] (計3件)

1. Morimoto K, Kuroki R, Yamashita Y, Tanaka T, Takaki M, Ariyoshi K, Amano H. Production of Hepatocyte Growth Factor by Alveolar Macrophages that Have Engulfed Apoptotic Cells is Impaired in Streptozotocin-induced Diabetic Mice. American Thoracic Society International Conference, 2011.5.14

2. 田中健之、寺田真由美、森本浩之輔、有吉紅也 肺の炎症巣でのアポトーシス細胞貪食除去(Efferocytosis)におけるMCP-1/CCR2の役割 日本呼吸器学会学術講演会、東京 2009.6.12

3. Tanaka T, Morimoto K, Ariyoshi K. MCP-1/CCL2 (Monocyte Chemoattractant Protein-1/CC Chemokine Ligand-2) enhance apoptotic cells removal(efferocytosis) through activation of Rac1. American Thoracic Society International Conference, 2009.5.18

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森本 浩之輔 (MORIMOTO KONOSUKE)

長崎大学・熱帯医学研究所・准教授

研究者番号：50346970