

平成 22 年 6 月 11 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20791214

研究課題名（和文） 上皮ナトリウム吸収と好酸球性炎症の関連

研究課題名（英文） A relationship between epithelial sodium absorption and eosinophilic inflammation

研究代表者

安田 誠 (YASUDA MAKOTO)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：60433273

研究成果の概要（和文）：

鼻茸培養上皮細胞を用いて IL-4 刺激で分泌されるサイトカインについて検討を行った。IL-4 刺激で上皮培養細胞から分泌されるサイトカインは RANTES が最多でありエオタキシンは測定感度以下であった。RANTES は apical 側単独刺激 IL-4 にて 100ng/ml, 72 時間投与で最も分泌量が増えた。

研究成果の概要（英文）：

The mechanism of cytokine secretion by IL-4 was investigated in cultured a human nasal polyp epithelial cells. The most secreted cytokine was RANTS, but eotaxin was not detected in our studies. Treatment of 100ng/ml IL-4 significantly increased RANTES secretion, and this activation was observed at 72 hours after treatment.

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	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：好酸球性炎症、イオン輸送、培養細胞

1. 研究開始当初の背景

気道上皮イオン輸送は airway surface liquid の維持に重要であり、airway surface liquid が有する生理機能が障害されることで種々の感染症が引き起こされることはよく知られている。一方で cAMP 依存性クロライドチャネルである cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) の先天異常である嚢胞性線維症は airway surface liquid の障害が病態であるのはもちろんのことであるが、高率に慢性副鼻腔炎が合併することが知られている。このことからイオン輸送の障害が副鼻腔炎の発症に関与していると推察される。また近年慢性副鼻腔炎の病態解明が盛んに行なわれ、難治性副鼻腔炎として好酸球性副鼻腔炎という疾患概念が提唱さえ日本国内ではコンセンサスが得られつつあり、好酸球性炎症が慢性副鼻腔炎の病因の一因を担っていることが推察される。著者は大学院時代に鼻副鼻腔粘膜上皮の培養法および Ussing chamber を用いた短絡電流の測

定法を習得した。その結果を特に鼻茸粘膜上皮と副鼻腔粘膜上皮のイオン輸送の特性の違いに着目して論文にまとめ報告している。また当教室の出島らは同様の手法で炎症性副鼻腔粘膜上皮は正常のものに比べて優位にナトリウム吸収が亢進していることを報告していた。

2. 研究の目的

本研究の目的は上皮イオン輸送と好酸球性炎症特に上皮ナトリウム輸送と好酸球性炎症の関連を明らかにし鼻副鼻腔炎の病態について上皮イオン輸送の観点から検討することとした。

3. 研究の方法

手術時に得られた鼻茸から上皮のみを単離し培養細胞として発育させる。当初はdish cultureで培養を行いコンフルエントになった時点でculture insert内に継代しair liquid interface法にて培養を続ける。こうして培養細胞を2週間発育させて実験に供する。culture insert内に継代した時点で各種サイトカインにて刺激を行う。今回はIL-4とTNF- α を用いて刺激を行うことにする。各々サイト

カイン単独刺激もしくは共刺激時の変化を検討する。具体的な測定項目については培養細胞から分泌される各種ケモカイン（エオタキシン-1, 2, 3やRANTES）を反応後の培養液を回収しELISA法にて定量評価する。また培養細胞からRNAを抽出しcDNAを作成しreal time PCR法を用いてmRNAの発現についても定量評価する。またculture insert内の細胞をUssing chamber内にマウントしベンザミル感受性短絡電流（ナトリウム吸収量）を測定しイオン輸送についても検討を行う。

4. 研究成果

鼻茸由来培養上皮細胞に IL-4 100ng/ml を用いて細胞刺激を行なった。まず IL-4 の投与側について検討した。具体的には apical side, basolateral side, both side のいずれがより多くのケモカインを分泌するかを調べた。その結果から basolateral side 投与より apical side 投与の方が有意にケモカイン分泌量が多く、both side 投与でも apical side 投与のみとケモカイン分泌量は変わらないことが分かった。培養上澄み液では細胞表面側の方が細胞膜側より有意に分泌量が多いことがわかった。よって以下の実験は apical side のみにサイトカインを投与し

て実験を継続した。次に上皮培養細胞はどのケモカインを分泌するかについて検討した。分泌されるケモカインは RANTES が最多でありエオタキシン-1 は測定感度以下であることがわかった。最も分泌量の多かった RANTES を用いて濃度依存性と投与時間依存性について検討した。その結果 RANTES は IL-4 100ng/ml, 72 時間刺激で最も分泌量が増加することがわかった。

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 0 件）

〔学会発表〕（計 0 件）

〔図書〕（計 0 件）

〔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〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安田 誠 (YASUDA MAKOTO)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：60433273

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし