

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：13101
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21591280
 研究課題名（和文）プロスタグランジンレセプターを介したアスピリン誘発性喘息の研究
 研究課題名（英文） The research of aspirin induced asthma associated with prostaglandin receptors
 研究代表者
 小屋 俊之（KOYA TOSHIYUKI）
 新潟大学・医歯学系・助教
 研究者番号：90444158

研究成果の概要（和文）：

当初はプロスタグランジン E2 レセプターである EP1～EP4 に関して、そのアゴニスト（小野薬品より供与）を使用し、気管支喘息モデルにおける役割を解析する予定であったが、プロスタグランジン I2 (PGI2) の気管支喘息への影響が近年注目されていることより、PGI2 のレセプターである IP レセプターのアゴニスト、ベラプロストを使用して、気管支喘息モデルに投与したところ、EP アゴニストよりも強力に気管支喘息の炎症を抑制することが判明した。さらにトロンボキサン合成酵素阻害を持つ IP アゴニスト (ONO-1301:小野薬品より供与) を使って、急性喘息モデルで解析したところ、著明な気道過敏性の抑制、好酸球性気道炎症を抑制した。これは肺内の樹状細胞の機能抑制によるところが大きいと判明した。

研究成果の概要（英文）：

Original plan was to analyse the role of the receptor of prostaglandin E2 (EP) (kindly gifted from Ono pharmaceutical company) in murine model of asthma by using EP agonist, however, it found out that beraprost, the agonist of prostaglandin I2 receptor (IP) had potentials to suppress airway allergic inflammation more than EP agonists. Moreover, a novel IP agonist (kindly gifted from Ono pharmaceutical company) that has the inhibitory effects of thromboxane synthesis, induced significant suppression of airway hyperresponsiveness and airway eosinophilic inflammation in murine asthma mode. This mechanism appeared to be due to the alteration of lung dendritic cell functions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
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：内科系臨床医学、膠原病・アレルギー内科学

キーワード：①気管支喘息、②アスピリン喘息、③プロスタグランジン、④動物実験、⑤気道

過敏性

1. 研究開始当初の背景

アスピリン喘息は、喘息患者の約 10%を占め、アスピリンのみならず酸性非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、食品・医薬品添加物などにより、重篤な喘息発作を誘発し、しばしば患者を死に至らしめることが知られている。

アスピリン喘息の病態として、アスピリンなどの NSAIDs によりシクロオキシゲナーゼ(COX)が阻害され、内因性のプロスタグランジン、特にプロスタグランジン E2(PGE2)が抑制され、なんらかの機序でマスト細胞が活性化し、システニルロイコトリエン(Cys-LTs)の過剰産生が生じ、過敏症状が発現されると考えられている。しかしながら動物モデルを用いたアスピリン喘息の実験モデルはなく、臨床検体を用いた解析においても実際に PGE2 や Cys-LTs が直接的に関係している証拠は少ない。

2. 研究の目的

気管支喘息モデルおよびアスピリン誘発性喘息モデルを用いて、プロスタグランジン E2 に焦点をあて、そのレセプターである EP の役割を明確にし、難治性とされるアスピリン誘発性喘息の治療の進展を目指す。以前我々はアスピリン喘息患者の遺伝子解析から PGE2 レセプターのサブタイプである EP2 遺伝子のプロモーター領域での遺伝子多型がアスピリン喘息患者に関与している可能性を見いだした(Hum Mol Genet. 2004;13:3203)。そこで EP2 アゴニストやアンタゴニストを使って、気管支喘息モデルおよびアスピリン誘発性喘息モデルの EP2 の役割を明確化する。また同時にそのほかの EP レセプターの役割や他のプロスタグランジンの役割を解明するためにそれぞれの受容体に対するアゴニストやアンタゴニストも実験で使用し、反応性の解析を行う。さらに樹状細胞、肥満細胞、リンパ球などのアスピリン喘息における役割とプロスタグランジンとの関係を解析することある。

3. 研究の方法

(1)気管支喘息モデルにおけるプロスタグランジン(PG)レセプターの役割を解析する

マウス呼吸機能測定器 (Flexvent, Scireq 社,

Canada) を購入し、マウス気管支喘息モデルの解析を開始。EP2 アゴニスト(ONO-AE1-259-01 小野薬品より供与)投与によるマウス喘息モデルの解析を行う。また EP1, EP3, EP4 アゴニスト(各々ONO-DI-004, ONO-AE-248, ONO-AE1-329 小野薬品より供与)の投与も並行して行い、それぞれの役割についても検討する。さらに他のプロスタグランジンレセプター(DP, IP)へのアゴニストやアンタゴニストを投与することにより機能の解析を明瞭化する。評価項目として、気管支喘息のフェノタイプとしての指標である気道過敏性、気管支肺胞洗浄液中の細胞数・細胞分画、サイトカインレベル、組織所見に加え、肺組織中のリンパ球・好酸球数、肥満細胞数、PAS 陽性細胞数や肺内リンパ球、所属リンパ節内リンパ球の抗原との培養によるサイトカイン産生能や肺内樹状細胞と脾臓内 T 細胞との抗原存在下でのサイトカイン産生能、増殖能を比較解析する。

(2)アスピリン喘息モデルを使用し、PGレセプターの役割を解析する。

気管支喘息モデルを作成したのち、抗原チャレンジによる気道炎症、気道過敏性(メサコリンに対する)が緩解したのちにスルピリンを投与することにより、アスピリンに対する過敏性を獲得するかどうか検討する。さらに反応を増強させる目的で、各種プロスタグランジンレセプターに対するアンタゴニスト(例: EP2 アンタゴニスト, AH6809, IP アンタゴニスト, CAY10449 など)を使用し、スルピリン投与後の気道過敏性や炎症などの反応が増強するか検討する。

4. 研究成果

当初はプロスタグランジン E2 レセプターである EP1~EP4 に関して、そのアゴニスト(小野薬品より供与)を使用し、気管支喘息モデルにおける役割を解析する予定であったが、プロスタグランジン I2(PGI2)の気管支喘息への影響が近年注目されていることより、PGI2 のレセプターである IP レセプターのアゴニスト、ベラプロストを使用して、気管支喘息モデルに投与したところ、EP アゴニス

トよりも強力に気管支喘息の炎症を抑制することが判明した。さらにトロンボキサン合成酵素阻害を持つ IP アゴニスト (ONO-1301: 小野薬品より供与) を使って、急性喘息モデルで解析したところ、著明な気道過敏性の抑制 (図 1)、好酸球性気道炎症を抑制した。これは肺内の樹状細胞の機能抑制によるところが大きいと判明した。さらに抗原吸入を継続させる慢性モデルにおいても、同様に気道過敏性の抑制、気道リモデリング所見の改善 (図 2) を認めた。特に抗原吸入の後期から薬物投与するというプロトコールであり、リモデリングがある程度完成された段階から薬物を使用しており、抗リモデリング効果として、かなり興味深い結果となった。さらに気管支肺胞洗浄液や肺組織の解析から、この所見は肝細胞増殖因子 (HGF) によるところが

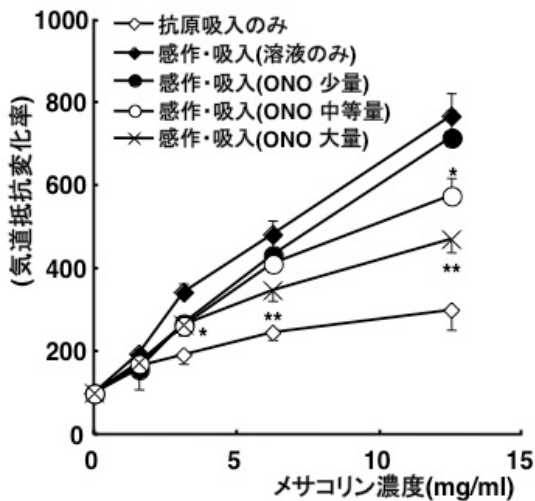


図1. ONO1301投与によりメサコリンに対する気道過敏性は濃度依存性に改善する。

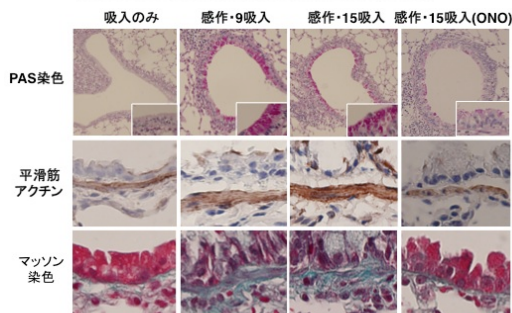


図2. PAS染色(杯細胞過形成)、平滑筋細胞増生、マッソン染色(膠原繊維増生)などの組織学的リモデリング所見はONO1301投与により明らかに改善を認めた

大きいと考えられ、抗 HGF 抗体を投与したところ、ONO-1301 の効果が抑制されることも確認できた。これらの結果からプロスタグランジン I₂ の効果として、気管支喘息の気道炎症、気道過敏性さら

に、慢性期に生じる気道リモデリングを抑制する可能性があることが判明した。さらなる解析を進めることにより、臨床応用が可能であるか、検討する予定である。

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. Yamabayashi C, Koya T, Kagamu H, Kawakami H, Kimura Y, Furukawa T, Sakagami T, Hasegawa T, Sakai Y, Matsumoto K, Nakayama M, Gelfand EW, Suzuki E, Narita I. A Novel Prostacyclin Agonist Protects to Airway Hyperresponsiveness and Remodeling in Mice. Am J Respir Cell Mol Biol. 2012 in press. 査読 有り
2. Hayashi M, Koya T, Kawakami H, Sakagami T, Hasegawa T, Kagamu H, Takada T, Sakai Y, Suzuki E, Gelfand EW, Gejyo F. A prostacyclin agonist with thromboxane inhibitory activity for airway allergic inflammation in mice. Clin Exp Allergy. 2010;40:317-26. 査読 有り

[学会発表] (計 4 件)

1. Y. Kimura, T. Koya, H. Sakamoto, H. Kawakami, Y. Hoshino, T. Furukawa, T. Sakagami, T. Hasegawa, H. Kagamu, Y. Sakai, K. Matsumoto, E. Suzuki, I. Narita. A Sustained-Release Prostacyclin Agonist With Thromboxane Inhibitory Activity (ONO-1301MS) Improves Airway Inflammation And Remodeling In A Murine Model Of Chronic House Dust Mite-Induced Airway Disease. American Thoracic Society International Conference 2012. Moscone Center, San Francisco, USA. 2012. 5. 18
2. 木村陽介, 小屋俊之, 河上英則, 星野芳史, 坂上拓郎, 坂元宏隆, 長谷川隆志, 酒井芳紀, 松本邦夫, 鈴木栄一, 成田一衛. ダニ誘発マウス喘息モデルにおける ONO-1301 の喘息抑制効果の検討. 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2011年11月30日. 品川高輪プリンスホテル (東京都)

3. 小屋俊之, 河上英則, 木村陽介, 星野芳史, 坂上拓郎, 坂元宏隆, 長谷川隆志, 酒井芳紀, 松本邦夫, 中山瑞穂, 鈴木栄一, 成田一衛. ONO-1301 (PGI2 アゴニスト+TX 合成酵素阻害) のマウス慢性喘息モデルにおける気道過敏性の抑制効果. 第60回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2010年11月26日. 東京国際フォーラム
4. 木村陽介, 小屋俊之, 河上英則, 星野芳史, 坂上拓郎, 坂元宏隆, 長谷川隆志, 酒井芳紀, 松本邦夫, 鈴木栄一, 成田一衛. TX 合成酵素阻害作用を併せ持つ PGI2 アゴニストのダニ誘発マウス喘息モデルにおける喘息抑制効果の検討. 第60回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2010年11月25日. 東京国際フォーラム

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小屋 俊之 (KOYA TOSHIYUKI)
新潟大学・医歯学系・助教
研究者番号：90444158

(2) 研究分担者

長谷川 隆志 (HASEGAWA TAKASHI)
新潟大学・医歯学総合病院・准教授
研究者番号：90361906

(3) 連携研究者

なし