

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 6 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17235

研究課題名(和文) 難治性好中球性ぜん息における補体を介したM2マクロファージ活性化機序の解明と治療

研究課題名(英文) Mechanism elucidation of M2 macrophages activation via complements and therapeutic application for difficult to treat and neutrophilic asthma

研究代表者

徳永 佳尚 (Tokunaga, Yoshihisa)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：60832722

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：気管支ぜん息死患者群の肺の病理組織においてコントロール群に比較して、有意にCD163陽性のM2様マクロファージが増加していた。マウスモデルにおいてM2様マクロファージKnock-outマウスは野生型に比較して有意に気道過敏性の亢進が抑制され、気管支肺胞洗浄液(BALF)中の好中球や好酸球数も低下していた。BALF中マクロファージ数は好中球数と有意に負の相関を認めた。わたしたちの結果からD163陽性のM2様マクロファージは好中球性炎症を惹起し、気管支ぜん息の難治化に関与していると考えられた。ただし補体とM2様マクロファージおよび好中球炎症との関与を見出すことは出来なかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本では重症ぜん息と考えられているのは約50万から100万人いると推測されている。好中球性ぜん息は、非タイプ2ぜん息として、治療に難渋することが多いとされる。わたしたちの結果は、好中球性ぜん息の病態解明に貢献し、新たな治療法の開発に役立つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The CD163 positive M2-like macrophages counts in the lung tissue in patients with fatal asthma group were significantly increased when compared with those in non-asthma patients control group. In the mouse model, airway hyperresponsibility significantly suppressed and decreased the number of neutrophils and eosinophils in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in M2-like macrophage knock-out mice when compared with those with the wild type mice. In BALF % of macrophages were associated with % of neutrophils ($r = -0.97$, $P < 0.0001$). Our results suggest that the enhancements of M2-like macrophage may be associated with developments of difficult-to-treat neutrophilic asthma. However, we could not clarify the relationship between complements and M2-like macrophage, and neutrophilic inflammations.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：気管支喘息 マクロファージ サブセット

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

難治性ぜん息のクラスター解析において、高齢発症や喀痰好中球有意型の非アトピー型(非タイプ2炎症)患者群で、経口ステロイド内服を要する増悪頻度が高いことが報告されている(Opina MT et al. Curr Allergy Asthma Rep. 2017)。おそらく気道の好中球性炎症がぜん息の重症化に関与していると考えられている。

CD163はマクロファージのサブタイプであるM2様マクロファージの表面マーカーとして知られており、その分化や誘導に関わると言われている。おそらくM2様マクロファージは好酸球増多あるいは好中球増多に関与することが知られていたが、気管支ぜん息の病態や難治化に関するかは不明な点が多かった。一方、補体の一部はアナフィラトキシンと言われ、やはりアナフィラキシー反応の好酸球や関節リウマチの好中球性炎症に関与するとされているが、気管支ぜん息やM2様マクロファージとの関係には不明な点が多かった。

2. 研究の目的

臨床の現場において、難治性好中球性ぜん息患者を多く診察している。患者は常に日常生活に支障を来し新たな治療法を望んでいる。しかし治療薬はないのが現状である。ヒトの剖検肺およびM2様マクロファージノックアウトマウスぜん息モデルを用いてM2様マクロファージが難治性好中球性ぜん息の病態に関与しているかを検証することを目的とした。補体の関与はC1qtnf6 K0マウス、C1qtnf6・C3 double K0マウス(東京理科大学 岩倉洋一郎教授のご厚意による提供を受けた)を用いた。

3. 研究の方法

久留米大学病院で気管支ぜん息のために死亡した重症ぜん息患者の剖検肺を用いて、非ぜん息患者コントロールの肺の組織におけるM2様マクロファージ数を比較した。OVA感作ぜん息モデルを用いてM2様マクロファージノックアウトマウスと野生型マウスにおける気道過敏性、肺の組織の変化および気管支肺胞洗浄液(BALF)中の炎症細胞の変化を確認する。

4. 研究成果

4-1. ヒト肺組織を用いたCD68(汎マクロファージ)およびCD163(M2様マクロファージ)陽性肺胞マクロファージの検討

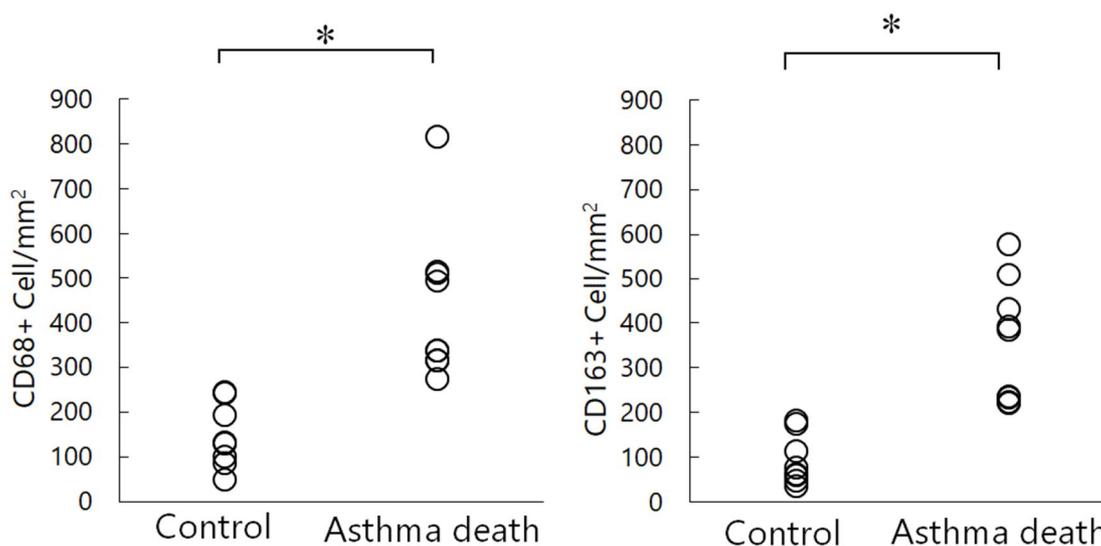


図1 コントロール(非ぜん息)とぜん息死患者から得られた肺組織におけるCD68(汎マクロファージ)およびCD163(M2様マクロファージ)陽性肺胞マクロファージ数の比較

ぜん息死に至る重症ぜん息患者の肺内ではマクロファージ数およびM2様マクロファージ数がコントロール群に比較して有意に増加していた。

4-2. OVA感作ぜん息マウスモデルを用いたCD163(M2様マクロファージ)陽性肺胞マクロファージの検討

CD163陽性細胞の気道過敏性および肺内炎症細胞浸潤に対する影響を検討する目的でCD163Knock-outマウスと野生型マウスにOVAで感作することでぜん息マウスモデルを作成した。

感作後にアセチルコリン吸入負荷に伴う気道過敏性試験では CD163Knock-out マウスは野生型マウスに比較して有意に気道過敏性が抑制されていた (図 2)

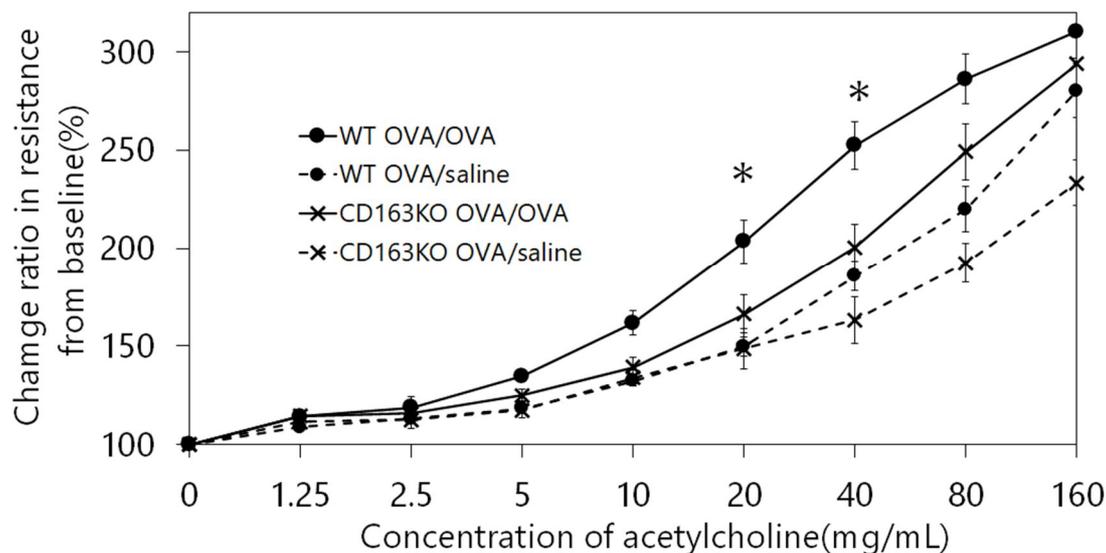


図 2 CD163Knock-out マウスと野生型マウス OVA 感作ぜん息モデルにおけるアセチルコリン吸入誘導呼吸抵抗試験の比較

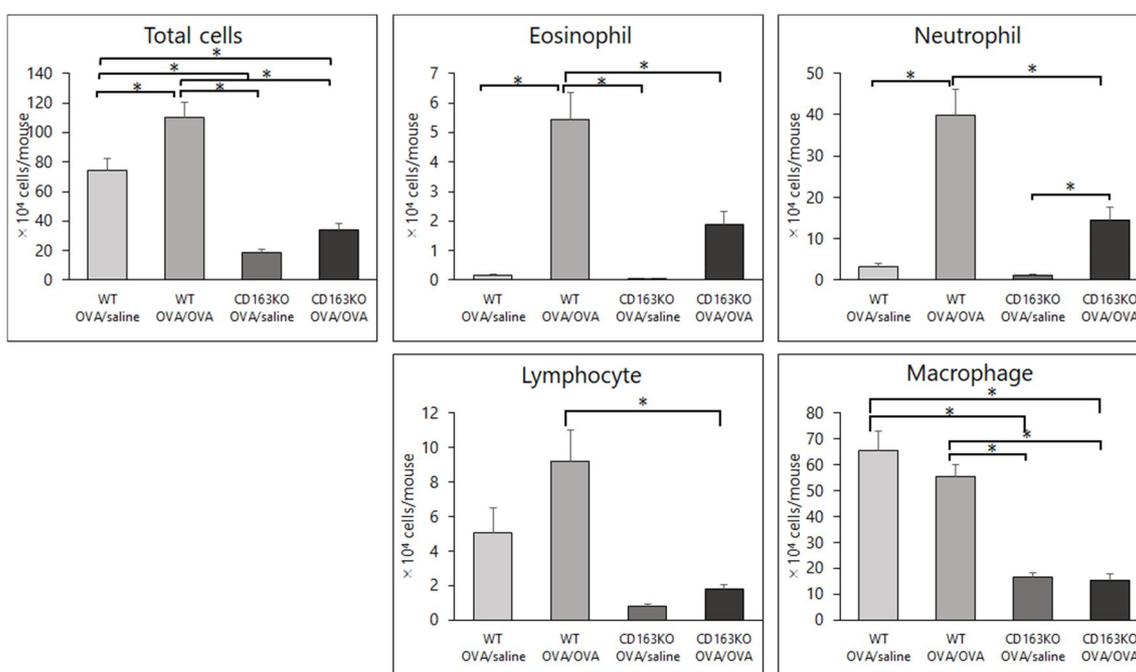


図 3 CD163Knock-out マウスと野生型マウス OVA 感作ぜん息モデルにおける気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞数の比較

CD163Knock-out マウスは野生型マウスに比較して気管支肺胞洗浄液中の OVA 誘導後の総炎症細胞数、好酸球、好中球、リンパ球およびマクロファージ数はいずれも有意に抑制されていた (図 3)。ただし、OVA 誘導後のマクロファージ数は好中球数と有意に負の相関を認めたが ($r = -0.97$, $P < 0.0001$)、好酸球との相関はなく ($r = -0.44$, $P = 0.0673$)、また好中球数と好酸球には相関がなかった ($r = 0.32$, $P = 0.2001$)。ただし補体と M2 様マクロファージおよび好中球炎症との関与を見出すことは出来なかった。

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------